



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

MARUL BİTKİSİNDE BEYAZ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞINA
[*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary] KARŞI
RİZOBAKTERİLERİN KULLANIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ABDULLAH CAN AKGÜL

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR

TOKAT- 2023



Bu tez çalışması;

**Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu Başkanlığı tarafından
2021/92 nolu proje ile desteklenmiştir.**

JÜRİ KABUL VE ONAY

Abdullah Can AKGÜL tarafından hazırlanan “**Marul Bitkisinde Beyaz Çürüklük Hastalığına [*Sclerotinia Sclerotiorum* (Lib.) de Bary] Karşı Rizobakterilerin Kullanımı**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 10 Ağustos 2023 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmzası

Üye (Başkan) : Prof. Dr. Yusuf YANAR.....

Üye: Doç. Dr. Sümer HORUZ.....

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR.....

ONAY

...../...../.....

Doç. Dr. Yusuf TEMÜR
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜRLER

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca enerjisi ve pozitif bakış açısıyla öneri ve bilgilerini paylaşan, çalışmalarımda yardımcı olan ve yol gösteren Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR'a minnettarım. Çalıştığım hastalık etmeni hakkındaki bilgi ve tecrübelerini paylaşarak hem denemelerde hem de istatistik analizlerinde katkılarını esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Yusuf YANAR'a ve savunma sınavı jürilerimden Doç. Dr. Sümer HORUZ'a katkı ve değerli bilgilerinden dolayı teşekkür ederim. Çalışmada kullanılan bakterilerin temini için Dr. Zeliha KAYASLAN'a teşekkür ederiz. Laboratuvar bilgileri ve istatistik analizlerindeki katkılarından dolayı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bahadır ŞİN'e, tez dönemindeki katkılarından dolayı Arş. Gör. Betül TARHANACI ve Arş. Gör. Funda ŞAHİN'e, denemelerin kurulumunda ve analizlerinde yardımcı olan Ziraat Yüksek Mühendisi Serhan Ali KARABULUT, Mehmet BAYRAM'a ve tüm yakın arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim. Ayrıca tüm hayatım boyunca yanımda olan, sevgi ve desteklerini esirgemeyen anne ve babama saygı, sevgi ve minnettarlığımı sunarım.

Abdullah Can AĞÜL

ÖZET

MARUL BİTKİSİNDE BEYAZ ÇÜRÜKLÜK [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary] HASTALIĞINA KARŞI RİZOBAKTERİLERİN KULLANIMI

Akgül, Abdullah Can

Yüksek Lisans

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR

Eylül 2023, xii + 55 sayfa

Marul bitkisinde üretimi sınırlayan en önemli hastalıklardan birisi *Sclerotinia sclerotiorum* [(Lib.) de Bary]'un neden olduğu beyaz çürüklük hastalığıdır. Bu çalışmada, farklı türlere ait rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum* üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 8 adet rizobakteri izolatu kullanılmıştır. *In vitro* çalışmada, bakterilerin patojen fungusun miselyum gelişimine ve sklerot canlılığına etkisine bakılmıştır. Testlenen bakteriler *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimi üzerinde %38.09-79.84 arasında değişen oranlarda bir etki göstermişlerdir. Hastalık etmeninin miselyum gelişimi üzerinde en yüksek etki *Pseudomonas putida* izolatında tespit edilmiştir. *In vitro* çalışmalarda testlenen bakteri izolatları aynı zamanda sklerot canlılığı üzerinde de etki göstermiş olup, *S. sclerotiorum*'un sklerotlarında ölüm görülmüştür. Kontrollü sera koşullarında yürütülen saksı çalışmalarında ise bakteri uygulamalarının yapıldığı bitkilerde %50-90 arasında değişen oranlarda bir etki görülmüştür. Beyaz çürüklük hastalığı üzerinde en yüksek etki *Acinetobacter calcoaceticus* izolatında görülmüştür. Rizobakterilerin bitkilerdeki vejetatif gelişimlerine olan etkilerinde ise en başarılı izolat *Enterobacter aerogenes* olmuştur. Çalışma sonuçlarına göre, *in vitro* ve *in vivo* denemelerde farklı engelleme etkisine sahip olan bakteri izolatlarının beyaz çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyeline sahip oldukları ve testlenen rizobakterilerin bitki gelişiminde artışı sağladığı belirlenmiştir.

Key words: Biyolojik mücadele, bitki gelişimini teşvik edici bakteriler, *Sclerotinia sclerotiorum*, marul

ABSTRACT

THE USE OF RHIZOBACTERIA AGAINST WHITE ROT [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary] IN LETTUCE

Akgül, Abdullah Can

Master's Thesis,

Tokat Gaziosmanpasa University Institute of Graduate Studies Department of Plant Protection

Advisor: Asst. Prof. Dr. Sabriye BELGUZAR

September 2023, xii + 55 pages

White rot caused by *Sclerotinia sclerotiorum* [(Lib.) de Bary] is one of the most important diseases negatively affecting lettuce production. In this study, effects of rhizobacteria of different species on *S. sclerotiorum* were investigated. Eight bacterial isolates were used in the study. Firstly, *in vitro* effects of rhizobacteria isolates were investigated on the mycelium growth and viability of *S. sclerotiorum* sclerotia. Then, a pot experiment was carried out under controlled greenhouse conditions to determine the effect of selected isolates on white rot disease in lettuce. The effect of tested bacteria on the mycelium growth of *S. sclerotiorum* ranged between 38.09-79.84%, and the *Pseudomonas putida* isolate had the highest impact. The bacterial isolates were also effective on the viability of *S. sclerotiorum* sclerotia. The efficiency in pot experiment was between 50-90%, and the highest effect was recorded in *Acinetobacter calcoaceticus* strain (ZE-13). It was observed that *Enterobacter aerogenes* strain (ZE-5) provided the highest yield percentages in the effect of rhizobacteria on vegetative development in plants. The results revealed that bacterial isolates have different inhibitory effects in *in vitro* and *in vivo* experiments, while have the potential in the biological control of white rot disease and the tested rhizobacteria provide increases in plant growth.

Keywords: Biological control, plant growth promoting bacteria, *Sclerotinia sclerotiorum*, lettuce

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME SAYFASI	i
JÜRİ KABUL VE ONAY	ii
TEŞEKKÜRLER	iii
ÖZET (TÜRKÇE)	iv
ABSTRACT (İNGİLİZCE)	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	x
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.2. Yöntem	19
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	32
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	46
6. KAYNAKLAR	47

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan rizobakterilerin kodları ve bilimsel adları.....	18
Çizelge 3.2. Saksı çalışmasında yapılan uygulamalar.....	23
Çizelge 4.1. Testlenen bakteri izolatlarının <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un miselyum gelişimine etkisi.....	32
Çizelge 4.2. Testlenen bakteri izolatlarının <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'un sklerot canlılığı üzerine etkisi.....	34
Çizelge 4.3. Marul bitkisinde rizobakterilerin beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisi.....	37
Çizelge 4.4. Bakteri izolatlarının marul bitkisindeki vejetatif gelişimlerine olan etkisi.....	41

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> patojeninin yaşamsal döngüsü.....	7
Şekil 2.2 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> hastalığının marul bitkisindeki enfeksiyon başlangıcı.....	8
Şekil 2.3. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> hastalığının marul bitkisindeki yayılma belirtisi.....	9
Şekil 2.4. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ile bulaşık marul üretim alanı.....	9
Şekil 3.1. Rizobakterilerin besi yerinin uç kısımlarına halka şeklindeki çizimi.....	20
Şekil 3.2. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> patojeninden alınan 5 mm’lik diskin besi yerine aktarılması.....	21
Şekil 3.3. Patojen sklerotlarının %2’lik sodyum hipoklorit ile yüzey dezenfeksiyon işlemine tabi tutulması.....	22
Şekil 3.4. Patojen sklerotlarının 10 ml’lik LB besi yeri ile hazırlanan 10^8 hücre/ml yoğunluğundaki rizobakteri süspansiyonlarının içine konulması.....	22
Şekil 3.5. Rizobakteri solüsyonlarından çıkarılan patojen sklerotlarının PDA besi yerine aktarılması.....	23
Şekil 3.6. Uygulama için hazırlanan rizobakteriyel süspansiyon.....	25
Şekil 3.7. Rizobakteri izolatlarından hazırlanan solüsyonlara fidelerin daldırılması.....	25

Şekil 3.8. Bakteri süspansiyonlarına daldırılan fidelerin saksılara şaşırtılması.....	26
Şekil 3.9. Saksılara şaşırtılan fidelere 10 ml dozlarda rizobakteri uygulaması.....	26
Şekil 3.10. Açılan yara dokularını ve bitkiyi ıslatacak şekilde rizobakteri solüsyonunun uygulanması.....	27
Şekil 3.11. Fidelere 5 mm çapında yara dokularının açılması ve patojenin koyulması.....	27
Şekil 3.12. Patojenin inokulasyon sağlandığı yerlerin pamuk ile kapatılması.....	28
Şekil 3.13. Uygulama yapılan marulların nem çemberine alınması.....	28
Şekil 3.14. Hazırlanan rizobakteriyel solüsyonlarının fide köklerine uygulanması.....	29
Şekil 3.15. Saksı çalışmalarının genel görüntüsü.....	30
Şekil 3.16. Deneme sonunda bitkiler üzerine yapılan değerlendirmeler (bitki boyu, gövde çapı, bitki kökü yaş ve kuru ağırlıkları, bitki yaş ve kuru ağırlığı alınması).....	30
Şekil 4.1. ZE-12 kodlu <i>Pseudomonas putida</i> izolatının <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> patojeni üzerindeki miselyum gelişimini engellemesi.....	33
Şekil 4.2. 11-b kodlu <i>Pseudomonas chlororaphis</i> izolatının <i>S. sclerotiorum</i> patojeni üzerindeki miselyum gelişimini engellemesi.....	33
Şekil 4.3. ZE-5 kodlu <i>Enterobacter aerogenes</i> izolatının sklerot canlılığı üzerine etkisi.....	35
Şekil 4.4. 7-a-2 kodlu <i>Burkholderia cepacia</i> izolatının sklerot canlılığı üzerine etkisi.....	35
Şekil 4.5. ZE-13 kodlu <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> izolatının İK uygulaması ve PK uygulaması ile karşılaştırılması.....	37

Şekil 4.6. ZE-12 kodlu <i>Pseudomonas putida</i> izolatının İK uygulaması ve PK uygulaması ile karşılaştırılması.....	38
Şekil 4.7. ZE-7 kodlu <i>Bacillus cereus</i> izolatının İK uygulaması ve PK uygulaması ile karşılaştırılması.....	38
Şekil 4.8. Rizobakteri izolatlarının uygulandığı marul bitkilerinin görünümü.....	43
Şekil 4.9. NK bitkileri ve rizobakteri bitkileri arasındaki karşılaştırmalar.....	43
Şekil 4.10. ZE-5 kodlu rizobakteri ile NK uygulaması yapılan bitki arasındaki karşılaştırma.....	44

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

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

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

TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu
var.: Varyete



1. GİRİŞ

Salata ve marul grubu sebzeler günlük hayatımızda bolca tükettiğimiz, sağlıklı beslenme amacıyla mutfak envanterimizde bulunan önemli besin kaynaklarıdır. Marul, içerisinde çok çeşitli mineralleri barındıran, ılıman iklim sebzesi olarak bilinmektedir. Marulun içerisinde A ve C vitaminleri bulunmaktadır. İnsan sağlığına çeşitli faydası bulunan marul potasyum, kalsiyum, sodyum, demir vb. gibi minerallere de sahiptir. Besinsel faydalarının yanı sıra ticari anlamda da büyük bir pazar payına sahiptir. Dünya marul üretimi 27 011 747 tondur. Üretimde 10.8 milyon ton ile Çin Dünya lideri olurken sırasıyla ABD, İspanya ve Hindistan büyük bir pazar payına sahiptir (Anonim, 2021). Türkiye Dünya sıralamasında 8. sırayı alırken, öne çıkan 3 ticari çeşitteki (Iceberg, Kıvırcık ve Göbekli) üretim miktarı 561.990 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonim, 2022). Sağlıklı beslenme konusunda bilinçlenen insanlarımızın yanı sıra son dönemlerde restoranların da salata ve marul kullanımına verdiği önem arttığı için pazar içerisinde büyük bir arz-talep döngüsü oluşmaktadır.

Yaprağı değerlendirilen sebzeler arasında yer alan marulun, olgunlaşma süresinin 2-3 ay kadar kısa süreli olması ile birlikte farklı mevsimlere uyum sağlayacak şekilde ıslah edilmiş çeşitlerle arka arkaya bütün yıl boyunca üretim yapmak mümkündür. Marul, iklim koşullarının uygun olduğu dönemlerde açık arazi koşullarında yetiştirilebilmektedir. Ege Bölgesi şartlarında yıl boyu üretimi yapılabilmekte iken; çok düşük ve yüksek sıcaklıklar yetiştiriciliği sınırlandıran faktörlerin başında gelmektedir. İlkbahar ve sonbahar mevsimlerinde ova koşullarında, yaz mevsimlerinde ise yüksek yayla kesimlerinde yetiştiriciliği yapılan bir sebzedir. Yetiştiricilik süresi boyunca bitki gelişiminin uygun düzeyde olabilmesi iklim koşullarına, topraktaki besin maddelerinin yeterli miktarda bulunmasına ve kültürel işlemlerin zamanında yapılmasına bağlıdır. Vejetasyon süresince çeşitli besin elementleri uygulamaları ile verim ve tüketilen kısımlarında kalite artışı sağlanmaktadır (Eşiyok, 2012).

Marul üretiminde sıcaklık, su ihtiyacı, toprak besin değerleri, gübreleme gibi etkenlerin yanı sıra hastalık zararlı mücadelesinin de kontrollü ve entegre bir şekilde yapılması büyük bir önem arz etmektedir. Marulda pek çok hastalık ve zararlının mevcut üretimi sektöre uğratması hatta yüksek yüzdeli kayıplara yol açması mümkündür. Bitkisel

üretimi sınırlayan ve ürün kayıplarına yol açan zararlı organizmaların etkinliğini minimal seviyelerde tutmak, kaliteli ve sağlıklı ürünlerin yetiştirilmesini maksimum seviyelere çıkarmak için çeşitli mücadele yöntemleri geliştirilmiştir. Bu mücadele yöntemlerinden ilkel ve geleneksel yöntemlerin yanı sıra nispeten uygulanabilirliği daha pratik ve daha etkili yöntemlerden kimyasal ilaç kullanımına olan yönelim günümüzde çok fazla artış göstermiştir. Bu yoğun kullanımın sonucunda pestisitler, yol açtığı bazı sorunları da beraberinde getirmektedir. Pestisitlerin bilinçsizce ve aşırı dozda kullanımı insan sağlığına ve çevre sağlığına zarar vermekte, doğal florayı bozarak doğal düşmanların aktivitesini kısıtlayıp yok etmektedir. Bunun yanı sıra ikinci derecedeki önemli zararlıların ana zararlı hattına geçmesine yol açmakta ve zararlılardaki mevcut direncin artışını sağlayarak daha fazla pestisit kullanımına zorlamaktadır. Fazla pestisit kullanımı da beraberinde ürünlerdeki kalıntı problemini oluşturmaktadır. Bu süreç sonucunda mevcut sistemin kısır döngüye girmesi ile birlikte alternatif mücadele yöntemleri araştırılmakta ve bu yöntemlerin kullanımındaki önem artmaktadır. Modern sistemde kullanılmakta olan mücadele yöntemleri ise kültürel, mekanik, fiziksel, yasal önlemler, biyoteknik, biyolojik ve kimyasal yöntemler olarak sıralanabilir (Anonim, 2008).

Sebzelerde özellikle marul bitkisinde bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıklar çoğunlukla kurşuni küf, beyaz çürüklük, kök çürüklüğü, marul mildiyösü ve külleme gibi hastalıklardır (Anonim, 2008). Bu hastalıkların başında Beyaz Çürüklük Hastalığı (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) gelmektedir. Toprak kaynaklı patojenler içerisinde *Sclerotinia* türleri konukçu bitkilerde önemli kayıplar oluşturmaktadır. Tarla bitkileri ve sebzelerde beyaz çürüklük hastalığına sebep olan *S. sclerotiorum* (Lib.) de Bary, Dünya çapında ve özellikle de ılıman bölgelerde yaygınlık göstermektedir (Ferreira ve Boley, 2002). Ülkemizde yapılan bazı çalışmalar sonucu marul bitkisinde beyaz çürüklük hastalığı çeşitli oranlarda İzmir, Manisa ve Aydın illerinde (Yıldız, 1970), Adana ilinde (Uğurcan, 1997), Çanakkale ilinde (Türk ve Doğu, 2004) ve Tokat ilinde (Akın, 2022) belirlenmiştir.

Sclerotinia sclerotiorum sebzelerin hemen hemen hepsinde hastalık oluşturabilmektedir. Hastalık etmeni bol miktarda misel oluşturmakta ve bu miseller yumruklar halinde bir

araya gelerek sklerotları oluşturmaktadır. Hastalık etmeni değişik iriliklerde ve düzensiz şekilde koyu kahve-siyah renkte çevre koşullarına dayanıklı sert sklerotları ile kolayca tanımlanabilmektedir. Hastalık etmeni çoğunlukla konukçunun kök kısmına ya da toprak seviyesindeki gövdesine saldırılmaktadır. Lezyonlar gövde üzerinde gelişmekte ve giderek kök boğazını sarmakta, konukçu bitki solmakta ve ölmektedir. Buna ek olarak üretmiş olduğu askosporlar ile yeşil aksamı doğrudan enfekte edilebilmektedir. Özellikle nemli koşullarda fidelerin tamamen çürümesine neden olabilmektedir. Gelişmiş bitkilerde önce kök boğazı ve toprağa yakın olan yapraklarda çıkmaktadır. Hastalığın ilerlemesi ile kök boğazında çok miktarda ve pamuk beyazlığı benzeri bir misel tabakası oluşmaktadır. Zamanla yumaklar halinde toplanan misel tabakaları ilk önce kirli beyaz renkte ve yapışkan halde olur iken daha sonra havanın etkisi ile koyu kahverenginden siyaha doğru değişen renkler alarak sert bir tohum şekline dönüşmekte ve kurumuş bitki artıkları ile birlikte toprağa karışmaktadır (Anonim, 2008).

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

Beyaz çürüklük hastalığı ile mücadelede, en az 5 yıllık ekim nöbeti, sklerotların imha edilmesi, seralarda havalandırma gibi kültürel önlemler, solarizasyon, tavuk ve sığır gübresi gibi fiziksel mücadele, toprak ve yeşil aksam ilaçlamaları şeklinde kimyasal mücadele uygulamaları yapılmaktadır (Anonim, 2008). Fakat bazı çeşitlerin patojene karşı dayanıklılık göstermesi, sklerotiumların uzun yıllar canlı kalması veya hepsinin aynı zamanda çimlenmemesi, yapılan kimyasal uygulamalar sonucu patojenlerin dayanıklılık kazanması gibi sebeplerden dolayı hastalık etmeni ile mücadelede zorluklar yaşanmaktadır. Bu sebeplerden dolayı hastalık ile mücadeleye alternatif olarak çeşitli yöntemler araştırılmaktadır. Hastalığa karşı antagonistik bakterilerin, bitki gelişimini

teşvik eden ve düzenleyen rizobakterilerin, faydalı mikroorganizmaların kullanılması da bu yöntemler içerisinde yer almaktadır.

Antagonistik bakteriler, diğer bir tanımlama ile bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) bitki köklerinin bulunduğu toprağın rizosfer kısmında yoğun olarak bulunan ve toprakta fizyokimyasal aktivasyonları gerçekleştiren mikroorganizmalardır. Bu rizobakteriler bitki kökleriyle birlikte yakın ilişki içerisinde yer almaktadır ve bitkinin gelişimini olumlu yönde etkilemektedir. Biyolojik mücadele kapsamında kullanılmakta olan bu mikroorganizmalar kök yüzeyine kolonize olmakta ve kök bölgesindeki toprakla yakın ilişkide bulunan bakterilerdir. Bu bakterilerin en efektif özellikleri bitki büyümesini düzenlemeleri, bitkiyi stres altından korumaları ve farklı mekanizmaları kullanarak patojenlerin gelişimlerini baskılamalarıdır (İmriz ve ark., 2014).

Bitki gelişimini düzenleyen bakteriler atmosferde bulunan serbest azotu bağlaması, fosforu çözmesi, enzim ve fitohormon gibi aktivasyon araçlarını üretmesi gibi direkt etkileriyle birlikte bitki gelişimini pozitif yönde etkilemektedir (Ferreira ve ark., 1987). Bitkideki sistemik dayanıklılığın (ISR) artırılması, yer ve besin yarışıyla birlikte patojen gelişimini baskılayabilmesi, ürettiği çeşitli sekonder metabolitler ile patojenin gelişim seviyelerini inhibe etmesi gibi indirekt etki ile de patojenleri baskılayarak bitki gelişimini desteklemektedirler (Dejordjevic ve ark., 1987). Alanda yapılmış olan çalışmalara bakıldığında bir rizobakteri türünün birden çok PGPR özelliğini taşıyabileceği de görülmektedir. Bu özellikler de PGPR'lere bitkisel üretim kapsamında biyolojik gübre olma potansiyeli ile birlikte biyolojik kontrol ajanı olma özelliği de katmaktadır. Şimdiye kadar yapılmış olan çalışmalar bu faydalı bakterilerin farklı ekosistemlerde biyotik veya abiyotik faktörlerin bitkide oluşturduğu strese karşı kullanılabileceğini ortaya koymaktadır ve bu konudaki ileriye yönelik çalışmalara da ışık tutmaktadır (Karagöz ve Kotan, 2010).

Toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı biyo-kontrol ajanı olma potansiyeline sahip bu bakteriler direkt etkileri ile hastalık etmenlerini başarılı bir şekilde baskılamaktadır. Özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsleri içerisinde yer alan antagonistik bakteriler bitkinin kök ve yeşil aksam büyümesini desteklemekte, köklenmesini arttırmakta,

evresinde bulunan su ve besin elementlerinden daha fazla faydalanmasını sağlamaktadır. Bu şekilde bitkiler, çevresel faktörlerden daha az etkilenmekte ve kökler daha hızlı gelişmektedir. Böylece özellikle funguslar gelişmek için yeterli zaman bulamayacağından patojenlerin zararı minimize edilmektedir (Mao ve ark., 1997; Shakir ve ark., 2012).

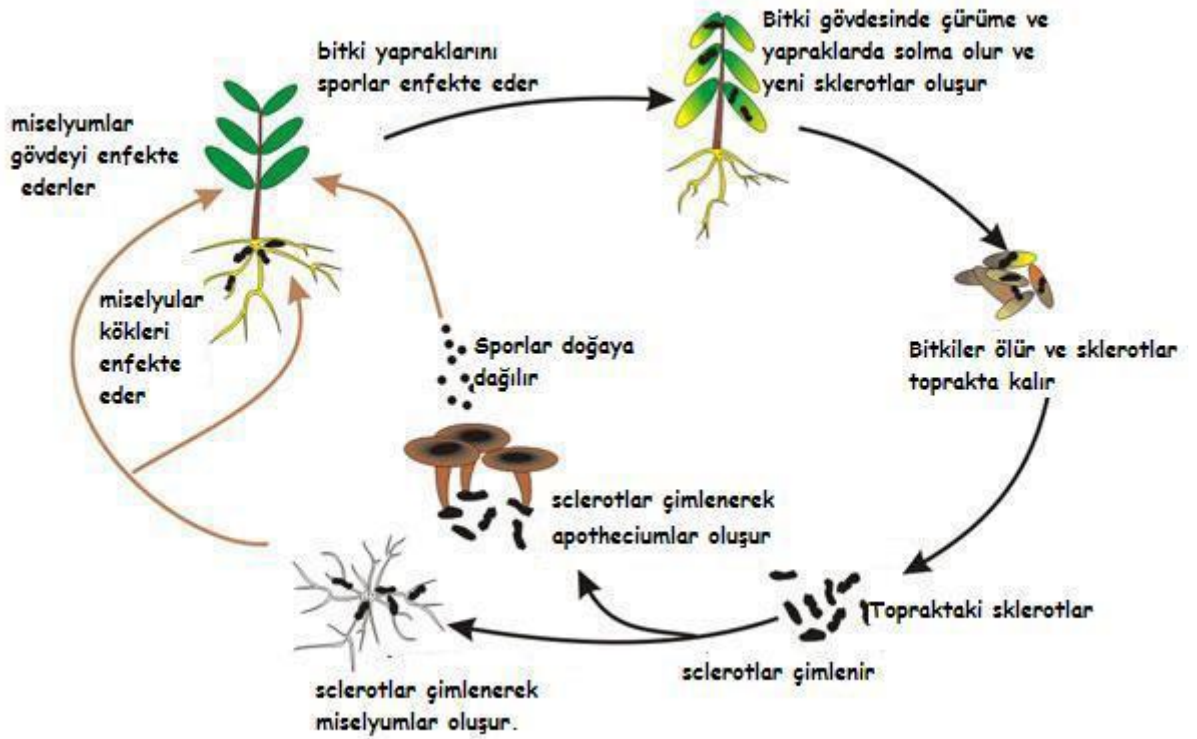
Yapılan literatür taramalarında çeşitli araştırcılar tarafından yürütülen beyaz rklk hastalığına yönelik biyolojik mücadele çalışmaları mevcuttur. Yürütülen bu tez çalışmasında farklı türlere ait rizobakteri izolatlarının marul bitkisinde beyaz rklk hastalığına sebep olan *Sclerotinia sclerotiorum* etmenine karşı etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Testlenen rizobakteriler Tokat iline özgü olup, yerel bakteri izolatları kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada bu rizobakterilerin marul bitkisinde bitki gelişimine olan etkileri de ortaya konulmuştur.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary Hakkında Genel Bilgiler

Sclerotinia sclerotiorum, marulda beyaz çürüklük veya kök çürüklüğü hastalığını oluşturan ve temelde toprak kaynaklı olan bir patojendir. Discomycetes sınıfında bulunan Helotiales takımının Sclerotiniaceae familyasına ait olup (Melzer ve ark., 1997), ilk adlandırılması 1837 yılında Libert tarafından yapılmış ve *Peziza sclerotiorum* olmuştur. Günümüze kadar pek çok taksonomik sınıflandırmaya maruz kalsa da 1884 yılında De Bary “Uluslararası Botanik Adlandırma Kuralları” ile birlikte *S. sclerotiorum* olarak değiştirmiştir. 1972 yılında ise Korf mevcut fungusun *Whetzelinia* olduğunu belirtmiştir. Daha sonra 1979 yılında Kohn isimlendirmeye karşı çıkmış ve cins adı *Sclerotinia* olarak kalmıştır (Yanar, 1997; Onaran, 2009).

S. sclerotiorum hastalığı bol miktarlarda misel oluşturmakta ve daha sonra bu miseller yumrular halinde birleşerek sklerot yapılarını oluşturmaktadır. Hastalık etmeni farklı iriliklerde ve düzensiz şekillerde, koyu kahverengi veya siyah renkte sklerotlar oluşturmakta ve etmen bu sert sklerotları ile kolayca ayırt edilebilmektedir (Anonim, 2008). Hastalık etmeni, enfekteli dokular içerisinde veya toprakta sklerot olarak ya da yaşayan/ölü bitkilerde miselyum olarak kışı geçirmektedir. İlkbahar ve özellikle erken yaz dönemlerinde sklerot yapılarının çimlenmesi ve ince dalların oluşmasıyla birlikte içinde ascus ve ascosporların üretildiği fincan veya disk şeklinde 5-15 mm çaplarında apotheciumların oluşumu gerçekleşmektedir. Çok fazla sayıda olan ascosporlar, 15-20 günlük bir sürede apotheciumlardan havaya aktarıldığı ve havada uçuştuktan sonra da besin kaynağı olabilecek potansiyeldeki bitki kısımlarının üzerine inmekte ve enfeksiyonları başlatmaktadır (Agrios, 1997) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Sclerotinia sclerotiorum* patojeninin yaşamsal döngüsü (Anonim 2009; Onaran, 2009)

Hastalık etmeni genellikle konukçusunun kök bölgesi ya da toprak ile birleştiği kısımdan saldırmaktadır (Şekil 2.2). Lezyonlar bu alanda gelişir ve kök boğazını sararak konukçusu olduğu bitkide solma belirtisi yapar ve ilerleyen zamanda da bitkinin ölmesine neden olur. Bunun akabinde üretmiş olduğu askosporlar ile yeşil aksamda doğrudan enfeksiyon geliştirebilir. Özellikle nemin yüksek olduğu ortamlarda fidelerin tamamının çürümesine yol açmaktadır. Vejetatif gelişimini tamamlamış bitkilerde önce kök veya toprakla birleştiği kısımlara yakın olan alt yapraklarda enfeksiyon oluşturur. Hastalığın ilerlemesiyle birlikte kök boğazında bol miktarlarda pamuk beyazlığına benzer misel tabakası oluşturmaktadır. Zaman ilerledikçe yumaklar halinde bir arada olan misel tabakaları önce kirli beyaz renkte, yapışkan bir doku halinde iken sonrasında çevresel koşulların da etkisi ile kahverengi tonlarından siyah rengine doğru değişim gösterir. Bu yapılar sert bir tohum halini alır ve kurumuş olan bitki dokuları ile birlikte

toprağa karışır. Konukçusu olabileceği hemen hemen birçok üründe hastalık oluşturabilir (Anonim, 2008).



Şekil 2.2. *Sclerotinia sclerotiorum* hastalığının marul bitkisindeki enfeksiyon başlangıcı

Enfeksiyonun ilk dönemlerinde hastalığın varlığı fark edilmeyebilir. Öncelikle kök boğazı yada bitkinin toprak ile birleştiği noktadan enfeksiyon başlatması, nemli ortamın enfeksiyon aktivasyonunu artırması ile birlikte hastalık alt yaprakları kahverengi haline getirerek kendisini belli etmektedir (Şekil 2.2). Alt yapraklarda başlayıp daha sonra gövdeye doğru yayılarak hastalık gövdenin iç kısmında ya da gövdenin dış kısmına doğru lezyonlar halinde gelişmektedir (Şekil 2.3). Bu lezyonlar patojenlerin toksik oksalik asit üretmesinden kaynaklı hücresel ölümler şeklindedir (Venette, 1998). Patojenin hücresel boyuttaki aktivasyonu, kısa süre içerisinde alt yapraklardan itibaren gövde dokusuna daha sonra da tüm bitkiye yayılması ile sonuçlanmaktadır. Arazi koşullarındaki bu hızlı yayılım ve gerçekleşen bitki ölümleri, kısa süre içerisinde kendisini fark ettirmekte ve ciddi miktarlarda ürün kayıplarına sebep olmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.3. *Sclerotinia sclerotiorum* hastalığının marul bitkisindeki başlangıç lezyonları



Şekil 2.4. *Sclerotinia sclerotiorum* ile bulaşık marul üretim alanı (Anonim, 2010)

Beyaz çürüklük hastalığı ile olan mücadelede sık ekimden kaçınılması, hastalıklı fidelerin ayıklanarak atılması, fidelerin uygun ortamlarda sık sık havalandırılması, fazla sulamadan kaçınılması, gerektiğinden fazla azotlu gübre uygulamasından kaçınılması,

seralarda havalandırma işleminin iyi yapılması, sklerotların ve hastalıklı bitkilerin toplanarak imha edilmesi ve en az 5 yıllık ekim nöbeti gibi kültürel mücadele önlemleri alınmaktadır. Kültürel mücadele yöntemleri içerisindeki ürün rotasyonunun sağlanması, fungal hastalığın üretim sahasında büyük problemler oluşturmada önce başlatılması oldukça önem arz etmektedir. Özellikle buğday ekimlerinde sklerot yapılarını bozmak için zaman kazandırmakta ve hastalık etkisini minimize etmektedir. 2 yıldan uzun süren ürün rotasyonu, ekimlerin ertelenmesi, potasyum içerikli gübrelerin artırılması ve fungusit kullanımının bir arada olacak şekilde entegre halde uygulanması beyaz çürüklük hastalığının kontrolünde önemli katkılar sağlamaktadır (Hua ve ark., 1994). Patojenin topraktaki sklerotlarının yoğunluğunu azaltmak amacıyla uygulanan bir diğer yöntem de toprak solarizasyonudur. Solarizasyon uygulamasının yapıldığı topraklarda sklerotiumların canlılık oranları önemli ölçüde azalmaktadır (Yanar, 2005). Bu uygulamalara ek olarak, hastalığa konukçu olabilecek yabancı otların mücadelesi de oldukça büyük önem taşımaktadır (Agrios, 1997).

Ek olarak sığır ve tavuk gübre uygulaması gibi fiziksel mücadele yöntemleri ile birlikte yeşil aksam ve toprak ilaçlamaları gibi kimyasal mücadele yöntemleri de yapılmaktadır (Anonim, 2008). Fakat hastalıkla mücadele kısmında toprakta uzun yıllar kalabilen sklerotlardan dolayı pek çok zorluklar yaşanmaktadır.

2.2. *Sclerotinia sclerotiorum* (Beyaz çürüklük) Hastalığı ile Yapılan Biyolojik Mücadele Çalışmaları

Toprak orjinli bitki patojenlerinden biri olan *S. sclerotiorum*'a karşı yapılan mücadelelerde hem kültürel mücadele önlemlerinin hem de kimyasal mücadele yöntemlerinin eksik yada yetersiz kalmasından dolayı biyolojik mücadele yöntemleri üzerine yoğun bir araştırma çalışmalarının yapılması kaçınılmaz olmuştur (Fernando ve ark., 2005). Toprak kaynaklı patojenlere karşı kullanılmakta olan etkili mücadele yöntemleri düşünüldüğünde biyolojik mücadele yöntemleri, en az kimyasal önlem ve mücadele yöntemleri kadar etkili olduğu ve başarı sağladığı gözlemlenmiş hatta bazı çalışmaların sonuçlarına göre kimyasal mücadele yöntemlerinden çok daha fazla etkili olduğu belirtilmiştir (Oldaç ve ark., 2002; Johansson ve ark., 2003). Biyo-kontrol ajanları olarak kullanılması, Alternatif mücadele yöntemleri içerisinde *S. sclerotiorum*'a

karşı antagonistik rizobakterilerin kullanımı neredeyse 30 yıldan daha fazla süredir devam etmektedir.

Expert ve Digat (1995) tarafından yürütülen bir çalışmada, *S. sclerotiorum*'a karşı fasulye tohum ekiminden önce, tohumların *Pseudomonas fluorescens* veya *P. putida* süspansiyonu (1×10^9 hücre/ml) ile ıslatılarak ekilmesi patojenin oluşturacağı erken zararlardan engellediğini belirtmiştir.

Budge ve Whipps (2000) tarafından yapılan çalışmada, Birleşik Krallık topraklarından izole edilen antagonist *Coniothyrium minitans*'ın, marul üretim seralarındaki beyaz çürüklük hastalığında etmenin miselyal büyümesi ve sporlarının çimlenmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Biyolojik ajana ek olarak İprodione isimli kimyasal ilaç da kullanılmış ve aradaki etki farkları gözlemlenmiştir. İlk denemede *S. sclerotiorum*'un neden olduğu enfeksiyon, *C. minitans* tarafından önemli ölçüde azaltılmıştır. İkinci denemede *C. minitans* uygulamasının, tek bir İprodione'lu profilaktik spreylere eş değerde olduğu ve hastalığı aynı oranda engellediği gözlemlenmiştir.

Bak ve ark. (2003) Güney Kore topraklarından izole edilmiş antagonistik etki gösteren rizobakterilerin, Gyeongsangnam-Do bölgesindeki marul seralarından izole edilen *Sclerotinia sclerotiorum* hastalığına karşı etkilerini araştırmıştır. Yaklaşık 300 izolatin hastalık üzerine testlemeleri sonucunda A-2, A-7 ve RH-4 suşu en etkili antagonistik bakteriler olarak seçilmiştir. Yüzdesel olarak A-7 suşunun hastalık kontrol değeri %85 iken, A-7 ve RH-4 kombinasyon değerleri %90 olarak sonuçlanmıştır. Bu bakteriler 16S RNA analizi sonucunda *Bacillus mojanuensis* olarak tanımlanmıştır ve marulda *S. sclerotiorum* hastalığına karşı kullanılan biyolojik mücadele kapsamında bölgesel ilk rapor olduğu belirtilmiştir.

Savchuk ve Fernando (2004) tarafından gerçekleştirilen çalışma, antagonistik etki gösteren *Pseudomonas* spp. (DF-41 ve PA-23) bakterilerinin Kanada'da kanola bitkisindeki *S. sclerotiorum* etmenine karşı askospor çimlenmesinin aktivasyonu ve etkileri açısından değerlendirilmiştir. Askospor çimlenmesi sırasında patojenin bakteri popülasyonu üzerine etkisi olmamıştır. 24 saat sonra ise bakteri popülasyonunda artış gözlemlenmiştir. Bir izolat, askosporlarla birlikte uygulandığında hastalığı tamamen

bastırırken diğer izolatta sadece küçük bir baskılama meydana gelmiştir. Tüm çalışmalardan elde edilen sonuçlar, PA-23 ve DF-41 izolatları hastalığa karşı etkili biyokontrol ajanları olarak belirlenmiştir.

Hwang ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada *Bacillus* spp. bakterilerinin marul bitkisinden izole edilen *S. sclerotiorum* etmeninin kontrolündeki rolü değerlendirilmiştir. Yaklaşık 42 izolat arasından B23 ve B42 kodları ile adlandırılan *Bacillus* spp. izolatları *S. sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cladosporium cucumerinum* ve *Botrytis cinerea* gibi fungal patojenlerine karşı en yüksek antifungal aktivasyonu gerçekleştirmiştir. Ek olarak nişasta, gliserol ve yumurta sarısı gibi takviyeler, bakteri popülasyonunu *in vitro* uygulamasında 30 gün boyunca başarı ile korumuştur ve hastalığa karşı biyo-kontrol potansiyellerini de arttırmıştır. B23 izolatı tek başına %72 kontrol sağlarken, %0.2 nişasta, gliserol ve yumurta sarısı ile desteklendiğinde %95 oranında kontrol sağlamıştır. API veri tabanına göre bu bakterilerin morfolojik ve fizyolojik özelliklerine dayalı olarak B23 *Brevibacillus brevis*, B42 ise *Bacillus stearotheophilus* olarak tanımlanmıştır.

Tassara ve ark. (2008) tarafından Pakistan’da marul seralarında yürütülen çalışmada ise, *S. sclerotiorum* hastalık etmenine karşı siyanobakteriyel ekstraktların aktivasyon değerleri ve hastalık baskılama etkileri değerlendirilmiştir. Alg grubunda yer alan *Nostoc muscorum* dan elde edilen biyoaktif maddeler, çözücü olarak metanol, saf su ve eter kullanılarak biyokütleden çıkarılmıştır. Siyanobakteri izolatları ile eter, 8 günlük çalışma sonrasında fungal enfeksiyonu %45.5 oranında engellemiştir. Doz iki katına çıkarıldığında daha uzun süreli olma avantajı ile etki %72.8’e yükselmiştir. Tarla denemelerinde, *N. muscorum* ve eter izolatı, hastalık ile enfekte edilmiş marul bitkilerine iki kez uygulanmıştır. Çalışma sonucunda sağlıklı bitkide %25.5 oranında taze ağırlıkta da %14 oranında artış olmuştur.

Onaran ve Yanar (2009) tarafından yapılan çalışmada Antalya ilinin Finike, Kumluca ve Demre ilçelerindeki hıyar seralarından *S. sclerotiorum* izolatları elde edilmiştir. Çalışmanın bir başka bölümü olan biyolojik mücadele konusunda yaptığı çalışmalarda ise 23 bakteri izolatı hastalık etmenine karşı kullanılmıştır. Bu bakterilerin *in vitro* ve *in*

vivo çalışmalarında *S. sclerotiorum*'a karşı olan aktivasyonları belirlenmiştir. Testlerde kullanılan *Burkholderia cepacia*, *Erwinia chrysanthemi*, *Pseudomonas flourocens*, *Bacillus licheniformis* bakteri izolatları, *S. sclerotiorum*'un oluşturduğu enfeksiyon gelişimine tamamen engel olmuştur. Bu bakteri izolatları *S. sclerotiorum* hastalığına karşı biyolojik mücadelesinde geleceği olan ajanlar olarak belirtilmiştir.

Tozlu ve Demirci (2011) tarafından yürütülen çalışma Erzurum ili Pasinler ovasında ayçiçeği alanlarından izole edilen bakteri ve fungus izolatlarının ayçiçeği bitkisinde gövde çürüklüğüne neden olan *S. sclerotiorum* ve *S. minor* hastalıklarına karşı antagonistik etkilerinin tespit edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. İzole edilen antagonistlerin bu hastalıklara karşı aktivasyonu *in vitro* ve *in vivo* koşullarda test edilmiştir. Yapılan testlemeler sonucunda *S. sclerotiorum*'a karşı etkili olan *Penicillium canescens*, *Alternaria alternata*, *P. jensenii*, *Ulocladium atrum*, *Trichoderma harzianum* ve *Verticillium tenerum* funguslarına ait izolatlar ile *Bacillus subtilis*, *B. lentimorbus*, *Staphylococcus cohnii cohnii* ve *Enterobacter pyrinus* bakterilerine ait izolatların etkili olduğu belirtilmiştir. *S. minor*'a karşı *T. harzianum* başta olmak üzere *A. alternata* ve *U. atrum* izolatlarının etkin olduğu belirlenmiştir.

Lee ve ark. (2011) tarafından Kore'de gerçekleştirilen çalışmada ise, *S. sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fulvia fulva*, *Phytophthora* spp. ve *Colletotrichum* spp. hastalık etmenlerine karşı orman topraklarından izole edilmiş antagonistik etkiye sahip *Burkholderia cepacia* bakterisinin marul ve domates bitkisi üzerinde aktivasyonu değerlendirilmiştir. CH-67 olarak kodlandırılan bu rizobakteri, saksı testleri sonucunda domateste ve marulda *R. solani* ve *S. sclerotiorum*'un neden olduğu enfeksiyonun kontrol edilmesinde etkili olmuştur.

Soylu (2011) tarafından yapılan çalışmada marul bitkisinde beyaz çürüklük hastalığına karşı topraktan izole edilen bakteri izolatlarının etkisi araştırılmıştır. Çalışmada farklı türlere ait olan bitkide büyümeyi teşvik eden rizobakteri *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a, *Bacillus pumilus* T4, *Pseudomonas putida* 89B-61 ve *Pseudomonas fluorescens* WCS417r izolatları kullanılmıştır. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda yürütülen çalışmada, *in vitro* ikili test deneylerinde, PGPR izolatları funguslardaki miselyal gelişim değerleri üzerinde etkili olamamıştır. Fakat *in vivo* koşullarda PGPR izolatları

marul bitkisinin daha sağlıklı olarak gelişimini sağlamış ve uygulamanın yapıldığı bitkilerde enfeksiyon oluşumunu önemli düzeyde engellediği belirtilmiştir.

Monteiro ve ark. (2013) tarafından Brezilya’da yürütülen çalışmada da, marul bitkisinde beyaz çürüklük hastalığına karşı *Bacillus subtilis* izolatının etkinliği test edilmiştir. Bakteri izolatının *S. sclerotiorum* üzerindeki direkt etkisinin değerlendirilmesi için 1 ml bakteri süspansiyonları (550 nanometre dalga boyunda 1.002 absorbands değerinde) bitkiye uygulanmıştır. Bakterilerin kısa süreli kontrol sonucunda kontrol grubuna göre %16.33 oranında miselyal gelişimi azalttığı gözlemlenmiştir. Bakterilerin uzun süreli konsantrasyon ve inkübasyon sonucunda ise %83.33 oranında miselyal gelişimi baskıladığı görülmüştür.

Chon ve ark. (2013) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, Kore Gyeong-gi eyaleti, Namyangju şehrindeki marul seralarından izole edilmiş 196 bakteri izolatının *S. sclerotiorum* hastalık etmenine karşı etkisi değerlendirilmiştir. Bakteriler içerisinde 26 adet izolat *S. sclerotiorum*’daki miselyal büyümeyi %80 oranında inhibe etmiştir. 16S rDNA dizi analizinde bu bakterilerin *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Arthrobacter ramosus*, *A. nicotianae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Brevibacterium frigoritolerans*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Sphingobacterium faecium* olduğu belirtilmiştir. Yaz döneminde yapılan sera denemesinde *B. megaterium* (DK6) %80 ve *B. cereus* (C210) %65 oranında sklerot canlılığı üzerinde etkili olmuştur. Kış döneminde yapılan sera denemesinde kontrol grubundaki hastalık insidansı %80 iken 26 izolattan yaklaşık 9 izolatta %20 oranında kaldığı belirlenmiştir.

Lee ve ark. (2014) tarafından yürütülen çalışmada da kış dönemi marul bitkisinden izole edilmiş *Sclerotinia sclerotiorum*’a karşı *Bacillus subtilis* bakteri izolatının etkinliği değerlendirilmiştir. Sera denemeleri sonucunda *B. subtilis* %88 oranında etkinlik değeri göstermiştir.

Kamal ve ark. (2015) tarafından Avusturalya’da yürütülen çalışmada antagonist *Bacillus cereus* (SC-1) bakterisinin, marul seralarından izole edilen *S. sclerotiorum* hastalığına karşı olan aktivasyonu ve sklerotiyal kolonizasyondaki baskılama oranları değerlendirilmiştir. Çalışmada *B. cereus* bakteri süspansiyonu (1×10^8 hücre/ml) toprağı ıslatarak uygulanmış ve patojeni tamamen sınırlandırmıştır ek olarak hiçbir hastalık

gözlenmemiştir. Sklerotiyal kolonizasyon oranlarına bakıldığında ise kontrol grubuna kıyasla sklerot canlılığını %1.58'e kadar düşürdüğü belirtilmiştir. Bakterinin marul kök uzunluğu ve yaş ağırlığını sırasıyla %46.6 ve %32 oranında arttırdığı tespit edilmiştir.

Ouhaibi-Ben Abdeljalil ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise, sağlıklı domates bitkilerinin kök çevresindeki rizosfer alanından izole edilen 25 bakteri türü (*Bacillus thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Chryseobacterium jejuense*, *Enterobacter cloacae* ve *Klebsiella pneumoniae*'ya ait farklı sayılarda türler) *S. sclerotiorum*'a karşı değerlendirilmiştir. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda yürütülen bu çalışmada, hastalık şiddetinde %72-100 azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca bitki boyunda %52-67 oranında bir artış görülmüştür.

Rahman ve ark. (2016) tarafından, hardal bitkisi üzerinde yapılmış olan bir çalışmada *S. sclerotiorum* hastalığına karşı *Bacillus* spp. bakteri izolatları kullanılmıştır. Çalışmanın *in vitro* koşullarındaki deneme aşamalarında, rizobakterilerin miselyal büyüme oranlarını büyük ölçüde azalttığı ve sklerot oluşumlarını baskıladığı kaydedilmiştir. Tohumda oluşturulan bakteri kolonizasyonu, hardal fidelerinde patojene karşı %98 oranında önemli bir koruma sağlamıştır. Bitki bünyesine yapraklardan uygulanan bakteri izolatları, hastalık gelişimini %90 oranında azaltmıştır. Buna ek olarak, tohum çimlenme oranlarını yükselttiği ve bitki büyümesini de teşvik ettiği görülmüştür.

Soylu ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada ise marul bitkisinden izole edilen antagonist bakteri izolatlarının *Sclerotinia sclerotiorum* hastalığına karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında biyokontrol etkinliği araştırılmıştır. Antagonist bakteri izolatlarının patojene karşı miselyal büyümesini ve sklerotiyal çimlenmesini inhibe ettiği, hastalığı baskıladığı belirlenmiştir. Sağlıklı marul bitkilerinin farklı aksamlarından toplamda 48 endofitik bakteri izolatu elde edilmiştir. *S. sclerotiorum* patojeninin *in vitro* koşulunda miselyal büyümesi ve çimlenmesini 18 bakteri izolatu inhibe etmiştir. *Bacillus subtilis* ve *B. amyloliquefaciens* izolatlarının patojende misel büyümesini %68.1-83.1 oranında, sklerot çimlenmesini %82.7-89.6 oranında ve hastalığı %55.7-75 oranında baskılayarak en etkili bakteri izolatları olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak ikili kültür testlerinde inhibisyon bölgelerine yakın fungal miselyum gelişiminin daha yoğun ve daha koyu renklerde olduğu belirtilmiştir. *B. amyloliquefaciens* ve *B. subtilis* izolatları hif

oluşumlarında inhibisyon bölgesine yakın yerlerde buruşmalar meydana getirerek önemli morfolojik değişimlere yol açmıştır.

Kim ve ark. (2021) tarafından yürütülen çalışmada, Kore'deki Bonghwa şehrinden izole edilen 39 farklı bakteri izolatının *S. sclerotiorum* etmenine karşı antagonistik etkinliği belirlenmiştir. En etkili 5 bakteri izolatı olan BH9 (*Burkholderia* spp.), BH29 (*Lysinibacillus macroides*), BH36 (*Paenibacillus peoriae*), BH37 (*Bacillus subtilis*) ve BH38 (*Burkholderia* spp.) izolatları içerisinde BH-37'nin, *S. sclerotiorum* 'un miselyal gelişimini %95.3 oranında baskıladığı gözlemlenmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan rizobakteri izolatları

Çalışmada kullanılan *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*, *Microbacterium testaceum* ve *Acinetobacter calcoaceticus* bakteri izolatları Dr. Zeliha KAYAASLAN tarafından temin edilmiştir. Kayaaslan (2021) bakterileri Tokat ili biber üretim alanlarından izole etmiş, çeşitli biyokimyasal testler, patatestte yumuşak çürüklük testi, tütünde aşırı duyarlılık testi ve MALDI-TOF tekniği ile tanılamıştır. *Burkholderia cepacia* ve *Pseudomonas chlororaphis* izolatları ise karanfil bitkisinden elde edilmiş olup çeşitli klasik testler ve MALDITOF tekniği ile tanılanmıştır. Kullanılan izolatlar fostatı indirgeme ve azotu bağlama özellikleri yönünden yüksek olan bakterilerdir. Bakteri izolatları Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarında -20 °C’de buzdolabında Nutrient broth ve gliserol içerisinde stok kültür olarak saklanmaktadır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakterilerin kodları ve bilimsel adları

İzolat kodu	İzolatın bilimsel adı
ZE-2	<i>Enterobacter cloacae</i>
ZE-5	<i>Enterobacter aerogenes</i>
ZE-7	<i>Bacillus cereus</i>
ZE-8	<i>Microbacterium testaceum</i>
ZE-12	<i>Pseudomonas putida</i>
ZE-13	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
7-A-2	<i>Burkholderia cepacia</i>
11-B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>

3.1.2. Çalışmada kullanılan patojen fungus

Çalışmada kullanılan *Sclerotinia sclerotiorum* kültürü Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN (Akdeniz Üniversitesi, Kumluca Meslek Yüksek Okulu) tarafından temin edilmiştir. Hastalık etmeni marul bitkisinden izole edilmiştir. *S. sclerotiorum* izolatu Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Laboratuvarında stok kültür olarak bulunmaktadır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan besi yerleri

-Tryptic Soy Agar (TSA)

Tryptic Soy Agar	40 g
Saf su	1000 ml

-Nutrient Agar (NA)

Nutrient Agar	20 g
Saf su	1000 ml

-Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato Dextrose Agar	40 g
Saf su	1000 ml

-Luria Bertani Broth (LB)

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

3.1.4. Çalışmada kullanılan marul fidesi

Saksı çalışmalarında Tokat ilinde yaygın olarak kullanılan Maritima çeşidi marul fidesi kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

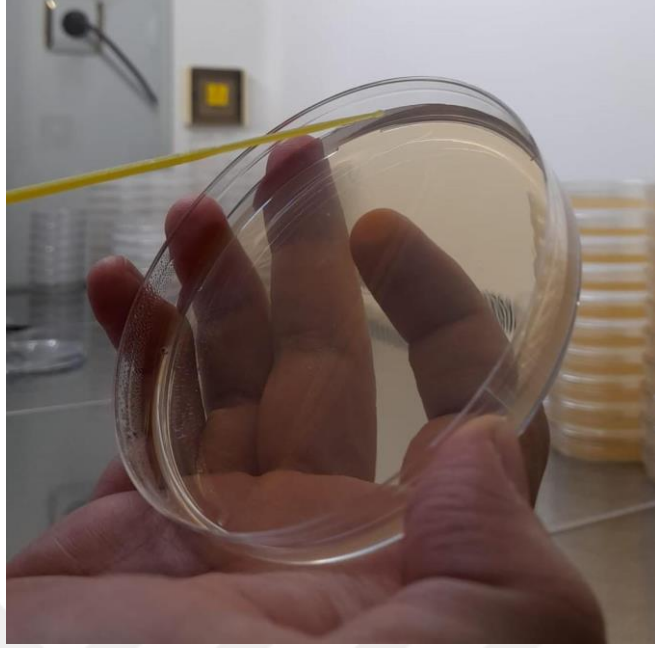
3.2.1. *In vitro* çalışmalar

Rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum*'un miselyum gelişimine etkisinin belirlenmesi

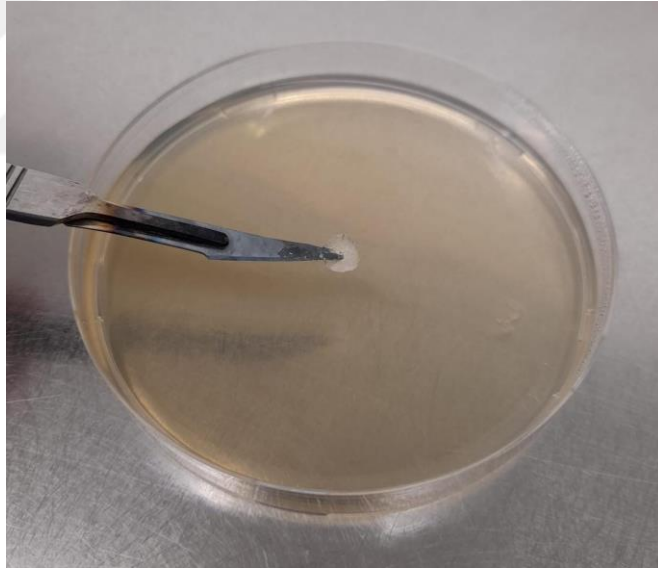
Çalışmanın bu bölümünde Tryptic Soy Agar (TSA) besi yeri kullanılmıştır. Rizobakteri izolatları 24 saat geliştirildikten sonra 90 mm çaplı petri kaplarındaki besi yerinin uç kısımlarına halka şeklinde çizilmiştir (Şekil 3.1). Çizilen bakteriler 25±2 °C'de inkübatör içerisinde 24 saat bekletildikten sonra besi yerinin merkezine patojen etmen *S. sclerotiorum*'dan alınan 5 mm çapında miselyum disk yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). Kontrol grubunda rizobakteri izolatlarının çizilmediği besi yerlerine sadece hastalık etmeni olan fungus yerleştirilmiştir. Parafilm ile kaplanan petriler 25±2 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Yaklaşık bir hafta süren inkübasyon sonucunda kontrol grubundaki funguslar petriyi kapladığında deneme sonlandırılmıştır. Deneme sonunda kontrol grubundaki fungusların ve rizobakteri uygulaması yapılan petrilerdeki miselyum çapları ölçülmüştür (Tozlu ve ark., 2016; Kotan, 2017). Ölçülen miselyum çapları kıyaslanarak yüzdesel engelleme oranları hesaplanmıştır (Mari ve ark., 1996). Deneme beş tekerrürlü olarak kurulup, iki kez tekrarlanmıştır.

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

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



Şekil 3.1. Rizobakterilerin besi yerinin uç kısımlarına halka şeklindeki çizimi

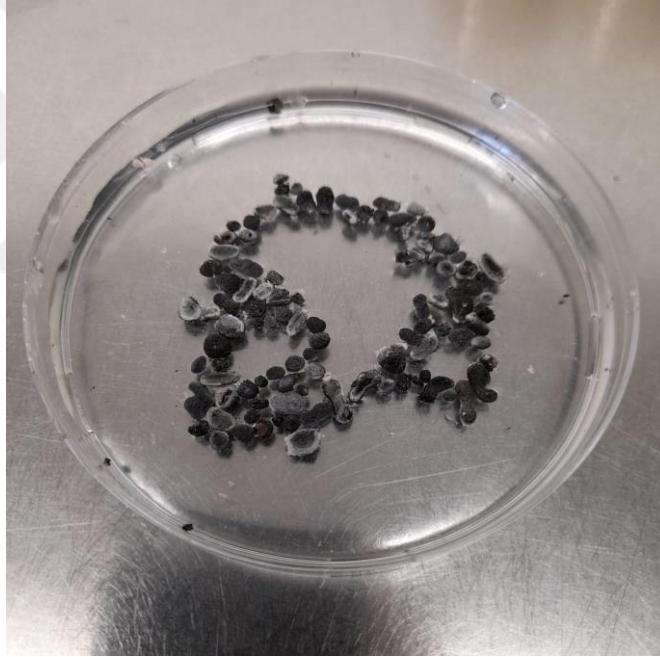


Şekil 3.2. *Sclerotinia sclerotiorum* patojeninden alınan 5 mm'lik diskin besi yerine aktarılması

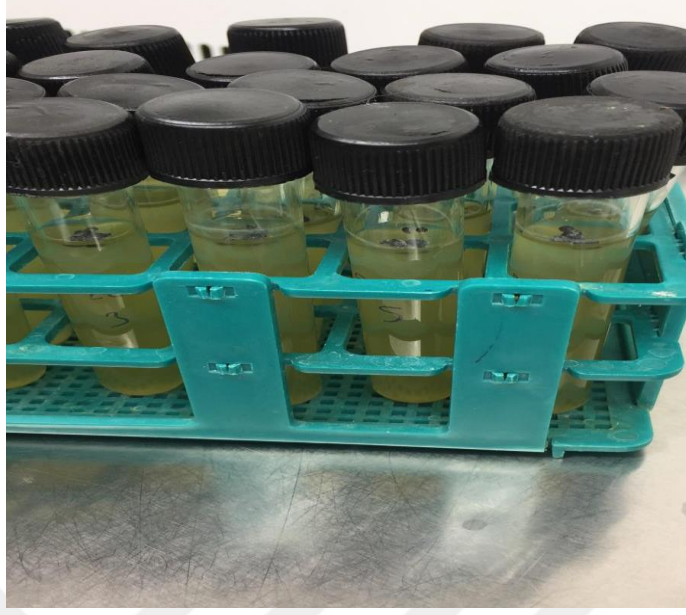
Rizobakterilerin Sclerotinia sclerotiorum'un sklerot çimlenmesine etkisinin belirlenmesi

Çalışmada ilk olarak sklerotlar yüzeyden dezenfekte edilmiştir. Potato Dextrose Agar (PDA) besi yerinde yaklaşık 10 günlük süre ile gelişen sklerotlar önce %2'lik sodyum hipoklorit içerisinde daldırılmış ve daha sonra da 3 kez steril distile sudan geçirilerek yüzeyden dezenfekte edilmiştir (Şekil 3.3). Daha sonra sklerotlar 10 ml Luria Bertani

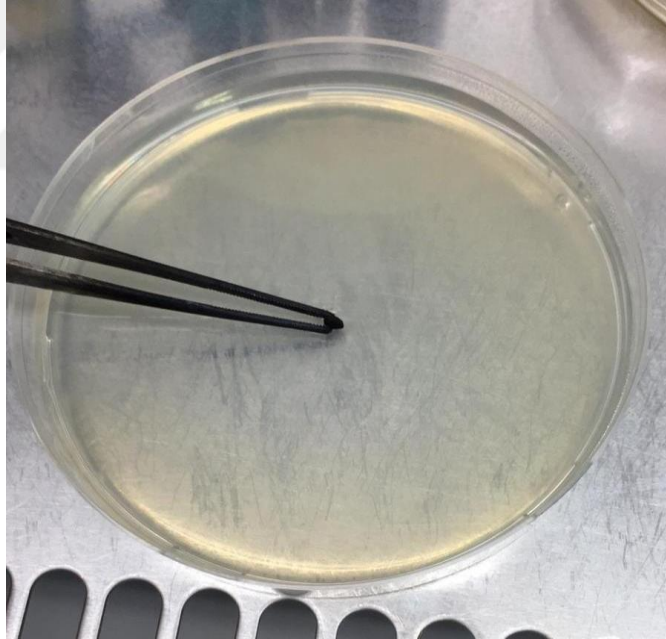
Broth (LB) besi yeri ile hazırlanan 1×10^8 hücre/ml yoğunluğundaki rizobakteri süspansiyonlarına konulmuştur (Şekil 3.4). Rizobakterilerin her bir izolatu için 5 adet sklerot kullanılmış olup, uygulamanın yapıldığı erlenmayerler 24 saat 175 rpm'de çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Rizobakteri uygulamasına maruz kalan sklerotlar bistüri yardımı ile ikiye bölünerek PDA besi yerine aktarılmış ve 5 gün 25°C'de inkübasyonda gelişmeye bırakılmıştır (Şekil 3.5). İnkübasyondaki gelişim süresi sonunda çimlenmekte olan sklerotlar canlı olarak kabul edilmiş ve miselyum çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Kontrol grubu olarak ayrılan ve rizobakteri izolatının olmadığı LB besi yerine 5 adet sklerot konulmuştur. 3 tekerrürlü olarak kurulan deneme 2 kez tekrar edilmiştir. Kontrol grubu ile rizobakteri uygulamaları kıyaslanmış ve sklerotların canlılık oranları ve miselyum gelişim oranlarına etkisi belirlenmiştir (Abdeljalil ve ark., 2016).



Şekil 3.3. Patojen sklerotlarının %2'lik sodyum hipoklorit ile yüzey dezenfeksiyon işlemine tabi tutulması



Şekil 3.4. Patojen sklerotlarının bakteri süspansiyonlarına daldırılması



Şekil 3.5. Rizobakteri solüsyonlarından çıkarılan patojen sklerotlarının PDA besi yerine aktarılması

3.2.2. *In vivo* alışmalar

Rizobakteri izolatlarının marulda beyaz ürüklük hastalığına etkisinin belirlenmesi

Çalışma, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Merkezi, Bitki Koruma Bölümü serasında Maritima eşidi marul fideleri kullanılarak erekleştirilmiştir. Çalışmada ilk olarak bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır. NA besi yerine çizgi ekimi yapılan rizobakteri izolatları 25 ± 2 °C’de 24 saatlik gelişim için inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen rizobakteri izolatları tuzlu su (0.85% NaCl) içerisinde çözölmüş olup, spektrofotometrede 600 nm’de 0.3 absorbans değerine (1×10^8 hücre/ml) ayarlanmıştır (şekil 3.6). Hazırlanan süspansiyonlara marul fideleri daldırılarak 30 dakika kadar bekletilmiş ve kök bölgesine rizobakterilerin kolonizasyonları sağlanmıştır (şekil 3.7). Akabinde daldırma işlemi yapılan fideler torf, steril toprak ve perlit (1:1:1/2) karışımı bulunan 3.7 litre hacimli (7 numaralı 20x18 cm) saksılara şaşırtılmıştır (şekil 3.8). Fidelerin gelişimleri gözlemlenerek saksılara şaşırtıldıktan 10 gün sonra rizobakterilerden hazırlanan bakteri süspansiyonları ikinci bir uygulama şeklinde (50 ml) bitkinin kök kısımlarından aktarılmıştır (Kayaaslan, 2021) (şekil 3.9). Bu uygulamadan 10 gün sonra da rizobakterilerden hazırlanan süspansiyonlar bir el pölvemizatorü ile tüm bitkiyi ıslatacak şekilde yeşil aksama pöskürtölmüşür (şekil 3.10). Daha sonra bitkilerin göbek kısmının tam ortasına yara dokusu açılmış ve bu doku noktalarına 5 mm çapında patojen disk yerleştirilmiştir (şekil 3.11). Patojen inokulasyonu yapılan noktalara nemli pamuk yerleştirilerek kapatılmıştır (şekil 3.12). Uygulama yapılan bitkiler bir günlük nem çemberine alınmıştır (şekil 3.13). Pozitif kontrol grubu bitkilerine yalnızca *S. sclerotiorum* inokule edilmiştir (Tozlu ve ark., 2016). Negatif kontrol grubu olarak bitkilere sadece saf su, ilaçlı kontrol grubu olan bitkilere de Bakır hidroksit etkili maddeli ilaç firmanın önermiş olduğu dozda uygulanmıştır (izelge 3.2). Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekrarlı olacak şekilde her tekrarda 5 bitki ile kurulmuş olup, iki kez tekrarlanmıştır. Pozitif kontroldeki gelişimler dikkate alınarak yapılan uygulamadan 6 gün sonra pozitif kontrol bitkileri ve uygulama yapılan bitki gruplarındaki ölü ve canlı bitki sayımları yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Saksı çalışmasında yapılan uygulamalar

Kodlar	Uygulamalar
PK	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> uygulaması
NK	Saf su uygulaması
İK	Bakır hidroksit
ZE-2	<i>Enterobacter cloacae</i>
ZE-5	<i>Enterobacter aerogenes</i>
ZE-7	<i>Bacillus cereus</i>
ZE-12	<i>Pseudomonas putida</i>
ZE-13	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
7-A-2	<i>Burkholderia cepacia</i>
11-B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>



Şekil 3.6. Uygulama için hazırlanan rizobakteri süspansiyonları



Şekil 3.7. Rizobakteri izolatlarından hazırlanan solüsyonlara fidelerin daldırılması



Şekil 3.8. Bakteri süspansiyonlarına daldırılan fidelerin saksılara şaşırtılması



Şekil 3.9. Saksılara şaşırtılan fidelere süspansiyonların uygulanması



Şekil 3.10. Açılan yara dokularını ve bitkiyi ıslatacak şekilde rizobakteri solüsyonunun uygulanması



Şekil 3.11. Fidelere 5 mm çapında yara dokularının açılması ve patojenin koyulması



Şekil 3.12. Patojenin inokulasyon sağlandığı yerlerin pamuk ile kapatılması

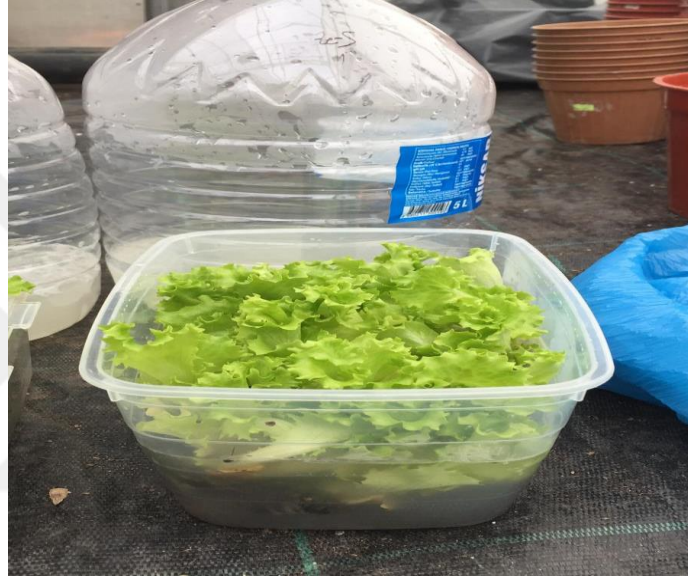


Şekil 3.13. Uygulama yapılan marulların nem çemberine alınması

Rizobakteri izolatlarının marul bitkisinde gelişime olan etkisinin belirlenmesi

Rizobakteri izolatlarının marulda beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkilerinin yanı sıra sağlıklı marul bitkilerinde bitki büyümesine olan etkilerini de belirlemek amacıyla saksı çalışması yürütülmüştür. Çalışma yine 3.2.2.1’de belirtilen deneme seralarındaki gibi Maritima marul fide çeşidi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın bu bölümünde hastalık kontrol grubu (PK uygulaması) hariç Çizelge 3.2’de verilen uygulamalar yapılmıştır. NA besi yerinde 27 °C’de 24 saat inkübasyonda geliştirilen rizobakterilerden saline buffer (%0.85 NaCl) kullanılarak süspansiyon hazırlanmıştır. Yoğunluk spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.3 absorbans değerine ayarlanmıştır. Rizobakterilerden oluşturulan uygulama süspansiyonlarının içerisine marul fidelerinin kökleri 30 dakika daldırılmış ve böylece fidelerin kök kısımlarında bakteri kolonizasyonu sağlanmıştır (Şekil 3.14). Fideler daha sonra torf, steril toprak ve perlit (1:1:1/2 v/v) karışımı bulunan saksılara dikilmiştir (Şekil 3.15). Kontrol grubu bitkilere sadece saf su uygulaması yapılmıştır. Şaşırtılma işleminden 10 gün sonra

rizobakterilerden hazırlanan bakteri süspansiyonları ikinci bir uygulama şeklinde (50 ml) bitkilerin kök kısımlarına uygulanmıştır. Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekrarlı olacak şekilde her tekrarda 5 bitki ile kurulmuş olup, iki kez tekrarlanmıştır. Günlük olarak bakım-sulama işlemleri takip edilmiş ve yaklaşık 45 gün sonunda verim denemesi sonlandırılmıştır. Kontrol parselindeki bitkiler ile uygulama yapılan bitkilerin baş çapı, baş yüksekliği, baş yaş ve baş kuru ağırlığı, gövde çapı, kök uzunluğu, kök yaş ve kök kuru ağırlıkları ölçülmüştür (Şekil 3.16).



Şekil 3.14. Hazırlanan solüsyonların fide köklerine uygulanması



Şekil 3.15. Saksı çalışmalarının genel görüntüsü



Şekil 3.16. Bitki gövde kuru ağırlıklarının alınması

3.3. İstatistiki Analizler

Çalışma sonunda elde edilen veriler, SPSS istatistik 25 paket programının kullanımı ile varyans analizlerine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farkların tespiti için Duncan çoklu karşılaştırma testi ile $p \leq 0.05$ önem seviyesinde belirlenmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *In vitro* Çalışmalar

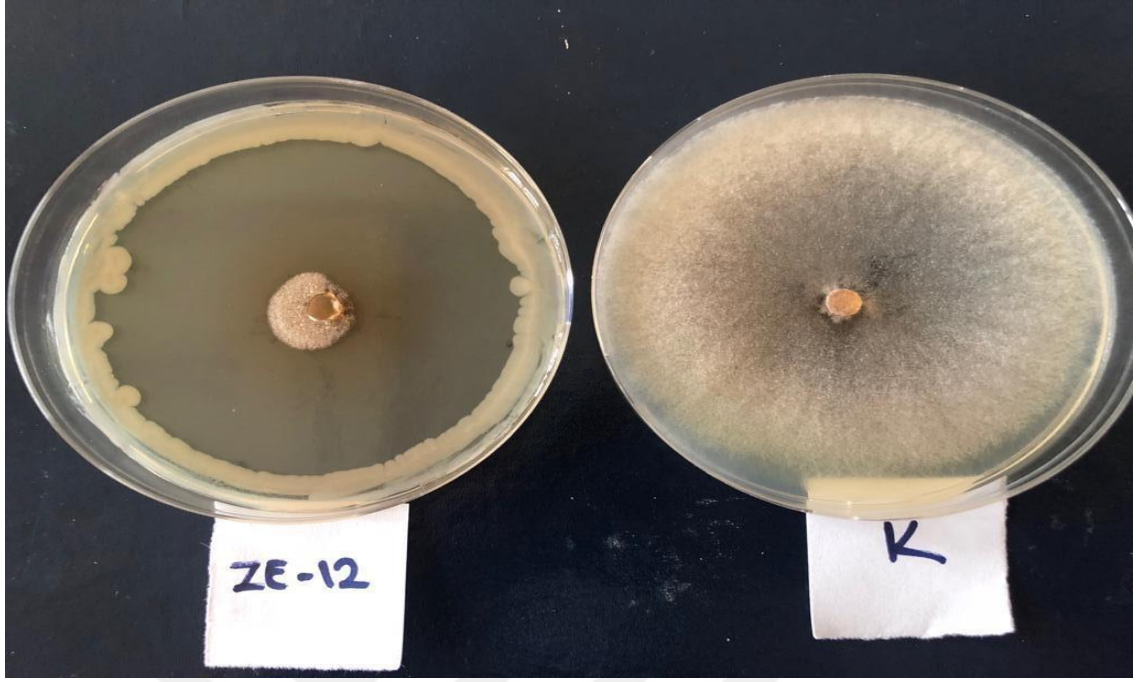
4.1.1. Rizobakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum*'un miselyum gelişimine ve sklerot çimlenmesine etkisi

Yapılan petri çalışmasında kullanılan 8 adet rizobakteri izolatu *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimi üzerinde %38.09-79.84 arasında değişen oranlarda etki göstermiştir. Hastalık etmeni üzerinde en yüksek etki *Pseudomonas putida* (ZE-12) (%79.84) izolatında tespit edilmiştir (Şekil 4.1). ZE-12'ye ilaveten ZE-5 (%78.77), ZE-2 (%77.43), ZE-7 (%76.37) ve ZE-13 (%72.24) kodlu bakteriler de patojen fungus üzerinde yüksek etki göstermiştir. Patojen fungusun üzerinde en az etki gösteren izolat ise 11-b kodlu *Pseudomonas chlororaphis* olmuştur (Şekil 4.2). Yapılan *in vitro* çalışmada testlenen izolatların kontrolden farklı grupta yer aldığı ve istatistiki olarak önemli olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1).

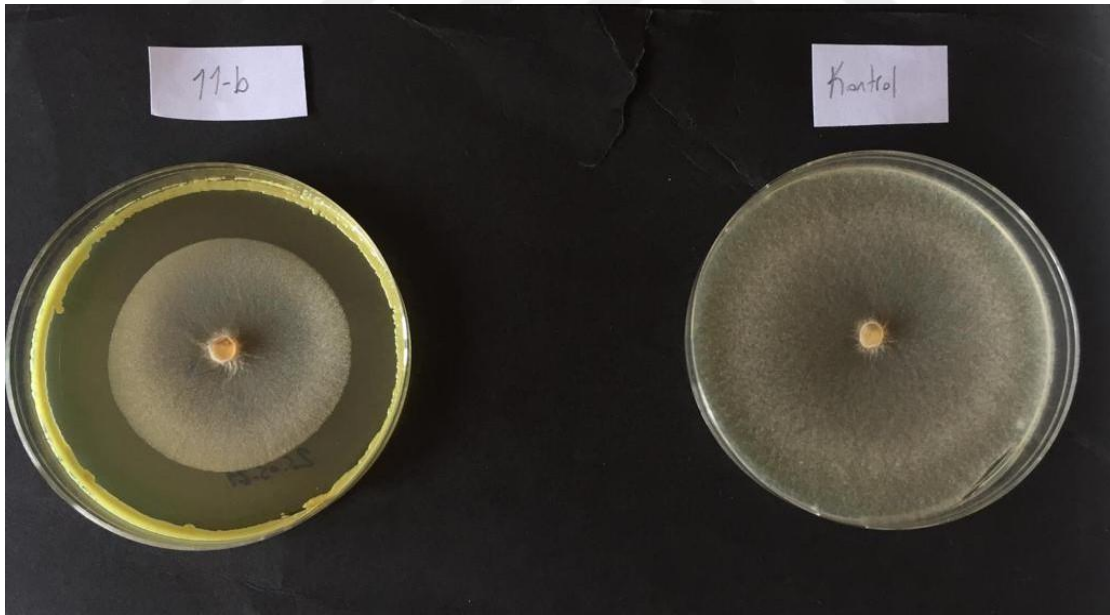
Çizelge 4.1. Testlenen bakteri izolatlarının *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimine etkisi

Kodlar	Uygulamalar	Miselyum gelişimi (mm)	Etki oranı (%)
K	Kontrol	77.27±0.60 a*	0
11b	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	48.06±5.10 b	38.09
7-a-2	<i>Burkholderia cepacia</i>	44.85±7.69 b	42.22
ZE-8	<i>Microbacterium testaceum</i>	38.49±7.75 c	50.41
ZE-13	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	21.55±5.74 d	72.24
ZE-7	<i>Bacillus cereus</i>	18.34±7.52 de	76.37
ZE-2	<i>Enterobacter cloacae</i>	17.52±8.89 de	77.43
ZE-5	<i>Enterobacter aerogenes</i>	16.48±2.99 de	78.77
ZE-12	<i>Pseudomonas putida</i>	15.66±5.67 e	79.84

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



Şekil 4.1. ZE-12 kodlu *Pseudomonas putida* izolatının *S. sclerotiorum* patojeni üzerindeki miselyum gelişimini engellemesi



Şekil 4.2. 11-b kodlu *Pseudomonas chlororaphis* izolatının *S. sclerotiorum* üzerindeki etkisi

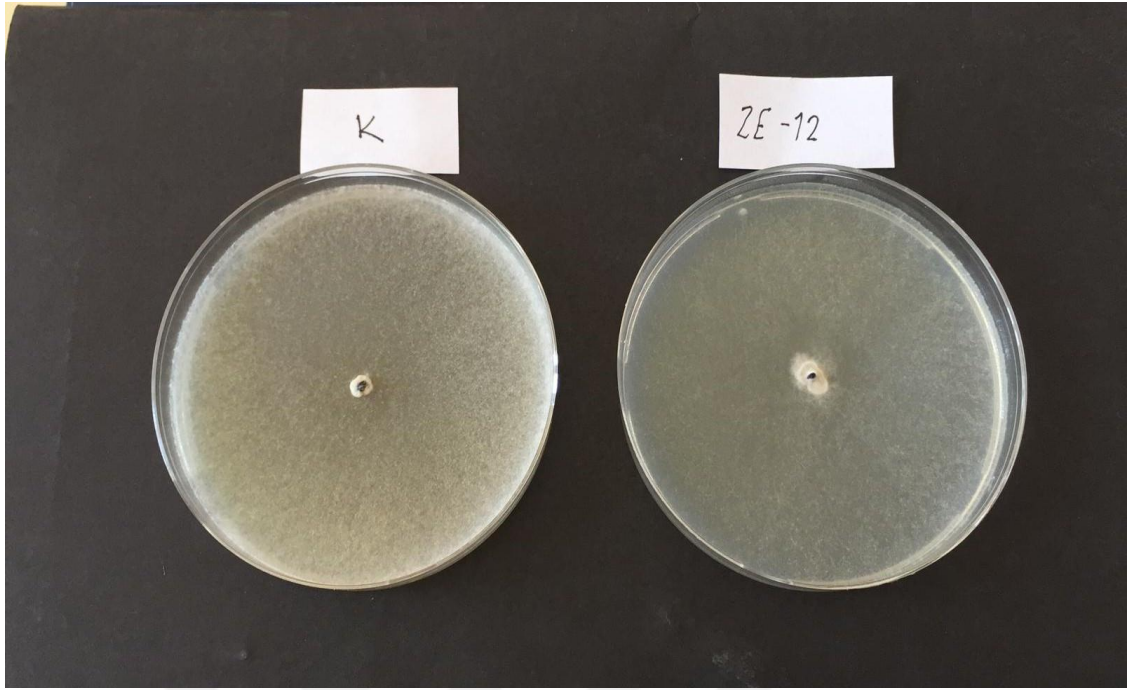
Testlenen bakteri izolatları *S. sclerotiorum*'un sklerot çimlenmesi üzerinde de farklı etkilere sahip olmuşlardır. ZE-2, ZE-5, ZE-7, ZE-8, ZE-12 kodlu bakteri süspansiyonuna daldırılan sklerotlarda çimlenme görülürken (Şekil 4.3), ZE-13, 7-a-2

ve 11-b izolatlar ile muamele edilen sklerot da ölüm gerçekleşmiştir (Şekil 4.4). ZE-5, ZE-8 ve ZE-12 izolatları patojenin miselyum gelişimi üzerinde yüksek etki görülürken, tam tersi sklerotlarda canlılık görülmüştür. ZE-2 ve ZE-7 kodlu bakteri ile muamele edilen sklerotlarda da önemli düzeyde miselyum gelişimi baskılanmıştır (Çizelge 4.2). Yapılan *in vitro* çalışmada özellikle ZE-13 izolatı *S. sclerotiorum*'un hem miselyum gelişiminde hem de sklerot çimlenmesi üzerinde yüksek etki göstermiş olup, en başarılı izolat olarak belirlenmiştir.

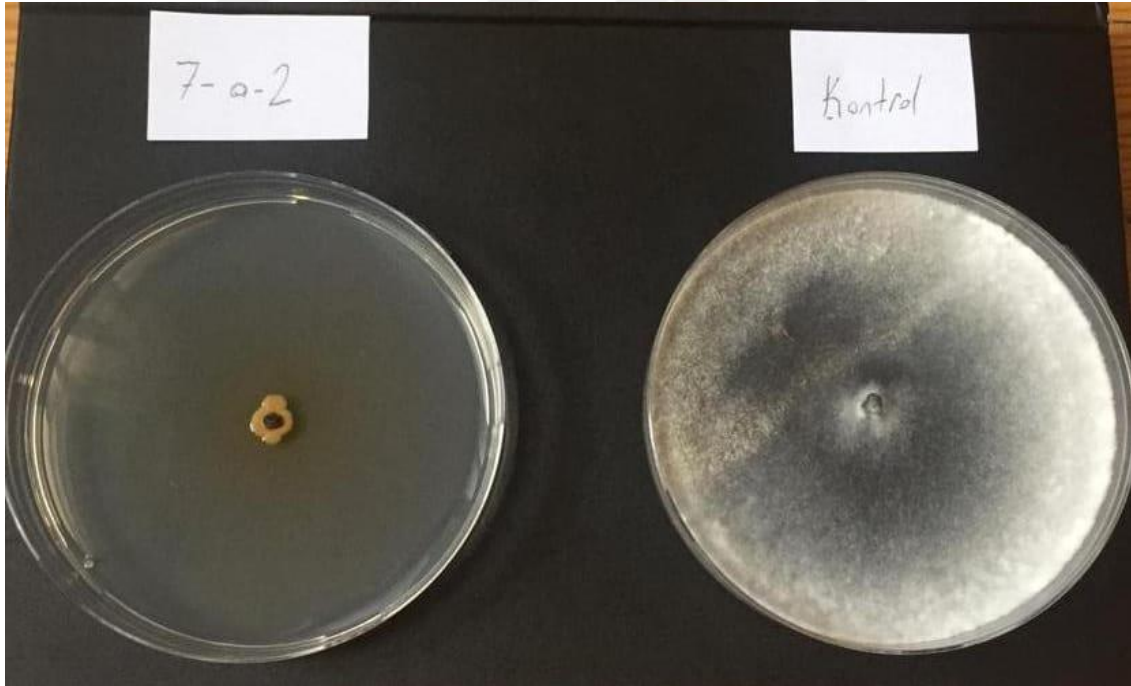
Çizelge 4.2. Testlenen bakteri izolatlarının *S. sclerotiorum*'un sklerot canlılığı üzerine etkisi

Kodlar	Uygulamalar	Sklerot canlılığı	Miselyum çapı (mm)
K	Kontrol	Canlı	81.32±0.70 a*
ZE-8	<i>Microbacterium testaceum</i>	Canlı	54.64±4.72 b
ZE-12	<i>Pseudomonas putida</i>	Canlı	44.64±8.24 c
ZE-5	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Canlı	42.47±11.26 c
ZE-7	<i>Bacillus cereus</i>	Canlı	2.59±4.99 d
ZE-2	<i>Enterobacter cloacae</i>	Canlı	1.73±3.97 d
ZE-13	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Ölü	0.00±0.00 d
7-a-2	<i>Burkholderia cepacia</i>	Ölü	0.00±0.00 d
11b	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	Ölü	0.00±0.00 d

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



Şekil 4.3. ZE-12 kodlu *Pseudomonas putida* izolatının sklerot canlılığı üzerine etkisi



Şekil 4.4. 7-a-2 kodlu *Burkholderia cepacia* izolatının sklerot canlılığı üzerine etkisi

Daha önceki çalışmalar incelendiğinde mevcut çalışmaya benzer şekilde, Fatouros ve ark. (2018), *Paenibacillus alvei* K165'in marulda toprak kökenli *S. sclerotiorum*'un gelişimini engellediğini bildirmiştir. Ayrıca, K165 ile muamele edilen bitkiler PR1,

LOX ve ERF1'in düzenlenmesi sonucu *S. sclerotiorum*'u baskılamıştır. Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda da *Pseudomonas* spp. AFP104 izolatı *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimini %83.3 oranında (Soylu ve ark., 2005), *Streptomyces* sp., *Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus subtilis* (Bs1) bakterileri de patojen fungusu sırasıyla %72.2, 68.0, 62.22 oranında engellemiştir (Helmy, 2016). Başka bir çalışmada da, *Pseudomonas* cinsine ait 10 adet bakteri izolatı ile etkinlik çalışması yapılmıştır. *In vitro* miselyum çalışmasında, antagonistik bakteriler *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimi üzerinde %65.5-88.26 arasında değişen oranlarda bir etki göstermiştir (Bayram ve Belgüzar, 2021).

Patojenin sklerot canlılığı üzerinde de testlediğimiz bakteri izolatları ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında *Pseudomonas fluorescens* izolatının sklerot oluşumu üzerinde önemli ölçüde baskılayıcı etki gösterdiği bildirilmektedir (El-Kafrawy, 2008). Benzer şekilde, Onaran ve Yanar (2011), testledikleri 23 izolattan 12 tanesinin sklerotlarda ölüm sağladığını ve özellikle *Pseudomonas putida* ve *P. fluorescens*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus pumilis* izolatlarının sklerotlar üzerinde etkili olduğunu belirtmiştir. Bayram ve Belgüzar (2021) da yaptıkları çalışmada *Pseudomonas brassicacearum*, *P. thivervalensis*, *P. chlororaphis* türlerinin sklerot canlılığı üzerinde yüksek etkiye sahip olduklarını bildirmiştir.

4.2. *In vivo* Çalışmalar

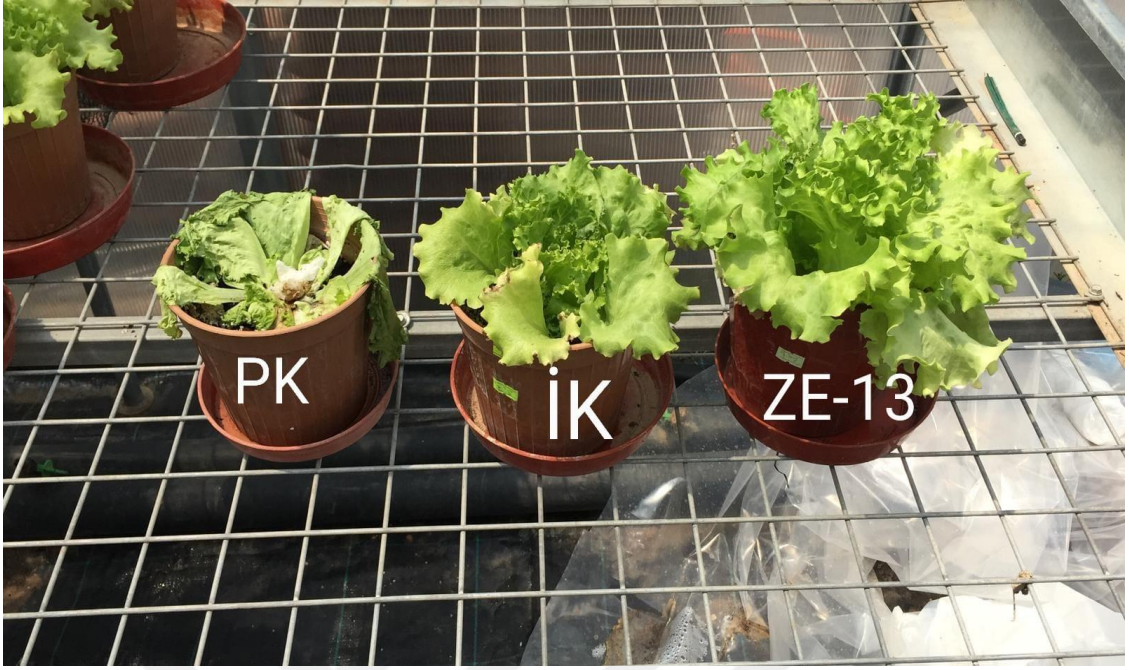
4.2.1. Rizobakteri izolatlarının marulda beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisi

Sera koşullarında saksı denemesi şeklinde yürütülen çalışmada patojen uygulamasından 6 gün sonra bitkilerde ölümler başlamıştır. Pozitif kontrol bitkilerindeki gelişimlere göre uygulama yapılan gruplarda ölü/canlı bitki sayımı yapılmıştır. Çalışma sonucuna göre, sadece *S. sclerotiorum* hastalık etmeninin uygulandığı pozitif kontrol bitkilerinin tümünde ölüm gerçekleşmiştir (%100 ölüm). Sadece saf su uygulaması yapılan negatif kontrol bitkilerinde ise herhangi bir beyaz çürüklük hastalık belirtilerine rastlanılmamıştır (%0 ölüm). Bakteri uygulamalarının yapıldığı bitkilerde ise %50-90 arasında değişen oranlarda bir etki görülmüştür. En yüksek etki ZE-13 kodlu *A. calcoaceticus* bakteri uygulamasında %90 etki ile görülmüştür. (Şekil 4.5). ZE-13 kodlu

bakteriyi takiben *E. aerogenes* (ZE-5) ve *P. putida* (ZE-12) bakterileri de %80 oranında etki göstermiştir (Şekil 4.6). ZE-2 ve ZE-7 kodlu bakteri uygulamalarında ise %70’lik bir etki görülmüştür (Şekil 4.7). Uygulamalar içerisinde en düşük etki 11-b kodlu *P. chlororaphis* bakteri uygulamasında gerçekleşmiştir. 7-a-2 kodlu bakteri uygulamasında ise %60’lık bir etki görülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Marul bitkisinde antagonistik bakterilerin beyaz çürüklük hastalığı üzerine etkisi

Kodlar	Uygulamalar	Etki oranı (%)
PK	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> uygulaması	0
NK	Saf su uygulaması	100
ZE-2	<i>Enterobacter cloacae</i>	70
ZE-5	<i>Enterobacter aerogenes</i>	80
ZE-7	<i>Bacillus cereus</i>	70
ZE-12	<i>Pseudomonas putida</i>	80
ZE-13	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	90
7-a-2	<i>Burkholderia cepacia</i>	60
11b	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	50



Şekil 4.5. ZE-13 kodlu *Acinetobacter calcoaceticus* izolatının İK uygulaması ve PK uygulaması ile karşılaştırılması



Şekil 4.6. ZE-12 kodlu *Pseudomonas putida* izolatının İK uygulaması ve PK uygulaması ile karşılaştırılması



Şekil 4.7. ZE-7 kodlu *Bacillus cereus* izolatının İK uygulaması ve PK uygulaması ile karşılaştırılması

Yürütülen çalışmada farklı cinslere ait bakteri izolatları kullanılarak marul bitkisinde beyaz çürüklük hastalığının biyolojik kontrol olanakları araştırılmıştır. Benzer şekilde Soylu (2011) marul bitkisinde *S. sclerotiorum*'a karşı antagonistik kök bakteri izolatlarının (*Lysobacter enzymogenes* C3R5 ve N4-7) ve PGPR izolatlarının (*Bacillus pumilus* T4, *B. amyloliquefaciens* IN937a, *Pseudomonas fluorescens* WCS417r ve *P. putida* 89B-61) etkinliklerini araştırmıştır. *In vitro* çalışmalarda *L. enzymogenes* C3R5 ve N4-7 izolatları patojen üzerinde önemli düzeyde engelleme göstermiştir. *In vivo* koşullarda da tüm izolatlar pozitif kontrole kıyasla hastalık gelişiminde baskılayıcı etki göstermiştir. Chen ve ark. (2016), iki *Streptomyces* türünün (*S. exfoliatus* FT05W ve *S. cyaneus* ZEA17I) *S. sclerotiorum*'a olan etkilerini incelemişlerdir. Her iki izolat *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimini %75'den fazla engellemiştir. Arazi koşullarında marul bitkisi ile yapılan çalışmada ise *S. exfoliatus* FT05W hastalığı %40 oranında engellemiştir. *Bacillus subtilis* GG95 ile yapılan bir çalışmada da marulda beyaz çürüklük hastalığına karşı %88 oranında bir başarı sağlanmıştır (Lee ve ark., 2014). *Arthrobacter* FP15 ve *Blastobotrys* FP12 izolatları da marulda beyaz çürüklük hastalık şiddetini önemli düzeyde düşürmüştür (Aggeli ve ark., 2020). Hıyar bitkisinde beyaz çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesine yönelik olarak sera koşullarında yürütülen

diğer bir saksı çalışmasında da uygulamalar içerisinde en yüksek etki *Pseudomonas chlororaphis* tekli uygulaması ve *P. brassicacearum* ve *P. chlororaphis* ikili uygulamasında görülmüştür. Her iki uygulamada %80 oranında bir etki görülmüştür (Bayram ve Belgüzar, 2021).

Hem *in vitro* hem de *in vivo* denemelerde *Acinetobacter calcoaceticus* patojen fungus *S. sclerotiorum* üzerinde en yüksek etkiyi gösteren bakteri izolatu olmuştur. *A. calcoaceticus*, domateste *Fusarium oxysporum* ff. spp. *radicis-lycopersici*'nin neden olduğu *Fusarium* hastalığına karşı da yüksek etki göstermiştir. Bakteri siderofor, biyofilm, proteaz, endoglukanaz, ve indol asetik asit ve fosfatı çözme mekanizmalarını kullanarak bitki gelişimini ve patojen biyokontrolünü sağlamaktadır (Khalil ve ark., 2021). Aynı zamanda, *A. calcoaceticus* malik, sukkinik asit ve sitrik asit gibi organik asitleri üreterek de bitki gelişimini artırır (Kang ve ark., 2021). Mevcut çalışmada, *A. calcoaceticus* izolatını takiben *Pseudomonas putida* da patojen fungus üzerinde başarılı olan izolatlardan birisidir. Benzer şekilde, sera koşullarında hıyar bitkisi ile yapılan çalışmada da *P. putida* beyaz çürüklük hastalığını %83.64 oranında engellemiştir (Onaran ve Yanar, 2011). Aynı şekilde, *Enterobacter cloacae* izolatu da *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimi, sklerot canlılığı ve beyaz çürüklük hastalığı üzerinde yüksek etki gösteren izolatlardan olmuştur. Mohamed ve ark. (2020) tarafından farklı bir patojen (*Ralstonia solanacearum*) ile yapılan çalışma bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. Siderofor, indol asetik asit, hidrojen siyanit, salisilik asit üretimi ile *E. cloacae* PS14 hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda etmen üzerinde en yüksek etkiye sahip olmuştur.

Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler, antagonistik bakteriler, probiyotik bakteriler salgıladıkları çeşitli antibiyotikler, antimikrobiyal bileşikler, enzimler, organik uçucu bileşenler vb. ile patojenlerin gelişimini baskılamakta ve konukçuda sistemik dayanıklılığı etkilemektedirler. Örneğin *Pseudomonas* türleri pyoluteorin, pyrrolnitrin, phenazines, siderofor, siyanid, 2,4-diasetilphloroglucinol gibi çok sayıda antimikrobiyal bileşenleri (Compant ve ark., 2005) ve selüloz, kitiniaz, proteaz, beta-glukanaz gibi enzimleri (Hernandez-Leon ve ark., 2015) üretmektedir. Sklerot ve spor çimlenmesi üzerinde bakteriler tarafından üretilen phenazine-1-karboksilik asit, 2-hidroksifenaz ve

pyrrolnitrin (PRN) gibi antibiyotikler etkili olmaktadır (Savchuck, 2002; Fernando ve ark., 2007; Zhang ve ark., 2004; Zhang, 2004; Selin ve ark., 2010).

4.2.2. Rizobakteri izolatlarının marul bitkisindeki bitki gelişimine olan etkileri

Çalışmanın bu aşamasında patojen etmen ile enfekteli olmayan marul bitkilerine sadece rizobakteriler uygulanmış olup bitki vejetatif gelişimleri incelenmiştir. Çalışmanın bu kısmı da biyolojik kontrol çalışması ile aynı dönem içerisinde ve aynı koşullarda yürütülmüştür. Bitkiler için sulama ve bakım işlemleri günlük olarak takip edilmiş olup 38 gün sonra verim denemesi sonlandırılmıştır (Şekil 4.8). Çalışma sonlandırılırken baş çapı, gövde çapı, baş yüksekliği ve kök uzunluğu ölçülmüş, baş yaş ve kuru ağırlığı, kök yaş ve kuru ağırlığı tartılmıştır. Çalışmaya ait veriler Çizelge 4.4’de verilmiştir. Şekil 4.9’de de NK bitkileri ile rizobakteri uygulanan bitkilerin genel bir görüntüsü verilmiştir.

Çizelge 4.4. Rizobakterilerin marul bitkisinde gelişime etkisi

Uygulamalar	Açıklama/Bilimsel adı	Baş çapı (cm)	Baş yüksekliği (cm)	Gövde çapı (cm)	Baş yaş ağırlığı (g)	Kök uzunluğu (g)	Kök yaş ağırlığı (g)	Baş kuru Ağırlığı (g)	Kök kuru ağırlığı (g)
NK	Saf su uygulaması	27.65±2.8 ^z c ^y	19.5±1.21a	5.52±0.65bc	91.3±14.03b	17.9±6.24b	8.03±3.94d	3.24±0.94a	1.14±0.56c
ZE-2	<i>Enterobacter cloacae</i>	36.0±2.46a	20.7±2.56a	4.5±0.79d	140.3±23.75a	19.8±4.42b	16.08±3.13a	10.02±1.93a	2.06±0.76a
ZE-5	<i>Enterobacter aerogenes</i>	29.02±2.74c	19.75±1.64a	6.75±0.67a	103.1±14.57b	28.32±7.0a	11.89±3.97bc	3.5±1.07a	1.87±0.88abc
ZE-7	<i>Bacillus cereus</i>	30.67±1.67bc	21.17±1.2a	6.05±0.35ab	103.4±10.84b	25.6±5.83a	8.48±2.13cd	3.9±1.06a	1.26±0.58bc
ZE-12	<i>Pseudomonas putida</i>	29.57±3.15c	19.85±1.82a	6.02±0.54ab	93.4±11.08b	24.8±4.71a	8.68±2.53cd	3.27±0.87a	1.09±0.32c
ZE-13	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	33.67±8.24ab	19.75±5.16a	4.6±1.25d	143.1±38.0a	15.65±4.5b	14.6±4.89ab	9.8±2.97a	2.18±1.24a
7-a-2	<i>Burkholderia cepacia</i>	35.32±2.81a	20.02±2.2a	5.1±0.94cd	148.3±30.2a	17.75±4.0b	15.39±4.73ab	9.86±2.31a	2.03±0.98ab
11b	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	35.67±2.71a	21.0±3.34a	5.05±0.91cd	149.8±32.85a	18.02±3.2b	14.58±4.08ab	9.69±3.09a	1.83±0.76abc

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

Yapılan denemede NK bitkilerinde marul baş çapı 27.65 cm olarak ölçülmüştür. Rizobakteri uygulanan bitkilerde ise baş çapında artış görülmüş olup, marul bitkilerinde baş çapı 29.02-36.0 cm aralığında ölçülmüştür. NK ile kıyaslandığında en yüksek etki *Enterobacter cloacae* (ZE-2) uygulaması yapılmış (36.0 cm) bitkilerde görülmüştür. Bakterilerin bitkilerdeki baş yüksekliğine olan etkileri ise 19.75-21.17 cm olarak ölçülmüştür. Kontrol bitkilerindeki baş yüksekliği (19.50 cm) ile kıyaslandığında istatistiki olarak önemli bir fark görülmemiş olup yapılan analizde rizobakteri uygulamaları kontrol ile aynı grupta yer almıştır. Bakteri izolatlarının uygulandığı bitkilerdeki gövde çapı oranları ise 4.5-6.75 cm olarak ölçülmüştür. Kontrol bitkilerindeki gövde çapı ölçümlerine göre (5.52 cm) en yüksek gövde çapı etkisinin *Enterobacter aerogenes* (ZE-5) uygulamasında (6.75 cm) gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Negatif kontrol bitkilerinden daha düşük etki gösteren bakteri uygulamalarının olduğu da tespit edilmiştir.

Rizobakterilerin baş yaş ağırlığına olan etkileri incelendiğinde ise, ölçümlerin 93.4-149.8 gr aralığında olduğu ve kontrol bitkilerinin baş yaş ağırlığına (91.3 gr) oranla oldukça önemli bir etki sağlandığı gözlemlenmiştir. Bitkilerdeki baş yaş ağırlıkları karşılaştırıldığında en yüksek etkiyi gösteren bakteri izolatı 11-b uygulaması (149.8 gr) olmuştur. Bakteri izolatları bitkilerde köklerde de uzamayı sağlamış olup, kök uzunlukları 15.65-28.32 cm aralığında ölçülmüştür. Kontrol bitkileri (17.9 cm) ile kıyaslandığında bakteri izolatlarının uygulandığı bitkilerde oldukça önemli artışlar gözlemlenmiştir. Kök uzunluğu ölçümlerindeki en yüksek etkiyi ZE-5 (*Enterobacter aerogenes*) bakteri izolatı (28.32 cm) sağlarken (Şekil 4.10), kontrol bitkilerinin değerlerinden daha düşük etki gösteren bakteri izolatlarının olduğu da tespit edilmiştir. Kök yaş ağırlığında ise, bakteri izolatlarının uygulandığı bitkilerde önemli ölçüde artış sağlanmıştır. Bakteri uygulanan bitkilerde kök yaş ağırlığı 8.48-16.08 gr aralığında ölçülmüştür. Kontrol (8.03 gr) ile kıyaslandığında ZE-2 bakteri izolatı (16.08 gr) ve 7-a-2 bakteri izolatının (15.39 gr) kayda değer bir etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Baş kuru ağırlık değerleri incelendiğinde ise, bakteri izolatlarından ZE-2 (10.2 gr) uygulamasının kontrol uygulamalarındaki ölçümlere oranla (3.24 gr) oldukça etkili olduğu kaydedilmiştir. Kök kuru ağırlığında ise kontrol bitkilerindeki ölçümlere (1.14 gr) göre, en yüksek etkiyi gösteren bakteri izolatının ZE-13 (2.18 gr) olduğu kaydedilmiştir.



Şekil 4.8. Rizobakteri izolatlarının uygulandığı marul bitkilerinin görünümü



Şekil 4.9. NK bitkileri ve rizobakteri bitkileri arasındaki karşılaştırmalar



Şekil 4.10. ZE-5 kodlu rizobakteri ile NK uygulaması yapılan bitki arasındaki karşılaştırma

Yürütülen çalışmada rizobakterilerin marul bitkisinin gelişimini önemli ölçüde artırdığı görülmektedir. Yapılan çalışmalar incelendiğinde, kullandığımız rizobakteri izolatları dışında da bazı rizobakteri/antagonistik bakteri izolatlarının bitki gelişimlerinde olumlu etki yaptığı görülmüştür. Karagöz ve Kotan (2010) tarafından yapılan çalışmada *Pantoea* (33 izolat), *Bacillus* (6 izolat) ve *Paenibacillus* (1 izolat) cinslerine ait 40 adet bitki gelişimini teşvik eden rizobakterinin marulun gelişimine olan etkileri araştırılmıştır. Bakteri izolatlarının tamamı azotsuz besi yerlerinde gelişim göstermiş ve azotu fikse etme yeteneği olumlu yönde değerlendirilmiştir. Ayrıca izolatların çözülemez formda olan fosfatı çözebildiği de kaydedilmiştir. Bu çalışmada kullanılan *Paenibacillus polymyxa* KBA-2 izolatı yalnızca kök yaş-kuru ağırlığında, *Bacillus megaterium* KBA-10 izolatı ise hem kök, hem gövde ve bitkilerdeki toplam ağırlıkta sayısal olarak önemli artışlar sağlamıştır. Ek olarak gövde ağırlığında ise, oransal karşılaştırmalar sonucu en yüksek artışı sağlayan tek rizobakteri uygulaması *Bacillus*

megaterium KBA-10 izolatı olmuştur. Çelik (2022) tarafından yürütülen bir çalışmada ise, bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri izolatlarının marul fidelerindeki gelişim ve kaliteye olan etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Köksüz bitki boyu açısından en yüksek değere ulaşan YÖ41 (*Bacillus cereus*) uygulaması, kontrol uygulamasında olan bitkilere oranla %57.4'e varan verimsel artış sağlamıştır. Yine YÖ41 kodlu bakteri izolatı bitki çap ölçümlerinde kontrol uygulamasına göre %36 artış sağlamış, bitkilerdeki yaprak sayısındaki değerlerde de kontrol uygulamasına göre %28.6 oranında önemli artış sağlamıştır. YÖ41 izolatı kontrol uygulamasına göre bitki yaş ağırlığında %78.3 oranında, bitki kuru ağırlığında ise %66.6 oranında yüksek verim etkisi sağlamıştır.

PGPR'lar bitki gelişimini, bitkide bulundukları andan itibaren üretmiş oldukları bitkisel hormonlardan ve çeşitli vitaminlerden dolayı arttırmakta ve bu şekilde bitkilerde kök boylarında uzama böylece verim artışı sağlamaktadır. Ayrıca bakteriler minerallerin translokasyon işleminde ve bünyeye alınımında uygun, parçalanabilecek formlara dönüşümünü sağlarlar. Çok sayıda mikroorganizma bitkilerde sürgün, kök ve verimsel ölçüde önemli artış sağlayan Indol-3-asetik-asit (IAA), giberalik asit ve fitohormon üretmektedirler (Haggag ve Wafaa, 1997). Bitkilerdeki kök çevre ve yüzeyini yaşam alanı olarak belirleyen bu rizobakteriler yoğun olarak bu bölgede kolonize olmakta ve topraktaki fizyokimyasal aktivasyonlarını burada gerçekleştirmektedirler. Antagonist bakteri olarak da tanımladığımız bu bakterilerin etki mekanizmaları tam anlamıyla bilinmemek ile birlikte bitkisel üretimlerdeki faydalarını incelemek amacıyla biyotik/abiyotik koşullara karşı kullanımına yönelik pek çok çalışma yapılmakta ve artarak devam etmektedir. Yürütülen bu çalışma ile rizobakteri uygulamalarının bitki gelişimine olan olumlu etkileri de ortaya konulmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son yıllarda üretim alanlarında yoğun pestisit kullanımı birçok problemi beraberinde getirmektedir. Bitki hastalıkları ile mücadelede pestisit kullanımının azaltılması ve verimin artırılması için antagonistik bakterilerin, bitki gelişimini teşvik eden rizobakterilerin, faydalı mikroorganizmaların kullanımı sürdürülebilir tarım açısından önem arz etmektedir. Bu tür bakterilerin, mikroorganizmaların tarım alanlarında biyopreparat veya biyogübre olarak yayın bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir. Çalışma konumuz olan beyaz çürüklük hastalığı geniş konukçu dizisine sahip, tarım alanlarında problem olabilen ve mücadelesi oldukça zor olan hastalıklardan birisidir. Hastalık ile mücadelede kültürel önlemler yetersiz kalmakta olup, dayanıklılık problemleri ve patojenin sklerot oluşturmamasından dolayı kimyasal mücadelesinde de zorluklar yaşanmaktadır. Yürütülen bu çalışma ile, testlenen 8 adet rizobakterinin *S. sclerotiorum*'a karşı etkileri hem *in vitro* hem *de in vivo* koşullarda ortaya konmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, farklı engelleme etkisine sahip olan bakteri izolatlarının beyaz çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde kullanılma potansiyeline sahip oldukları ve marul bitkisinde bitki gelişimine olumlu yönde katkılar sağladığı belirlenmiştir. Söz konusu bakterilerin tarla koşullarında da etkilerinin belirlenmesi olumlu sonuç veren izolatlar ile formülasyon çalışmalarının gerçekleştirilmesi önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abdeljalil, N. O. B., Vallance, S., Gerbore, J., Rey, P. ve Daami-Remadi, M., 2016. Bio-suppression of *Sclerotinia* Stem Rot Of Tomato and Bbiostimulation of Plant Growth Using Tomato-associated Rhizobacteria. Journal of Plant Pathology and Microbiology, 7:2.
- Adams, P.B. ve Ayers, W.A., 1979. Ecology of *Sclerotinia Species*. Phytopathology, 69, 896-899.
- Aggeli, F., Ziogas, I., Gkizi, D., Fragkogeorgi, G.A. ve Tjamos, S.E., 2020. Novel biocontrol agents against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia sclerotiorum* in lettuce. BioControl 65:763-773.
- Agrios, G.N., 1997. Plant Pathology. Academic Pres, 635 p, California.
- Akın, H., 2022. Tokat İlinde Marul Yetiştiriciliği Yapılan Alanlarında *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary'un Neden Olduğu Beyaz Çürüklük Hastalığının Yaygınlığı, Tanılanması, Miselyum Uyumluluk Gruplarının Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tokat.
- Anonim, 2008. Zirai Mücadele Teknik Talimatları, Editör: Aydemir, M. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara, s.73-77.
- Anonim, 2009. Life-cycle of *Sclerotinia sclerotiorum* www.hdc.org.uk/files/C8_4.jpg (10.07.2023).
- Anonim, 2010. Lettuce Sclerotinia collar rot. https://apps.lucidcentral.org/pppw_v11/text/web_full/entities/lettuce_sclerotinia_collar_rot_129.htm, (26.07.2023).
- Anonim, 2021. World Lettuce Production. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>(20.05.2023)
- Anonim, 2022. Türkiye Bitkisel Üretim İstatistikleri ve Marul Üretim Miktarları. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2022-45504>, (20.05.2023).

- Bak, J.W., Kim, H.J., Park, J.Y., Lee, K.Y., Gang, J.H., Lee, J.W., Jung, S.J. ve Moon, B.J., 2003. Biological control of Lettuce Sclerotinia rot using *Bacillus mojanvinensis* Pro-EB 15 strain, Korean Society of Plant Pathology Autumn Conference, Korea
- Bayram, M. ve Belguzar, S., 2021. The Effects of Antagonistic Bacteria Against White Mold Disease Agent [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary] In Cucumber. *Applied Ecology and Environmental Research*, 19(2):1135-1147.
- Budge, S. P. ve Whipps, J. M., 2000. Potential for integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum* in glasshouse lettuce using *Coniothyrium minitans* and reduced fungicide application. *Phytopathology* 91:221-227.
- Chen, X., Pizzatti, C., Bonaldi, M., Saracchi, M., Erlacher, A., Kunova, A., Berg, G. ve Cortesi, P., 2016. Biological Control of Lettuce Drop and Host Plant Colonization by Rhizospheric and Endophytic Streptomycetes. *Frontiers in Microbiology* 7(714):1-12.
- Chon, B.G., Park, S. ve Kim, J.W., 2013. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* in Lettuce Using Antagonistic Bacteria. *Research in Plant Disease*, 19(1), 12-20.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Christophe, C. ve Ait Barka, E., 2005. Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(9): 4951-4959.
- Çelik, Y., 2022. Farklı Bakteri Strainleri (PGPR) Uygulamalarının Marulda (*Lactuca sativa* L.) Fide Gelişimi ve Kalitesi Üzerine Etkileri. *Dünya Sağlık ve Tabiat Bilimleri Dergisi*, 5(1).
- Dejordjevic, M.A., Gabriel, D.W. ve Rolfe, B.G., 1987. Rhizobium-the refined parasite of legumes. *Annu. Rev Phytopathology*, 25, 145-168.
- Elkafrawy, A., 2008 Biological Control of White Rot of Cucumber Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* Under Greenhouse Conditions. *Journal of Agricultural Research* 86(2):427-439.
- Eşiyok, D., 2012. Kışlık ve Yazlık Sebze Yetiştiriciliği. 404 s, Bornova, İzmir.
- Expert, J. M. ve Digat, B., 1995. Biocontrol of *Sclerotinia* wilt of sunflower by *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida* strains, *Can. J. Microbiol.*, 41:685-691.

- Ferreira, S.A. ve Boley, R.A., 2002. *Sclerotinia sclerotiorum*. (online) Available at http://www.extento.hawaii.edu/kbase/Crop/Type/s_scler.htm (06.06.2023).
- Ferreira, M.C.B., Fernandes, M.S. ve Döberner, J., 1987. Role of *Azospirillum brasilense* nitrate reductase in nitrate assimilation by wheat plants. Biol. And Ferti. Of Soils, 4: 47-53.
- Fernando, W.G. D., Ramarathnam, R. ve Krishnamoorthy, A. S., 2005. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. Soil Biol. Biochem., 37, 955–964.
- Fernando, W.G.D., Nakkeeran, S., Zhang, Y. ve Savchuk, S., 2007. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on Canola Petals. Crop Protection, 26:100-107.
- Fatouros, G., Gkizi, D., Fragkogeorgi, G.A., Paplomatas, E.J. ve Tjamos, S.E., 2018. Biological control of *Pythium*, *Rhizoctonia* and *Sclerotinia* in lettuce: association of the plant protective activity of the bacterium *Paenibacillus alvei* K165 with the induction of systemic resistance. Plant Pathology, 67:418-425.
- Haggag, M.E., Wafaa 1997. New approaches for controlling soil borne fungi infecting cucumber plant under greenhouse conditions Ph.D. Thesis, Fac. Of Agric., Ain Shams Univ., Egypt ., 168 pp.
- Helmy, K.G., 2016. Screening Potential of Some Bacterial Species and *Trichoderma harzianum* against *Sclerotinia sclerotiorum* on Cucumber. Journal of Plant Protection and Pathology, 7(12):867-872.
- Hernandez-Leon, R., Rojas-Solis, D., Contreras-Perez, M., Orozco-Mosqueda, MC., Macias-Rodriguez, L.L., Reyes-de la Cruz, H., Valencia-Cantero, E. ve Santoyo, G., 2015. Characterization of The Antifungal and Plant Growth-Promoting Effects of Diffusible and Volatile Organic Compounds Produced by *Pseudomonas fluorescens* Strains. Biological Control, 81:83-92.
- Hua, Z. F., Li, X. M., Li, Y., Li, H., Zhang, G. J., Zhang, J. H., Wang, C. B. ve Lu, Y. X., 1994. Study on Integrated Control of *Sclerotinia sclerotiorum* of Sunf- lower in Jilin Province. Acta Phytomycol Sinica, 21, 127-134.
- Hwang, J.Y., Shim, C.K., Ryu, K.Y., Choi, D.H. ve Jee, H.J., 2006. Selection of *Brevibacillus brevis* B23 and *Bacillus stearothermophilus* B42 as Biological Control Agents against *Sclerotinia* Rot of Lettuce. Organic Farmings

- Technology Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, Rural Development Administration, 12(3), 254-259.
- İmriz, G., Özdemir, F., Topal, İ., Ercan, B., Taş, N., Yakışır, E. ve Okur, O., 2014. Bitkisel Üretimde Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakteri (Pgpr)'ler Ve Etki Mekanizmaları. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR, 12(2):1-19.
- Johansson, P.M., Johnsson, L. ve Gerhardson, B., 2003. Suppression of wheat-seedling diseases caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment. Plant Pathology, 52, 219–227.
- Kamal, M.M., Lindbeck, K.D., Savocchia, S. ve Ash, G.J., 2015. Bacterial Biocontrol of Diseases Caused by Sclerotinia in Australia, Acta Horti, 1105, 123-130.
- Kang, S.M., Khan, A.L., Hamayun, M., Shinwari, Z.K., Kim, Y.H., Joo, G.J. ve Lee, I.J., 2021. *Acinetobacter calcoaceticus* Ameliorated Plant Growth and Influenced Gibberellins and Functional Biochemicals. Pakistan Journal of Botany, 44(1):365-372.
- Karagöz, K. ve Kotan, R., 2010. Bitki gelişimini teşvik eden bazı bakterilerin marulun gelişimi ve Bakteriye yaprak lekesi hastalığı üzerine etkileri. Türk. biyo. müt. derg., 1(2): 165-179.
- Khalil, Md.M.R., Fierro-Coronado, R.A., Peñuelas-Rubio, O., Villa-Lerma, A.G., Plascencia-Jatomea, R., Félix-Gastélum, R. ve Maldonado-Mendoza, I.E., 2021. Rhizospheric bacteria as potential biocontrol agents against *Fusarium* wilt and crown and root rot diseases in tomato. Saudi Journal of Biological Sciences, 28(12):460-7471.
- Kim, H.S., Kim, S.W., Adhikari, M. ve Lee, Y.S., 2021. Antagonistic Effects and Biochemical Properties of Bacteria Isolated from Soil. Journal of Agricultural, Life and Environmental Sciences, 125-135.
- Kotan, R., 2017. 6th Entomopathogens and Microbial Control Congress, 14-16 September, 2017, Gaziosmanpaşa University, Tokat, Turkey. Çağrılı bildiri.
- Lee, K.Y., Kong, H.G., Choi, K.H., Lee, S.W. ve Moon, B.J., 2011. Isolation and Identification of *Burkholderia pyrocinia* CH-67 to Control Tomato Leaf Mold and Damping-off on Crisphead Lettuce and Tomato. The Plant Pathology Journal, 27(1), 59-67.

- Lee, H.J., Kim, J.Y., Lee, J.G. ve Hong, S.S., 2014. Biological Control of Lettuce Sclerotinia Rot by *Bacillus subtilis* GG95. The Korean Journal of Mycology, 42(3), 225-230.
- Mao, W., Lewis, J. A., Hebbar, P. K. ve Lamsden R. D., 1997. Seed treatment with a fungal or bacterial antagonist for reducing corn damping-off caused by species of *Pythium* and *Fusarium* . Plant Dis., 81:450–454.
- Mari, M., Guizzardi M. ve Pratella G.C., 1996. Biological Control of gray mould in pears by antagonistic bacteria. Biological Control, 7: 30-37.
- Melzer, M. S., Smith, E. A. ve Boland, G. J., 1997. Ėndex of Plant Hosts of *Sclerotinia minor*. Can. Journal of Plant Pathol., 19, 272-280.
- Mohamed, B.F.F., Sallam, N.A.M., Alamri, S.A.M., Abo-Elyousr, K.A.M., Mostafa, Y.S. ve Hashem, M., 2020. Approving the biocontrol method of potato wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith) using *Enterobacter cloacae* PS14 and *Trichoderma asperellum* T34. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30(61):2-13.
- Monteiro, F.P., Ferreira, L.C., Pacheco, L.P. ve Souza, P.E., 2013. Antagonism of *Bacillus subtilis* Against *Sclerotinia sclerotiorum* on *Lactuca sativa*. Journal of Agricultural Science, Vol. 5, No. 4.
- Olda S., lke, G. ve Mirik, M., 2002. Domates bakteriyel leke hastalığına (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*). Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Erzurum.
- Onaran, A., 2009. Antalya ilinde Seralarda Yetiştirilen Hıyarlarda Görülen Beyaz rklk Etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary’un Yaygınlığı, Tanılanması, Miselyum Uyumluluk Grupları, Patojenitesi ve Biyolojik Kontrolü zerine Araştırmalar. (Doktora Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, s.96.
- Onaran, A. ve Yanar, Y., 2011. Screening bacterial species for antagonistic activities against the *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary causal agent of cucumber white mold disease. Afr J Biotechnol., 10, 2223-2229.
- Rahman, M. M. E., Hossain, D. M., Suzuki, K., Shiiya, A., Suzuki, K. ve Dey, T. K., 2016. Suppressive effects of *Bacillus* spp. on mycelia, apothecia and sclerotia formation of *Sclerotinia sclerotiorum* and potential as biological control of white mold on mustard. Aust. Plant Pathol. 45:103.

- Savchuk, S.C., 2002. Evaluation of Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* on Canola (*Brassica napus*) in the lab, in the greenhouse, and in the field. Dissertation, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Savchuk, S. ve Fernando, W. G. D., 2004. Effect of timing of application and population dynamics on the degree of biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* by bacterial antagonists. FEMS Microbiology Ecology, 49: 379-388.
- Selin, C, Habibiban R., Poritsanos, N., Athukorala, SNP., Fernando, D. ve Kevit, T.R., 2010. Phenazines are not Essential for *Pseudomonas chlororaphis* PA23 Biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum*, But Do Play a Role in Biofilm Formation. FEMS Microbiology Ecology, 71:73-83.
- Shakir, M.A., Bano, A. ve Arshad, M., 2012. Rhizosphere bacteria containing ACCdeaminase conferred drought tolerance in wheat grown under semiarid climate. Soil Environ, 31 (1):108-112.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, S. ve Ekici, Ö.K., 2005. Antagonistic Potentials of Rhizosphere associated Bacterial Isolated Against Soil Borne Diseases of Tomato and Pepper Caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 8(1):43-48.
- Soylu, S., 2011. Marul (*Lactuca sativa* L.) Bitkisinde Beyaz Çürüklük Hastalığına (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) Karşı Kök Bakterilerinin Kullanım Olanakları. Alatarım 2011, 10(2), 85-93.
- Soylu, S., Kara, M., Uysal, A., Kurt, Ş. ve Soylu, E.M., 2021. Determination of antagonistic potential of endophytic bacteria isolated from lettuce against lettuce white mould disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Zemdirste-Agriculture, vol. 108, No.4, 303-312.
- Tassara, C., Zaccaro, M.C., Storni, M.M., Palma, M. ve Zulpa, G., 2008. Biological Control of Lettuce White Mold with Cyanobacteria. International Journal of Agriculture and Biology, Vol.10 No.5 pp.487-492, ref.24.
- Tozlu, E. ve Demirci, E., 2011. Ayçiçeğinde *Sclerotinia sclerotiorum* ve *S. minor*'a Karşı Potansiyel Biyokontrol Organizmaların Belirlenmesi. Anadolu Tarım Bilim. Derg., 26(2), 101-106.

- Tozlu, E., Mohammadi, P., Kotan, M., S., Nadaroğlu, H. ve Kotan, R., 2016. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, the Causal Agent of White Mould Disease in Red Cabbeg by Some Bacteria. Bitki Koruma Bilimi. Vol. 52 Sayı 3, p188-198.
- Türk, M., F. ve Doğu, M., 2004. Çanakkale Örtüaltı Marul Yetiştiriciliğinde *Sclerotinia sclerotiorum*'un Yaygınlığının ve Miselyal Uyum Gruplarının Saptanması. MKU Ziraat Fakültesi Dergisi, 9 (1-2), 1-8.
- Uğurcan, S., 1997. Marulda *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı solarizasyon ve antagonist mikroorganizmaların etkisi üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana.
- Venette, J., 1998. *Sclerotinia* Spore Formation, Transport and Infection. Proceedings of *Sclerotinia* Workshop. (online) Available at www.ndsu.plantpathologydept.edu (10.07.2023).
- Yanar, Y., 1997. Pathogenesis of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary on Pepper (*Capsicum annum* L.) (Ph.D. Thesis), Ohio State Uni., 136 p.
- Yanar, Y., 2005. Tokat İklim Koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary,,un Sclerotium Canlılığı Üzerine Solarizasyonun Etkisi. GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2005, 22 (1), 15-19.
- Yıldız, M., 1970. İzmir, Manisa ve Aydın İllerinde marullara zarar yapan *Sclerotina* türleri, taksonomileri, yayılışları, zarar dereceleri ve patojeniteleri üzerine araştırmalar. E.Ü. Zira. Fak. Dergisi, seri A. (1): 223-235.
- Zhang, Y., 2004. Biocontrol of *Sclerotinia* Stem Rot of Canola by Bacterial Antagonists and Study of Biocontrol Mechanisms Involved. Dissertation, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Zhang, Y., Fernando, W.G.D., Kavitha, K., Nakkeeran, S. ve Ramarathnam, R., 2004. Combination of Mechanisms in *Pseudomonas chlororaphis* strain PA-23 Results in Control of Multiple Pathogens. Phytopathology 94:115.