



T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMASYA İLİNDE YETİŞTİRİLEN SOĞANLARDA  
GÖRÜLEN DİP ÇÜRÜKLÜĞÜ ETMENİ  
*Fusarium oxysporum f.sp. cepae*'nin  
KARAKTERİZASYONU VE BİTKİ GELİŞİMİNİ  
TEŞVİK EDEN KÖKBAKTERİLERİ İLE BİYOLOJİK  
MÜCADELESİ

İDRİS BEKTAŞ

DOKTORA TEZİ  
BİYOMÜHENDİSLİK VE BİLİMLERİ

KAHRAMANMARAŞ 2017

T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AMASYA İLİNDE YETİŞTİRİLEN SOĞANLARDA  
GÖRÜLEN DİP ÇÜRÜKLÜĞÜ ETMENİ  
*Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'nin  
KARAKTERİZASYONU VE BİTKİ GELİŞİMİNİ  
TEŞVİK EDEN KÖKBAKTERİLERİ İLE BİYOLOJİK  
MÜCADELESİ

İDRİS BEKTAŞ

Bu tez,  
Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalında  
DOKTORA  
derecesi için hazırlanmıştır.

KAHRAMANMARAŞ 2017

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi İdris BEKTAŞ tarafından hazırlanan “Amasya İlinde Yetiştirilen Soğanlarda Görülen Dip Çürüklüğü Hastalık Etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*’nin Karakterizasyonu ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kökbakterileri ile Biyolojik Mücadelesi” adlı bu tez, jürimiz tarafından 25/05/2017 tarihinde oy birliği ile Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd.Doç. Dr. Mustafa KÜSEK (DANIŞMAN)

Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof.Dr. İrfan Ersin AKINCI (ÜYE)

Bahçe Bitkileri Bölümü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof.Dr. Soner SOYLU (ÜYE)

Bitki Koruma Bölümü, Mustafa Kemal Üniversitesi

Doç.Dr. Hasan Murat AKSOY (ÜYE)

Bitki Koruma Bölümü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Yrd.Doç.Dr. Davut Soner AKGÜL (ÜYE)

Bitki Koruma Bölümü, Çukurova Üniversitesi



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mustafa ŞEKKELİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İdris BEKTAŞ



Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.  
Proje No: 2014/3-28 D

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

**AMASYA İLİNDE YETİŞTİRİLEN SOĞANLARDA GÖRÜLEN DİP  
ÇÜRÜKLÜĞÜ ETMENİ *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'nin  
KARAKTERİZASYONU VE BİTKİ GELİŞİMİNİ TEŞVİK EDEN  
KÖKBAKTERİLERİ İLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ  
(DOKTORA TEZİ)**

**İDRİS BEKTAŞ**

**ÖZET**

Soğan Dip Çürüklüğü hastalık etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (FOC)'nin sebep olduğu hastalık dünya genelindeki soğan üretim alanlarında görülen en önemli toprak kökenli hastalık olarak görülmektedir. Hastalık etmeni organizma öncelikle soğanın dip kısmına enfekte olmakta ve sonunda bitkinin ölümüne sebebiyet vermektedir. Bu çalışma, 2015-2016 yıllarında soğan gelişim zamanlarında Amasya'nın farklı bölgelerinde Soğan Dip Çürüklüğüne sebep olan FOC'nin tanımlanması ve biyolojik mücadelesi amacı ile yürütülmüştür. FOC izolatları Amasya ili Suluova, Merzifon, Gümüşhacıköy, Göynücek, Hamamözü ve Taşova ilçelerinde incelenen tarlalardaki doğal olarak enfekte olan soğan bitkilerinden izole edilmiştir.

Tüm FOC izolatları patojenite testi, ITS1 ve ITS4 primerler kullanılarak moleküler olarak tanımlanmıştır. Hastalığın biyolojik kontrolü için bölgede incelenen tarlalarda yetişen sağlıklı ve iyi gelişmiş soğan bitkilerinin kök bölgesinden 269 fosfor (P) çözücü bitki gelişimini teşvik eden kök bakterisi (PGPR) izole edilmiştir. Bu izolatların, *in vitro* koşullarda ikili kültür test yöntemi ile FOC'un misel gelişimi üzerindeki antagonistik etkileri belirlenmiştir. Test edilen bakteri izolatları arasından, sekiz izolatın ikili kültür testlerinde % 72,6 - 75,3 arasında FOC'un misel gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır. Tüm bakteriler arasından en yüksek P çözme potansiyele sahip olan on iki PGPR izolatı ve en yüksek antagonist üç izolat seçilerek *in vivo* saksı deneylerinde kullanılmıştır. Saksı denemeleri için seçilen 15 PGPR izolatı BIOLOG GEN III tanımlama sistemi ve biyokimyasal testler yöntemi ile *Enterobacter cloacae* ssp. *dissolvens* (8), *Yersinia intermedia* (1), *Pantoea agglomerans*, *Basillus subtilis* (3) olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte, test edilmiş iki bakteri izolatı tür seviyesinde tanımlanamamıştır.

Seçilen izolatların tohumla inokulasyon yapılması ile sadece FOC inokulasyonu yapılmış denemeler karşılaştırıldığında sera ve açık alan koşullarındaki saksı denemelerinde hastalık şiddetini % 11,2 - 77,8 arasında değişen oranlarda baskılandığı saptanmıştır. Sera ve tarla koşullarında kurulan saksı denemesinde patojenin yokluğunda, bu izolatların bitki büyüme parametrelerini (soğan yaprak boyu, soğan yaprak sayısı, soğan kök uzunluğu, baş soğan çapı, baş soğan kuru ve yaşı ağırlık) de farklı oranlarda arttırdığı tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** soğan, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, biyolojik mücadele, PGPR, ITS

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik ve Bilimleri Anabilim Dalı, Mayıs/ 2017

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mustafa KÜSEK

Sayfa sayısı: 166

**CHARACTERIZATION OF BASAL ROT DISEASE AGENT**  
***Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* OBSERVED GROWING ONIONS IN AMASYA**  
**AND BIOLOGICAL CONTROL BY PLANT GROWTH PROMOTING**  
**RHIZOBACTERIA**  
**(Ph.D. THESIS)**  
**İDRİS BEKTAŞ**

**ABSTRACT**

Basal rot disease of onion, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (FOC), is an important soil-borne disease of onion worldwide. The causal organism infects the basal stem plate of the onion bulb and eventually kills the entire plant through degradation of the basal plate. This study was conducted for identification and biological control of onion basal rot disease agent FOC in different districts of Amasya province during 2015-2016 growing seasons. Isolates of FOC obtained from naturally infected onion plants in surveyed fields in Suluova, Merzifon, Gümüşhacıköy, Göynücek, Hamamözü, and Taşova districts of Amasya province.

All fungal isolates of FOC was identified by pathogenicity test and molecular method by using ITS1 and ITS4 primers. For biological control of disease, 269 putative phosphorus (P) solubilising plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) isolates were obtained from rhizosphere of healthy onion plants growing in surveyed fields in the region. These isolates were further tested to determine their suppressive antagonistic effects on the mycelial growth of FOC in dual culture tests *in vitro* conditions. Among the tested bacterial isolates, eight isolates were determined to inhibit mycelial growth of FOC at the highest rates of 72,6-75,3 % in dual culture tests. Among the all bacterial, twelve PGPR isolates, having the highest P-solubilising potential and three the most effective antagonist isolates were selected to use *in vivo* pot experiments. The 15 bacterial isolates were identified as *Enterobacter cloacae* ssp. *dissolvens* (8), *Yersinia intermedia* (1), *Pantoea agglomerans*, *Bacillus subtilis* (3) by using biochemical tests and BIOLOG profiling system. Two tested bacterial isolates were however not identified in species level.

Seed treatment with selected isolates were found to suppress disease incidence in varying ratios of 9,9 - 77,8 % comparable to the only FOC experiments. In the absence of the pathogen, these isolates were also found to enhance plant growth parameter (such as lenght of onion leaf, number of onion leaf, root lenght of onion, head diameter onion, head onion dry and wet weight) in varying ratios in both pot and field experiments.

**Key words:** Onion, *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, biological control, PGPR, ITS

Kahramanmaraş Sütçü İmam University  
Graduate School of Nature and Applied Sciences  
Department of Bioengineering, May/ 2017

Supervisor: Assistant Prof. Dr. Mustafa KÜSEK

Page Numbers: 166

## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yürütülmesi sırasında göstermiş olduğu her türlü yardım, rehberlik ve değerli katkılarından dolayı başta danışmanım Yrd. Doç.Dr. Mustafa KÜSEK olmak üzere Tez Jüri üyelerim Prof.Dr. Soner SOYLU, Prof.Dr. İrfan Ersin AKINCI, Doç.Dr. Hasan Murat AKSOY, Yrd. Doç. Dr. Davut Soner AKGÜL'e istatistiksel analizler için verdiği destekten dolayı Yrd. Doç.Dr. Neslihan KARAVİN'e, fosfor analizlerinde verdiği destekten dolayı Yrd. Doç. Dr. F. Şüheyda HEPŞEN TÜRKAY'a, Referans bakteri izolatu gönderen Prof.Dr. Kemal BENLİOĞLU, bilgi ve tecrübelerini paylaşan Prof.Dr. Nuray ÖZER'e, tez çalışmam süresince bana göstermiş olduğu kolaylıktan dolayı Amasya Üniversitesi Suluova MYO okul yönetimine ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca moleküler çalışmalara destek veren arkadaşım Arş. Gör. Ferit Can YAZDIÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma ile beraber hayatımın her aşamasında bana olan inancından ve desteğinden dolayı eşim Esra'ya, yaşamımı anlamlı kılan oğlum Ahmed Zahid ve kızım Zeynep Erva'ya beni bugünlere taşıyan tüm aileme özellikle anneme minnettarlığımı bildirmek isterim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde sağladığı finansal destekten dolayı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Mayıs 2017, KAHRAMANMARAŞ

İdris BEKTAŞ

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

|                                                                                              |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZET .....                                                                                   | i   |
| ABSTRACT .....                                                                               | iii |
| TEŞEKKÜR .....                                                                               | v   |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                                         | ix  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ.....                                                                       | xiv |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....                                                          | xvi |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                | 1   |
| 1.1. Soğan Hastalıkları .....                                                                | 2   |
| 1.2. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı .....                                                     | 3   |
| 1.3. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı ile Mücadele .....                                        | 4   |
| 1.4. Bitki Hastalıkları ve Bitki Gelişimi İçin Kullanılan Biyolojik Mücadele Etmenleri ..... | 5   |
| 1.5. Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kök Bakterilerinin Etki Mekanizmaları.....                 | 9   |
| 1.6. Fosfor'un Bitkiler İçin Önemi .....                                                     | 10  |
| 1.7. Fosfor Çözen Bakterilerin Tarımda Kullanımı .....                                       | 11  |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....                                                                    | 13  |
| 2.1. PGPR Bakterilerinin Bitki Gelişimine Etkisi .....                                       | 13  |
| 2.2. PGPR Bakterilerinin Bitki Hastalıklarına Karşı Etkisi.....                              | 14  |
| 2.3. Fosfor Çözen Bakteriler.....                                                            | 17  |
| 2.4. Soğan Hastalıklarının Biyolojik Kontrolü .....                                          | 19  |
| 2.5. Soğan Dip Çürüklüğü Etmeninin Karakterizasyonu .....                                    | 22  |
| 3. MATERYAL VE METOD .....                                                                   | 24  |
| 3.1. Materyal .....                                                                          | 24  |

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.2. Metod.....                                                                                                                              | 25 |
| 3.2.1. Soğan dip çürüklüğü hastalık etmeninin izolasyonu .....                                                                               | 25 |
| 3.2.2. Soğan dip çürüklüğü etmeni izolatlarının virülensliğinin belirlenmesi.....                                                            | 26 |
| 3.2.3. <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının morfolojik tanılanması .....                                                                  | 29 |
| 3.2.4 . Soğan dip çürüklüğü etmeni izolatlardan genomik DNA izolasyonu .....                                                                 | 30 |
| 3.2.5. Soğan dip çürüklüğü hastalık etmeni izolatlarının PCR tekniği ile<br>amplifikasyonu .....                                             | 31 |
| 3.2.6. ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgelerinin sekans analizleri.....                                                                                | 33 |
| 3.2.7. Soğan dip çürüklük hastalık etmeni <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> 'in<br>biyolojik mücadelesiyle ilgili çalışmalar..... | 34 |
| 3.2.7.1. Fosfor çözücü PGPR'lerin izolasyonu.....                                                                                            | 34 |
| 3.2.7.2. PGPR'lerin fosfatı indirgeme özelliğinin hesaplanması.....                                                                          | 35 |
| 3.2.7.3. PGPR izolatlarının ön eleme testleri.....                                                                                           | 36 |
| 3.2.7.3.1. PGPR izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık testleri.....                                                                         | 37 |
| 3.2.7.3.2. PGPR izolatlarının pektolitik aktivite testler .....                                                                              | 37 |
| 3.2.7.4. PGPR izolatlarının antagonistik ve siderefor etkilerinin belirlenmesi .                                                             | 38 |
| 3.2.7.5. PGPR izolatlarının seçimi yapılan biyokimyasal testler .....                                                                        | 39 |
| 3.2.7.5.1. Levan oluşumu.....                                                                                                                | 39 |
| 3.2.7.5.2. Oksidaz testi.....                                                                                                                | 39 |
| 3.2.7.5.3. Katalaz Testi .....                                                                                                               | 40 |
| 3.2.7.6. Bakteri izolatlarının BIOLOG sisteminde tanılanması.....                                                                            | 40 |
| 3.3. <i>İn vivo</i> Saksı Çalışmaları .....                                                                                                  | 41 |
| 3.3.1. Denemede kullanılan toprağın temini, hazırlanması ve kimyasal özellikleri                                                             | 41 |
| 3.3.2. PGPR izolatlarının soğan dip çürüklüğü hastalık çıkışı ve bitki gelişimi<br>üzerine etkisi .....                                      | 43 |
| 3.3.2.1. PGPR izolatlarının soğan dip çürüklüğü hastalık çıkışı üzerine etkisi .....                                                         | 43 |
| 3.3.2.2. PGPR izolatlarının bitki gelişimi üzerine etkisi .....                                                                              | 46 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....                                                                                                                | 48 |
| 4.1. Soğan Dip Çürüklük Hastalık Etmeninin İzolasyonu .....                                                                                  | 48 |
| 4.2. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalık Etmeni İzolatlarının Virülensliğinin<br>Belirlenmesi .....                                                 | 52 |
| 4.3. <i>Fusarium oxysporum</i> İzolatlarının Morfolojik Tanılanması .....                                                                    | 55 |

|                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.4. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalık Etmeni İzolatlarının PCR Tekniği ile Moleküler Karakterizasyonu ..... | 57  |
| 4.5. <i>Fusarium oxysporum</i> İzolatlarının ITS Sekans Verilerinin Analizi .....                       | 59  |
| 4.6. <i>F.oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> 'nin Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar .....        | 64  |
| 4.6.1. Fosfor çözücü PGPR'ların izolasyonu.....                                                         | 64  |
| 4.6.2. PGPR'lerin fosfatı indirgeme özelliklerinin incelenmesi .....                                    | 66  |
| 4.6.3. PGPR izolatlarının ön eleme testleri.....                                                        | 69  |
| 4.6.3.1.PGPR izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık testleri.....                                       | 69  |
| 4.6.3.2. Pektolitik aktivite testleri .....                                                             | 70  |
| 4.6.4. PGPR izolatlarının antogonistik ve siderefor etkilerinin belirlenmesi .....                      | 70  |
| 4.6.5. PGPR izolatlarının seçimi yapılan biyokimyasal testler .....                                     | 73  |
| 4.6.5.1. Levan oluşumu.....                                                                             | 73  |
| 4.6.5.2. Oksidaz Testi .....                                                                            | 74  |
| 4.6.5.3. Katalaz Testi .....                                                                            | 74  |
| 4.7. Bakterilerin BIOLOG GEN III Sisteminde Tanılanması.....                                            | 75  |
| 4.8. <i>In vivo</i> Saksı Denemelerinde Kullanılan Toprak Özellikleri.....                              | 76  |
| 4.9. Soğan'da Dip Çürüklüğü Hastalık Çıkışı Üzerine PGPR'lerin Etkisi.....                              | 77  |
| 4.10. PGPR İzolatlarının Soğan Bitkisinin Gelişimine Etkisi .....                                       | 90  |
| 4.10.1. PGPR izolatlarının soğan yaprak uzunluğu ve yaprak sayısına etkisi.....                         | 90  |
| 4.10.2. PGPR izolatlarının baş soğan çapı ve kök uzunluğuna etkisi.....                                 | 97  |
| 4.10.3. PGPR izolatlarının baş soğan yaş ve kuru ağırlıklarına etkisi.....                              | 103 |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                                              | 111 |
| KAYNAKLAR.....                                                                                          | 113 |
| ÖZGEÇMİŞ.....                                                                                           | 132 |
| EKLER .....                                                                                             | 133 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

|             |                                                                                                                         |    |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1.  | FOC tarafından neden olunan baş soğanın dip kısmında meydana gelen çürüklük .....                                       | 4  |
| Şekil 3.1.  | FOC ile bulaşık soğan bitkilerinin tarlada görünümü.....                                                                | 24 |
| Şekil 3.2.  | Soğan Dip Çürüklüğü hastalığının baş soğan dip bölgesindeki çürüklük belirtileri .....                                  | 25 |
| Şekil 3.3.  | Hastalık şiddeti hesaplanmasında kullanılan 0-4 değerlerin soğan bitkilerindeki görünümü .....                          | 27 |
| Şekil 3.4.  | Kantartopu cinsi baş soğan kullanılarak yapılan patojenite testi; a: yara açılması, b: fungus inokülasyonu .....        | 29 |
| Şekil 3.5.  | DNA izolasyonunda kullanılan fungal miselyumların süzülerek elde edilmesi.....                                          | 31 |
| Şekil 3.6.  | NCBI veri bankasında bulunan FOC'a ait ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesini içeren rDNA gen bölgesinin dizisi .....             | 33 |
| Şekil 3.7.  | Fosfor çözen kök bakterilerinin izole edildiği soğan bitkisi kök kısmı ve toprağı.....                                  | 35 |
| Şekil 3.8.  | Katı NBRIP besi ortamında PGPR izolatlarının fosfat çözme indeksinin hesaplanmasında kullanılan yöntem .....            | 36 |
| Şekil 3.9.  | Tütünde aşırı duyarlılık testi için tütün yaprak damar arasına bakteri süspansiyonun enjekte edilmesi.....              | 37 |
| Şekil 3.10. | PGPR izolatlarının <i>in vitro</i> ortamda FOC'a karşı antagonistik özellikleri.....                                    | 38 |
| Şekil 3.11. | PGPR izolatlarının <i>in vitro</i> ortamda FOC'a karşı antagonistik değerlerini hesaplanmasında kullanılan formül ..... | 39 |
| Şekil 3.12. | Fosfor bakımından fakir olarak belirlenen toprağın saksı denemesi için araziden alınması .....                          | 42 |
| Şekil 3.13. | Fosfor bakımından fakir olan deneme toprağına % 5 oranında kaya fosfatı eklenmesi .....                                 | 42 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.14. Tohumların PGPR bakterileri ile inokulasyon yapılması .....                                                                                                                                                                                                                                                          | 44 |
| Şekil 3.15. PGPR bakteri inoküle edilmiş tohumların saksılara ekimi .....                                                                                                                                                                                                                                                        | 44 |
| Şekil 3.16. Hastalık değerlendirme skalasında kullanılan bitkilerin kök ve yaprak<br>görünümleri.....                                                                                                                                                                                                                            | 46 |
| Şekil 4.1. a) Sağlıklı ve b) Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı görülen soğan bitkilerinin<br>görünümü.....                                                                                                                                                                                                                           | 49 |
| Şekil 4.2. Soğan bitkisinde şiddetli Soğan Dip Çürüklüğü hastalığının görünümü .....                                                                                                                                                                                                                                             | 49 |
| Şekil 4.3. Baş soğanın dip kısmında Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığının görünümü .....                                                                                                                                                                                                                                              | 50 |
| Şekil 4.4. Hastalıklı soğanlardan PDA besi ortamında gelişen farklı morfolojideki<br><i>Fusarium</i> spp. izolatları .....                                                                                                                                                                                                       | 50 |
| Şekil 4.5. Hastalıklı bitki dokusundan saflaştırılan farklı <i>Fusarium</i> spp. izolatlarının<br>genel görünümü. ....                                                                                                                                                                                                           | 51 |
| Şekil 4.6. Farklı <i>Fusarium</i> spp. izolatların kantartopu soğan üzerindeki etkisi .....                                                                                                                                                                                                                                      | 54 |
| Şekil 4.7. Farklı re-izolatların kantartopu baş soğan üzerindeki etkisi; a) negatif<br>kontrol, b) İB-80, c) İB-124, d) İB-49, e) İB-150, f) İB-3, g) İB-57) .....                                                                                                                                                               | 54 |
| Şekil 4.8. FOC'un İB-57 izolatının PDA besi ortamındaki gelişimi (a: üstten,<br>b: alttan).....                                                                                                                                                                                                                                  | 55 |
| Şekil 4.9. PDA besi ortamında <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının mikroskopik<br>görüntüleri a) <i>F. oxysporum</i> makrokonidileri, b) uç kısım kanca gibi<br>makrokonidialar, c) üç bölmeli makrokonidialar d) oval eliptik<br>mikrokonidialar e) basit kısa şişkin fialitler f) inter ve terminal<br>klamidosporlar ..... | 56 |
| Şekil 4.10. <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının PCR ile çoğaltılmış DNA<br>fragmentlerinin agaroz jel görüntüsü (a,b,c) M: marker.....                                                                                                                                                                                       | 58 |
| Şekil 4.11. Fungus izolatlarının çoğaltılan ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgeleri.....                                                                                                                                                                                                                                                    | 59 |
| Şekil 4.12. Spesifik ITS Primerlerin HQ658965 accession numaralı izolatın ITS<br>(ITS1-5.8S-ITS2) rDNA gen bölgesinde amplikasyon yaptığı bölgenin<br>dizisi (kırmızı renk ile belirtilmiş olan diziler primerlerdir) .....                                                                                                      | 59 |

|                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.13. FOC İzolatların ITS sekanslarının <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i> ve farklı <i>Fusarium</i> spp. lere ait ait filogenetik akrabalığı gösteren soyağacı (Dallar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini göstermektedir) ..... | 61 |
| Şekil 4.14. Patojenite denemesinde hastalık uygulanmamış (a) ve İB-57 nolu izolatin uygulanmış(b) olduğu soğan bitkilerinin kök ve gövde görünümü.....                                                                                                  | 62 |
| Şekil 4.15. Fosfor çözücü toprakt bakterilerinin izolasyonu için toprak örneği alınan bir soğan tarlasından görünümü.....                                                                                                                               | 64 |
| Şekil 4.16. Toprakten izole edilen fosfor çözen kökbakterilerinin katı NBRIP besi ortamında gelişen kolonileri ve oluşturduğu zonları .....                                                                                                             | 65 |
| Şekil 4.17. Toprakten izole edilen izolatların fosfor çözme indeksinin hesaplanmasında katı NBRIB besi ortamında fosforu çözmesinden dolayı oluşan açık zon ve bakteri kolonisi.....                                                                    | 67 |
| Şekil 4.18. Farklı bakteri izolatlarının sıvı NBRIP ortamında fosfor çözme özelliklerine göre Barton çözeltisi eklenmesi ile meydana getirdiği renk farklılığı .....                                                                                    | 67 |
| Şekil 4.19. Tütünde aşırı duyarlılık tesinde; saf su (a), EB-20 (b) ve referans <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>phaseolicola</i> (c) izolatlarının tütün yapraklarında oluşturdukları reaksiyon .....                                              | 69 |
| Şekil 4.20. Aday bakteri izolatlarının patatest pektolitik aktivite reaksiyonları (a ve b pozitif reaksiyon), (c ve d negatif reaksiyon) .....                                                                                                          | 70 |
| Şekil 4.21. <i>In vitro</i> 'da yapılan ikili kültür testinde antagonist bir bakteri izolatının FOC'a karşı oluşturduğu engelleme zonu .....                                                                                                            | 70 |
| Şekil 4.22. <i>In vitro</i> 'da yapılan ikili kültür testinde antagonist dört bakteri izolatının FOC'a karşı oluşturduğu engelleme zonu .....                                                                                                           | 71 |
| Şekil 4.23. EB-18 nolu izolatin siderefor etkisinin belirlenmesi a) PDA besi ortamı, b) PDA + FeCl <sub>3</sub> besi ortamı.....                                                                                                                        | 72 |
| Şekil 4.24. Nutrient sakkaroz agar besi ortamında Levan testi; (a) pozitif ve (b) negatif .....                                                                                                                                                         | 74 |
| Şekil 4.25. Katalaz pozitif (+) reaksiyon veren izolatların lam üzerinde oluşturduğu kabarcıklar (a) ve saf su (b) .....                                                                                                                                | 74 |

|                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 4.26. Hastalık denemesinin kurulduğu deneme serası(a) ve araştırma parseli(b) .....                                                                                                                                           | 77 |
| Şekil 4.27. Pozitif kontrolde Banko (a), Kantartopu (b) ve Negatif kontrolde (c)<br>soğan kök gelişim .....                                                                                                                         | 79 |
| Şekil 4.28. MK-252 izolatının Banko (a) ve Kantartopu (b) soğan çeşitlerinde<br>Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığına etkisi .....                                                                                                        | 80 |
| Şekil 4.29. Pozitif kontrol uygulamasının (a) ve OB-169 izolatının (b) Kantartopu<br>çeşidinde toprak üstü kısmı görünümü .....                                                                                                     | 80 |
| Şekil 4.30. PGPR izolatlarının sera koşullarında ile meydana gelen soğan dip<br>çürüklüğü hastalık şiddetleri.....                                                                                                                  | 81 |
| Şekil 4.31. PGPR izolatlarının sera koşullarında Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı<br>üzerine % etkisi.....                                                                                                                             | 81 |
| Şekil 4.32. OB-169 bakteri izolatının Kantartopu soğan çeşidi üzerinde hastalık<br>çıkışına etkisi (a) Kantartopu kontrol, (b,c) OB-169 izolatı uygulanmış<br>Kantartopu soğan bitkisi üzerinde hastalık çıkışını engellemesi ..... | 84 |
| Şekil 4.33. PGPR izolatlarının uygulandığı soğanlarda saksı denemesinde meydana<br>gelen hastalık şiddetleri .....                                                                                                                  | 84 |
| Şekil 4.34. PGPR izolatlarının saksı denemesinde soğan bitkisinde ortaya çıkan<br>hastalık şiddetini engellemesi üzerine % etkisi .....                                                                                             | 85 |
| Şekil 4.35. PGPR izolatlarının Kantartopu soğan çeşidinde yaprak uzunluğuna olan<br>etkisi; a) Kontrol, b) EB-14 izolatı .....                                                                                                      | 92 |
| Şekil 4.36. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının Soğan çeşitlerinde bitki<br>yaprak boyuna etkisi .....                                                                                                                     | 93 |
| Şekil 4.37. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının farklı soğan çeşitlerinde<br>soğan yaprak uzunluğuna yüzde etkisi .....                                                                                                    | 94 |
| Şekil 4.38. Farklı PGPR izolatlarının soğan yaprak sayısı ve yaprak uzunluğuna olan<br>etkisi: a) OB-169 izolatı b) ISR 2000 c) ZEB-94 izolatı ve<br>d)AZB-64 izolatı.....                                                          | 95 |
| Şekil 4.39. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının farklı soğan çeşitlerinde<br>yaprak sayısına etkisi.....                                                                                                                   | 96 |

|                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Şekil 4.40. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının farklı Soğan çeşitlerinde yaprak sayılarına % etkilerinin karşılaştırılması.....      | 96  |
| Şekil 4.41. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'nin farklı soğan çeşitlerinde baş soğan çapına etkisi .....                                         | 99  |
| Şekil 4.42. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'nin farklı Soğan çeşitlerinde baş soğan çapı artışına % etkisi.....                                 | 99  |
| Şekil 4.43. Kantartopu çeşidinde baş soğan çapı; a) Negatif kontrol ve b) EB-15 izolatı .....                                                  | 100 |
| Şekil 4.44. PGPR'ların Kantartopu soğan çeşidinde kök uzunluğu üzerine etkisi; a) Negatif kontrol, b) OB-169 izolatı ve c) EB-15 izolatı ..... | 101 |
| Şekil 4.45. PGPR izolatları ve ISR 2000'nin farklı soğan çeşitlerinde kök uzunluğuna etkisi.....                                               | 102 |
| Şekil 4.46. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'nin soğan çeşitlerinde kök uzunluğuna % etkisi .....                                                | 102 |
| Şekil 4.47. Kantartopu çeşidinde baş soğan ağırlıkları; a) Negatif kontrol ve b) İB-162 izolat uygulaması .....                                | 104 |
| Şekil 4.48. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan yaş ağırlıklarına etkisi .....                               | 105 |
| Şekil 4.49. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan yaş ağırlığına % etkisi .....                                | 106 |
| Şekil 4.50. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan kuru ağırlıklarına etkisi .....                              | 107 |
| Şekil 4.51. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan kuru ağırlıklarına % etkisi.....                             | 108 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                             | <b><u>Sayfa No</u></b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Çizelge 1.1. Soğan üretim alanlarında görülen bazı hastalıklar ve simptomları.....                                                                          | 2                      |
| Çizelge 1.2. Farklı bitkilerde PGPR'lerin etkisi (Çakmakçı, 2005). ....                                                                                     | 6                      |
| Çizelge 3.1. İzolatların virülenslik hesaplanmasında kullanılan 0-4 hastalık skalası .....                                                                  | 27                     |
| Çizelge 3.2. Soğan bitkisinden izole edilen <i>Fusarium oxysporum</i> izolatlarının teşhisi için kullanılan primer çifti ve baz dizilimi.....               | 32                     |
| Çizelge 3.3. PCR işlemi için kullanılan program.....                                                                                                        | 32                     |
| Çizelge 3.4. Biolog GEN III Micro Pleytlerinin (BIOLOG 21124 Cabot Blvd. Hayward, CA 94545) her bir çukurunda bulunan karbon, azot ve stres faktörleri..... | 41                     |
| Çizelge 3.5. PGPR izolatlarının soğan dip çürüklüğüne etkisinin değerlendirme skalası (Kehr ve ark.,1962) .....                                             | 45                     |
| Çizelge 4.1. Yüksek derece virülens olan <i>Fusarium</i> spp. izolatlarının kantartopu soğan çeşidi üzerinde göstermiş olduğu hastalık şiddetleri .....     | 53                     |
| Çizelge 4.2. Bakteri izolatlarının sıvı NBRIP besi ortamında çözdükleri fosfor miktarları ve katı NBRIB besi ortamındaki fosfor çözme indeksleri .....      | 68                     |
| Çizelge 4.3. Antagonist PGPR izolatlarının FOC'a karşı <i>in vitro</i> 'da oluşturdıkları antagonistik engelleme yüzdeleri ve standart sapmaları.....       | 71                     |
| Çizelge 4.4. Saksı denemelerinde için seçilen PGPR izolatları ve özellikleri .....                                                                          | 73                     |
| Çizelge 4.5. Seçilen bakteri izolatlarının BIOLOG tanı sonuçları ve biyokimyasal özellikleri .....                                                          | 75                     |
| Çizelge 4.6. Saksı çalışmasında kullanılacak toprağı belirlemek için alınan örneklerinin fosfor miktarları.....                                             | 76                     |
| Çizelge 4.7. Toprakların fosfor içeriklerine göre sınıflandırılması (Tüzüner, 1990).....                                                                    | 76                     |
| Çizelge 4.8. Aday PGPR izolatlarının sera koşullarında farklı soğan çeşitlerinde hastalık şiddeti üzerine olan etkisi .....                                 | 78                     |

|                                                                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Çizelge 4.9. PGPR izolatlarının açık alanda kurulan saksı denemesinde hastalık şiddeti üzerine yüzde etkisi..... | 82  |
| Çizelge 4.10. PGPR izolatlarının soğan çeşitlerinde yaprak uzunluğu ve yaprak sayısına etkisi .....              | 91  |
| Çizelge 4.11. PGPR izolatlarının farklı soğan çeşitlerinde baş soğan çapı ve soğan kök uzunluğuna etkisi .....   | 97  |
| Çizelge 4.12. PGPR'lerin farklı soğan çeşitlerinde baş soğan yaş ve kuru ağırlığa etkisi.....                    | 103 |



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

|                        |                                                                   |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| <b>bp</b>              | : Baz çifti                                                       |
| <b>°C</b>              | : Santigrat derece                                                |
| <b>dak</b>             | : Dakika                                                          |
| <b>dH<sub>2</sub>O</b> | : Distile su                                                      |
| <b>DNA</b>             | : Deoksiribonükleik asit                                          |
| <b>FOC</b>             | : <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cepae</i>                    |
| <b>g</b>               | : Gram                                                            |
| <b>ISTA</b>            | : International Seed Testing Association                          |
| <b>ISR</b>             | : Induced systemic resistance                                     |
| <b>ITS</b>             | : Internal transcribed spacer                                     |
| <b>King B</b>          | : King's medium B                                                 |
| <b>mM</b>              | : Milimolar                                                       |
| <b>mm</b>              | : Milimetre                                                       |
| <b>ml</b>              | : Mililitre                                                       |
| <b>NA</b>              | : Nutrient Agar                                                   |
| <b>NB</b>              | : Nutrient Broth                                                  |
| <b>NBRIP</b>           | : National Botanical Research Institute's phosphate growth medium |
| <b>NCBI</b>            | : National Center for Biotechnology Information                   |
| <b>ng</b>              | : Nonogram                                                        |
| <b>P</b>               | : Fosfor                                                          |
| <b>PCR</b>             | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu                                     |
| <b>PDA</b>             | : Patates Dextroz Agar                                            |
| <b>PDB</b>             | : Patates Dextroz Broth                                           |
| <b>p mol</b>           | : Pikomol                                                         |
| <b>ppm</b>             | : Milyonda bir kısım                                              |
| <b>rDNA</b>            | : Ribozomal DNA                                                   |
| <b>rpm</b>             | : Rounds per minute (dakikada dönüş hızı)                         |

|             |                                     |
|-------------|-------------------------------------|
| <b>RNA</b>  | : Ribonükleik asit                  |
| <b>SAR</b>  | : Sistematik Uyarılmış Dayanıklılık |
| <b>SNA</b>  | : Sakkaroz Nutrient Agar            |
| <b>spp.</b> | : Türler                            |
| <b>TBE</b>  | : Tris Buffer Edta                  |
| <b>UV</b>   | : Ultraviyole                       |
| <b>µl</b>   | : Mikrolitre                        |
| <b>µM</b>   | : Mikromolar                        |



## 1.GİRİŞ

Amaryllidales takımında, Liliaceae familyasındaki tek çenekli bitkiler sınıfı içerisinde önemli bir yere sahip bitki olan Soğan (*Allium cepa* L.) insanlık tarihinin başlangıcından beri tüketilen keskin kokulu, yumrulu bir bitkidir. Kültüre alınmış en eski sebzelerden birisi olan soğanın anavatanı Orta Asya olup, Doğu Asya ve Orta Avrupa'ya buradan yayılmıştır. Soğan çevre koşullarına yüksek derecede adaptasyon sağlaması ve dünya üzerinde birçok ülkede yetişmesi bakımından önemli bir bitkidir (Necola, 2007). Diploid genoma sahip olan bitki üç gelişim safhası (yaprak, baş soğan oluşumu ve olgunlaşma formu) geçirmektedir (Kyofa-Boamah ve ark., 2000). Soğuğa karşı oldukça toleranslı olan soğan kısa, orta ve uzun günlerde baş soğan oluşturabilirler. Baş soğan yeşil, taze ve kuru (beyaz, mor, kırmızı) gibi farklı renklerde tüketilmektedir (Kyofa-Boamah ve ark., 2000; Necola, 2007).

Baş soğan bileşiminde uçucu ve sabit yağlar, şekerler, tuz (potasyum ve sülfür), vitaminler (A, B1, B2, C, E, K), mineraller ve aminoasitler bulundurmaktadır. Antiseptik ve antibiyotik özellik göstermesi ve pişirildiğinde vitamin kaybının az olması nedeni ile dünyada ve ülkemizde en fazla tüketilen sebzelerin başında gelmektedir (Günay, 1992). Yapılan araştırmalarda soğan bitkisinin gösterdiği antibiyotik ve antiseptik özelliğin muhtemelen yapısında bulunan kükürten olduğu düşünülmektedir. Geleneksel tıpta da önemli rol oynayan soğan bitkisi soğuk algınlığı, grip, kızamık, romatizma, idrar söktürücü, kan şekerini düşürücü ve kalp hastalıklarından korunma amacı için kullanılmaktadır (Schwartz and Mohan, 1995). Ayrıca taze olarak tüketildiğinde kanı kuvvetlendirerek insana zindelik kazandırdığı, sindirim açısından iyi bir barsak dezenfektanı olduğu bildirilmektedir (Bayraktar, 1981).

Dünya genelinde 2015 verilerine göre üretilen 83 milyon 357 bin ton kuru baş soğandan, 20 milyon 897 bin 638 ton üretim miktarı ile Çin birinci olurken, Türkiye 2 milyon 120 bin 581 ton üretimi ile dünya sıralamasında beşinci sırada bulunmaktadır (FAO, 2017). TÜİK verilerine göre, 2016 yılında kuru baş soğan üretimi yapılan önemli iller değerlendirildiğinde 460,012 ton ile Ankara birinci olup, bu ili sırası ile 293,551 ton ile Amasya, 229,931 ton ile Hatay, 219,904 ton ile Adana, 174,919 ton ile Çorum, 156,105 ton ile Eskişehir, 133,571 ton ile Tokat, 8,414 bin ton ile Bursa illerimiz izlemektedir (TÜİK, 2017).

## 1.1. Soğan Hastalıkları

Dünya genelinde soğan üretim alanlarında bulunan bir çok zararlı ve hastalık etmeni önemli derecede ürün kayıplarına neden olmaktadır (Walker ve ark., 2009). Soğanda önemli hastalık etmenleri ve belirtileri Çizelge 1.1’de verilmiştir. Bu hastalıklardan Pembe kök hastalığı (*Pyrenochaeta terrestris*), *Fusarium* dip çürüklüğü (*Fusarium oxysporium* f.sp. *cepae*), Mildiyö hastalığı (*Peronospora destructor*), Soğan sürmesi hastalığı (*Urocystis cepulae*), siyah çürüklük (*Aspergillus* spp.), yumru ve boyun çürüklüğü (*Botrytis* spp.) hastalıkları önem arz etmektedir (Corgan, 2002; Khatun ve Ashrafuzzaman, 2008; Walker ve ark., 2009;).

Çizelge 1.1. Soğan üretim alanlarında görülen bazı hastalıklar ve belirtileri

| Hastalık                 | Etmen Grubu | Etmen                                         | Görülen Belirtiler                                                                          |
|--------------------------|-------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dip Çürüklüğü            | Fungus      | <i>Fusarium oxysporium</i> f.sp. <i>cepae</i> | Kök çürüklüğü, soğan çürüklüğü, yapraklarda sararma ve bitki ölümü                          |
| Pembe Kök                | Fungus      | <i>Pyrenochaeta terrestris</i>                | Köklerin pembe-mor arasında renk alması ve yumruda gelişim geriliği                         |
| Boyun ve Gövde Çürüklüğü | Fungus      | <i>Botrytis</i> spp.                          | Gövdede gri renkte lezyonlar, boyun bölgesinde sulanma ve kurşuni renk alması, bitki ölümü  |
| Siyah Çürüklük           | Fungus      | <i>Aspergillus niger</i>                      | Yumruda üst dokunun sağlam görünüp doku altlarında siyah sporların görünmesi                |
| Mor Leke                 | Fungus      | <i>Alternaria</i> spp.                        | Yapraklarda pembe mor lekeler                                                               |
| Külleme                  | Fungus      | <i>Leveillula taurica</i>                     | Yapraklarda soluk sarı renkte lezyonlar                                                     |
| Mildiyö                  | Fungus      | <i>Peronospora destructor</i>                 | Yapraklarda klorotik çukurlaşma, gövde boyun kısmında buruşma ve süngerleşme                |
| Yumuşak Çürüklük         | Bakteri     | <i>Pectobacterium carotovorum</i>             | Dokularda şeffaflaşma, sulanma, açık soluk kahverengi lekeler ile beraber kötü koku oluşumu |
| Gövde Çürüklük           | Bakteri     | <i>Burkholderia cepacia</i>                   | Soğan üst kısmında küçülme ve iç kısmında sümüksü sararmış doku                             |

|                     |         |                              |                                                                                  |
|---------------------|---------|------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| Soğan İç Yumuşaması | Bakteri | <i>Burkholderia gladioli</i> | Soğan dip kısmı dışarıya doğru şişkinleşme ve soğan iç kısmında kahverengileşme  |
| Kök Ur Nematodu     | Nematod | <i>Meloidogyne incognita</i> | Soğanda ve kökte gelişim geriliği, urlu kökler, sararmış yapraklar               |
| Soğan Sak           | Nematod | <i>Ditylenchus dipsaci</i>   | Yapraklarda merdivensi şekil bozukluğu ve yumruda düzensiz şişkinlikler          |
| Yaprakta Sarı Nokta | Virüs   | Tospovirüs ssp.              | Yapraklarda halka şeklinde iç içe sararmalar, soğanda gelişim geriliği           |
| Yaprakta Sarı Nokta | Fungus  | <i>Sclerotium cepivorum</i>  | Alt yapraklardan itibaren sararma, yumrular beyaz fungal örtü                    |
| Soğan Sürmesi       | Fungus  | <i>Urocystis cepulae</i>     | Bitkinin yaprak ve yumrusunda koyu kahverengi çizgiler, yaprak kısmında kıvrılma |

## 1.2. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı

Soğan üretim alanlarında toprak, tohum ve hava kökenli çok sayıda fungal etmenlerin neden olduğu hastalıklar üretimde önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu fungal etmenler arasında Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (FOC) etmeni önemli bir yer tutmaktadır. Hastalık etmeni tohum ve toprakla taşınabilmektedir. Hastalık etmeni ile bulaşık tohumlar kullanıldığında, fungus tohumlardan toprağa geçiş yaparak toprakta canlılığını devam ettirebilmekte daha sonra da tekrar bitkiyi enfekte edebilmektedir (Kodama, 1983; Abd-El Razık ve ark. 1990; Boff ve ark., 1995; Köycü ve Özer, 1997; El-Zawahry ve ark., 2000).

Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı genellikle fide döneminde etkisini gösterirken tarlada ve depo koşullarında belirtilerini devam ettirmektedir. Çin, Türkiye, İtalya, Japonya, Güney Afrika ve ABD başta olmak üzere soğan üretimi yapılan hemen hemen her ülkede görülen hastalık % 60 - % 80'lere kadar verim kayıplarına neden olmaktadır (Havey, 1995; Özer ve Köycü, 2004).

Çimlenme sonrası genç fidelerin ölümüne sebebiyet veren fungus, baş soğan oluşturmuş gelişmiş bitkilerde kök kısmında çürüklük oluşturmakta ve baş soğanların dip kısmının çürümesine neden olmaktadır (Naik ve Burden, 1981; Kodama, 1983, Srivastava ve Qadri, 1984; Özer ve Köycü, 1997) (Şekil 1.1). Soğanlarda hastalık belirtisi olarak köklerin bulunduğu bölge ve kökler kahverengi bir renk almakta, bu nedenle hastalığa dip çürüklüğü adı verilmektedir (Cramer, 2000). Patojen bazen olgun soğanda latent enfeksiyona neden olabilmekte, bu durumda baş soğan ağırlığında azalma meydana gelmektedir (Abawi ve Lorbeer, 1972). Ayrıca hastalık etmeni ile bulaşık bitki diğer hastalıklara ve iklim koşullarındaki değişikliklere daha hassas hale gelmektedir (Fantino ve Shiavi, 1987; Stadnik ve Dehingra, 1995).



Şekil 1.1. FOC tarafından neden olunan baş soğanın dip kısmında meydana gelen çürüklük

### 1.3. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı ile Mücadele

Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı ile mücadelede ekim nöbeti, dayanıklı çeşit kullanımı, biyolojik ve kimyasal mücadele yöntemleri ile yapılmaktadır. Hastalığa karşı dayanıklı çeşit ve hatlar bulunmakla birlikte hastalığa karşı uzun süren bir koruma sağlanamamaktadır (Özer ve ark., 2003). Kimyasal mücadele yönteminde ise tohum ya da tarla toprağına fungusit uygulanması hastalığın şiddetini azaltmaktadır. Fakat kullanılan bu

kimyasallar insan ve çevre sağığı üzerine olumsuz etkiler meydana getirmektedir. Özellikle bitki patojenlerinin kimyasallara karşı dayanıklılık oluşturmaları kimyasal mücadeleye alternatif yeni mücadele yöntemlerinin araştırılmasına sebep olmuştur (Gupta ve ark., 1987; Roberti ve ark., 1989; Abd-El Razik ve ark., 1990; Özer ve Köycü, 1998).

Yapılan alternatif çalışmalardan fungal antagonistlerden olan bazı *Trichoderma* spp.'nin, bakteriyel antagonistlerden ise *Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus subtilis* 'in *in vitro* koşullarda patojenin miselyal gelişimini engellediğı bildirilmektedir (Abouzaid ve ark., 1993; Rajendran ve Ranganathan, 1996). Bununla birlikte *T. viride* ve *P. fluorescens* 'in birlikte kullanılması ile saksı ve tarla koşullarında da hastalık çıkışının azaltıldığı bildirilmiştir (Rajendran ve Ranganathan, 1996).

#### 1.4. Bitki Hastalıkları ve Bitki Gelişimi İçin Kullanılan Biyolojik Mücadele Etmenleri

Bitkilerde hastalık oluşturan pek çok bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmenine karşı PGPR olarak adlandırılan bitki gelişimini teşvik eden kök bakterileri (PGPR) bitkilerde bulunan doğal dayanıklılığı uyarmak suretiyle hastalıklara karşı bitkilerde dayanıklılığı teşvik ettiği belirlenmiştir. PGPR'ler diğer yönü ile bitki gelişimini arttırıcı özelliklerinden dolayı günümüzde tarımsal üretimde biyolojik gübre olarak tercih edilmektedir (Backman ve ark., 1997; Weller, 1988; Wei ve ark., 1996). PGPR'ler çoğunlukla *Azospirillum*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Aereobacter*, *Enterobacter*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Erwinia*, *Micrococcus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* ve *Serratia* cinsleri içerisinde yer almakta olup genellikle bitkinin kök bölgesine yerleşerek toprak kökenli patojenlerin gelişimini sınırlamaktadırlar.

PGPR'ler üzerine yapılan çalışmalarda bakterilerin bitki gelişimini teşvik ettiği laboratuvar ve tarla denemeleri ile ortaya konulmuştur (Montesinos, 2002; Çakmakçı, 2005). PGPR'ler özellikle sağılıklı bitkiye uygulama yapıldığında sistemik dayanıklılığı harekete geçirerek kimyasal uygulamalardan, özelliklede bakırlı bileşik uygulamalarından daha etkin sonuçlar vermektedir (Kuc, 2001). PGPR bakterilerinden *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens* kanola, marul ve domatese uygulandığında kök ve gövde boyunu artırmıştır (Hall ve ark.,1996; Glick ve ark., 1997). Benzer şekilde *Pseudomonas* spp. uygulaması şeker pancarında kök ve şeker verimini artırmıştır (Çakmakçı ve ark., 2001).

Antagonistik *Bacillus* sp. MSU-127 izolat inokulasyonu şeker pancarında önemli zarar yapan *Rhizoctonia solani* fungusunun neden olduğu kök çürüklüğü hastalığını önemli oranda azaltmıştır (Kiewnik ve ark., 2001). *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici* ve *Pythium aphanidermatum* gibi hastalık etmenlerinin, antagonistik etmenler *B. subtilis*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma kningii*, *Penicillium citrinum* ve *Penicillium oxalicum* izolatları tarafından kontrol altına alınabildiği ifade edilmiştir (Saber, 2001; Kotan, 2002). PGPR uygulamalarında kullanılan bakteriler ve alınan bazı sonuçlar Çizelge 1.2’de verilmiştir (Çakmakçı, 2005).

Çizelge 1.2. Farklı bitkilerde PGPR’lerin etkisi (Çakmakçı, 2005).

| Bakteri                                                                            | Bitki                                     | Ortam          | Etki                                                                                                                   | Referans                      |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <i>Azospirillum brasilense</i><br><i>Azospirillum</i> spp.                         | Sorgum<br>Sorgum                          | S<br>T         | Kurumadde, yaprak alanı, kök sayısı ve uzunluğunda % 33 - 40, % 25 - 40 hidrolik geçirgenlik, % 12 - 18,5 verim artışı | Sarig ark., 1992              |
| <i>A. brasilense</i>                                                               | Fasulye                                   | BBK            | Kök ve gövde ağırlığı artışı                                                                                           | Vedder-Weiss ark., 1999       |
| <i>A. brasilense</i><br><i>A. brasilense</i> Cd<br><i>A. brasilense</i> Cd 245     | Sorgum,<br>buğday, arpa,<br>mısır, yulaf, | T<br>T<br>S, T | % 25 oranında verim, kök sayısı, kök ve gövde ağırlık artışı                                                           | Dobbelaere ve ark., 2001      |
| <i>A. brasilense</i> Cd<br><i>A. lipoferum</i> Br-17<br><i>A. brasilense</i> Sp111 | Mısır<br>Buğday<br>Mısır                  | T<br>T<br>T    | % 35 - 40 oranında mineral gübreyi karşılama, verim artışı                                                             | Okon ve L-Gonzalez, 1994      |
| <i>A. brasilense</i> Cd                                                            | Sorgum                                    | T              | % 11 - 24 oranlarında verim artışı                                                                                     | Smit ark., 1984               |
| <i>A. brasilense</i> Cd                                                            | Nohut, bakla                              | S, T           | Kök, gövde, verim artışı                                                                                               | Hamaoui ark., 2001            |
| <i>A. brasilense</i> Cd<br><i>A. lipoferum</i> Az-30                               | Darı                                      | T              | % 21 - 30 verim artışı                                                                                                 | Di Ciocco ve R. Caceres, 1994 |
| <i>A. brasilense</i> Cd                                                            | Buğday                                    | T              | Verim artışı                                                                                                           | Caceres ark., 1996            |
| <i>A. brasilense</i> NO40                                                          | Pirinç                                    | T              | % 15 - 20 verim artışı                                                                                                 | Omar ark., 1989               |
| <i>A. lipoferum</i><br><i>X. maltophla</i>                                         | Ayçiçeği<br>Ayçiçeği                      | S<br>L,S       | Gelişme ve çimlenme teşviki                                                                                            | Fages ve Arsac, 1991          |
| <i>A. lipoferum</i> CRTI                                                           | Mısır                                     | T              | N oranı artış, kök gelişimi                                                                                            | Jacoud ve ark., 1998          |
| <i>Azospirillum</i> spp.                                                           | Buğday                                    | T              | % 15,8 - 31 verim artışı                                                                                               | Baldani ve ark., 1987         |

|                                                                                            |                               |             |                                                                                          |                               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| <i>Azospirillum</i> spp.                                                                   | Darı<br>Hardal<br>Çeltik      | T<br>T<br>T | % 12,1 - 31,7 verim değişim,<br>% 16 - 12,8 verim artışı<br>% 4,9 - 15,5 verim artışı    | Kloepper ve ark.,<br>1989     |
| <i>Azospirillum</i> spp.                                                                   | Mısır                         | T           | % 11 - 14 verim artışı                                                                   | Fallik ve Okon,<br>1996       |
| <i>Azospirillum</i> spp.                                                                   | Mısır                         | T           | Kuru madde ve Mg mineral artışı                                                          | Hernandez ve ark.,1997        |
| <i>Azospirillum</i> spp.                                                                   | Mısır                         | S           | Glutamat sentez ve dehidrojenaz aktivite, kök ve yaprak N element artışı                 | Ribaudo ve ark.,<br>2001      |
| <i>Azospirillum</i> spp.                                                                   | Buğday                        | S           | Biomass, dane, protein ve N element artışı                                               | Saubidet ve ark.,<br>2002     |
| <i>Azotobacter</i> spp.<br><i>Enterobacter</i> spp.<br><i>Xanthobacter</i> spp             | Çeltik                        | T           | Kuru madde, dane, klorofil oranı ve N oranında % 6 - 24 artış                            | Alam ve ark., 201             |
| <i>B. amyliquefaciens</i><br><i>B. pumilis</i> ,<br><i>B. subtilis</i><br><i>B. cereus</i> | Domates,<br>Biber             | T           | Bitki gelişmesi, yaprak alanı, kök-gövde ağırlığı, meyve verimi artışı, nematot azalması | Kokalis-Burelle ve ark., 2002 |
| <i>B. polymyxa</i><br><i>B. megaterium</i>                                                 | Şeker pancarı,<br>arpa        | S, T        | % 7,5 - 16,5 şeker pancarı kök, % 8,4 - 18,2 arpa dane verim artışı                      | Çakmakçı ve ark.,<br>1999     |
| <i>B. polymyxa</i> ,<br><i>Pseudomonas</i> spp.                                            | Şeker pancarı                 | T           | % 6,1 - 13,0 kök, % 7,8 şeker verim artışı                                               | Çakmakçı ve ark.,<br>2001     |
| <i>Bacillus</i> spp.                                                                       | Sorgum                        | T           | % 15,3 - 33 verim artışı                                                                 | Broadbent ve ark.,<br>1977    |
| <i>B. subtilis</i> A-13                                                                    | Yerfıstığı                    | T           | % 37 verim, su, besin sıcaklık stresi ile rispons artışı                                 | Turner ve Backman, 1991       |
| <i>B. subtilis</i> B2                                                                      | Soğan                         | BBK         | % 12 - 94 gövde, % 13 - 100 kuru ağırlık artışı                                          | Reddy ve Rahe,<br>1989        |
| <i>Beijerinckia mobilis</i><br><i>Clostridium</i> spp                                      | Pancar, Arpa,<br>Buğday, turp | L, S        | Çimlenme, uzunluk ve ağırlık artışı                                                      | Polyanskaya ve ark., 2000     |
| <i>Burk. vietnamiensis</i>                                                                 | Çeltik                        | T, S        | % 33 gövde uzunluğu, % 53 kök ağırlık, % 13 - 22 dane verimi artışı                      | Tran Van ve ark.,<br>2000     |
| <i>Bacillus</i> spp.                                                                       | Şekerpancarı,<br>arpa         | T           | İkili aşılama pancar % 11,9 - 12,4, arpa % 7,4 - 9,3 verim artışı                        | Şahin ve ark.,<br>2004        |
| <i>E. cloacea</i> CAL3                                                                     | Domates,<br>biber             | S           | Fide gelişimini teşvik                                                                   | Mayak ve ark.,<br>2001        |

|                                                                               |                               |           |                                                                                                            |                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| <i>P. cepacia</i> R85,<br><i>P. fluorescens</i> R104<br><i>P. putida</i> R111 | Kışlık buğday                 | BBK,<br>T | % 46 -7 5 dane verim artışı                                                                                | De Freitas ve<br>Germida,<br>1992a,b    |
| <i>P. chlororaphis</i>                                                        | Yazlık buğday                 | T, L.     | % 6 - 8 çimlenme artışı, <i>Fusarium culmorum</i> biyolojik kontrolü                                       | Kropp ve ark.,<br>1996                  |
| <i>P. corrugata</i><br><i>A. chroococcum</i>                                  | Horozibiği,<br>ragi           | S         | Bitki gelişimi ve N artışı                                                                                 | Pandey ve ark.,<br>1999                 |
| <i>P. fluorescens</i>                                                         | Domates                       | S         | % 5,6 - 9,4 verim artışı                                                                                   | Gagne ve ark.,<br>1993                  |
| <i>P. fluorescens</i><br><i>P. corrugate</i><br><i>S. plymthica</i>           | Hıyar                         | T         | % 12 meyve sayısı, % 18 meyve ağırlık artışı, <i>Pythium</i> ile enfekte edilen toprakta % 18 verim artışı | McCullaugh ve<br>ark., 1996             |
| <i>P. fluorescens</i> ,<br><i>B. pumilus</i>                                  | Yaban<br>yasemini             | S         | Yaprak alanı ve gövde çapı artışı                                                                          | De Silva ve ark.,<br>2000               |
| <i>P. putida</i> ,<br><i>B. subtilis</i><br><i>B. cereus</i> ,                | Hıyar                         | BBK,<br>S | <i>B.subtilis</i> ile Kök uzunluğu, % 29 bitki ağırlığı % 14 meyve verimi % 50 meyve sayısı artışı         | Uthede ve ark.,<br>1999                 |
| <i>P. putida</i> GR12-2                                                       | Kanola, arpa<br>buğday,marul, | BBK       | Dikotiledon ve bitki kök gelişimi artışı                                                                   | Hall ve ark., 1996                      |
| <i>Pseudomonas</i> spp.<br><i>Varioovox</i> spp.                              | Kanola                        | BBK       | % 11 - 52 kök kuru ağırlık artışı                                                                          | Bertrand ve ark.,<br>2001               |
| <i>Pseudomonas</i> spp.                                                       | Patates                       | S, T      | Serada bitki ağırlığı, tarlada yumru ağırlığında artış                                                     | Frommel ve ark.,<br>1993                |
| <i>Pseudomonas</i> spp.                                                       | Şeker pancarı                 | S, T      | Sera fide ağırlığı, tarlada verim artışı, hastalıklara karşı antagonizm                                    | Suslow ve<br>Schroth, 1982              |
| <i>Pseudomonas</i> spp.                                                       | Patates, Pirinç               | T         | % 14 - 33 verim artışı                                                                                     | Kloepper ve ark,<br>1989                |
| <i>Pseudomonas</i> spp                                                        | Mısır, arpa,<br>buğday        | T         | % 15 - 25 verim artışı                                                                                     | Iswandi ve ark.,<br>1987                |
| <i>P. syringae</i> pv.                                                        | Fasulye                       | S         | Protein artışı, patojen kontrolü                                                                           | Alstrom, 1995                           |
| <i>Pseudomonas</i> W34<br><i>B. cereus</i> S18                                | Marul,<br>domates             | S         | Fide biomass artışı, % 9 verim artışı                                                                      | Hoffmann-<br>Hergarten ve ark.,<br>1998 |
| <i>Bacillus</i> spp.,<br><i>Pseudomonas</i> spp.                              | Mısır                         | S         | % 8-14 verim artışı                                                                                        | Lalande ve ark.,<br>1989                |

A.: *Azospirillum*, B.: *Bacillus*, Burk.: *Burkholderia*, P.: *Pseudomonas*, S.: *Serratia*, , X.: *Xanthomonas*; T: Tarla, S: Sera, BBK: Bitki büyütme kabini, L: Laboratuvar

### 1.5. Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kök Bakterilerinin Etki Mekanizmaları

Bitki gelişimini teşvik eden kök bakterileri bitkinin kök ve yakın bölgesindeki topraklarda bulunurlar. Bu mikroorganizmalar sürdürülebilir tarım için potansiyel araçlardır. Bitkilerde kök gelişimini arttırmakta ve bitki patojenlerini kontrol altında tutmaktadırlar. Günümüzde bu bakteriler ile ilgili önemli çalışmalar yapılmaktadır. PGPR olarak adlandırılan bu bakteriler ile bitki hastalıklarının biyokontrolü, bitki gelişimini teşvik etmedeki rolleri, biyogübreleme ve bitki hormonlarının üretimi gibi konular bu çalışmalar arasına girmektedir (Antoun ve Prevost, 2006; Sülü ve ark., 2016).

PGPR 'ler bitki büyümesini teşvik ederek bitki gelişimi ve kalitesinde yaptıkları etki doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki grupta açıklanmaktadır. Doğrudan etki mekanizması, biyolojik azot fiksasyonu, sitokininler, gibberalinler, oksinler gibi bitkisel hormonların üretilmesi, ACC deaminaz enzim aktivitesi yoluyla etilen sentezinin engellenmesi, çevresel strese karşı direnç, bakteri-bitki ilişkisinde uyum, inorganik fosforun çözünürlüğünün arttırılması ve organik fosfor bileşiklerinin mineralizasyonu, siderefor üretim yoluyla demir alınının arttırılması ve diğer bazı iz elementlerin oranında artış sağlama, vitamin sentezi, kök geçirgenliğini artırma etkilerini içermektedir. PGPR'ler antibiyotik üreterek hastalık etmeni üzerine etki edebilmekte ve bundan dolayı antagonist biyokontrol etmeni olarak kullanılabilmektedir (Çakmakçı, 2006).

PGPR arasında yer alan Floresan *Pseudomonas*'lar toprak kökenli hastalıkların engellenmesinde en etkili bakteriler arasında yer almaktadır (Van Loon ve ark., 1998). Bu bakteriler siderefor üretimi özellikleri ile patojen mikroorganizmaların topraktaki demiri kullanmalarını engelleyerek ya da antibiyotik üreterek bitkileri patojen saldırılarına karşı korumaktadırlar. Ayrıca sistemik dayanıklılığı teşvik edebilme yeteneğine de sahiptirler (Pieterse ve ark., 2000). Sistemik dayanıklılığı (ISR) ve uyarılmış dayanıklılığı (SAR) teşvik eden bakterilerin bitkilerde hastalık gelişimini azalttığı bildirilmiştir. Her iki dayanıklılık da bitkileri birden fazla bitki patojeninin saldırılarına karşı dayanıklı kılmaktadır. Bazı bakteriler kök yüzeyinde salisik asit üretimi ile ISR oluşumunu tetiklerken, bazıları ise salisilik aside gereksinim duymadan ISR oluşumunu başlatabilmektedirler. PGPR bakterileri antifungal maddeler, siderofor ve antibiyotik sentezi dışında patojen gelişmesini engelleyici diğer bazı mekanizmalara daha sahip olduğu bilinmektedir. *Pseudomonas* benzeri bazı bakterilerin HCN (hidrojen siyanit) sentezlemeleri ve bu yolla fungus gelişimini

engellemektedir. *Cladosporium werneckii*, *P. cepacia* gibi bakteri türleri *Fusarium* enfeksiyonunda bitkiye zarar veren fusarik asit bileşiklerini hidrolize ederek, farklı fungusların neden olduğu bitki hastalıklarını önleyebilmektedir. *P. cepacia* da olduğu gibi, bazı bakteriler fungusların miselleri üzerinde gelişebilmektedir. Bu bakteriler *Rhizoctonia*, *Sclerotium* ve *Pythium* gibi patojenlerin üzerinde gelişerek hastalık şiddetini azaltmaktadır. PGPR bakterilerinin başka bir etki mekanizmasında ise bakteriler kök yüzeyinde besin elementleri bakımından rekabete girerek bitkileri patojenlerden korumaktadır. Bitki ve tohumların PGPR ile aşılınması uzun dönemde hastalıklara neden olan funguslara karşı geniş etkili bir sistemik dayanıklılığa neden olmaktadır. İnokule edilen *Pseudomonas* benzeri bakterilerle hedef doğal mikroflora arasındaki antibiyosis ve rekabete dayalı antagonistik interaksiyon ortaya çıkmaktadır (Çakmakçı, 2005). PGPR'ler aynı zamanda tohum çimlenmesi, kök gelişimini sağlayarak bitkinin su ve besin maddesi alınımını arttırarak çok önemli katkılar sağlamaktadır. Bu bakteriler faydalı mikroorganizmalar lehine rizosferde mikrobiyal dengeyi değiştirerek mineral madde oranını düzenlemekte bunun sonucunda bakteriyel, fungal ve nematod hastalıklarını geniş ölçüde baskılamakta, ayrıca viral hastalıklara karşı koruma sağlamaktadırlar (Siddiqui, 2006). PGPR'nin verim artışı, yaprak alanı, klorofil içeriği, Mg, N içeriği, protein, hidrolik aktivite, kurağa dayanım, sürgün ve kök ağırlıkları ve yaprakta absisyon tabakasının oluşumunun gecikmesi suretiyle bitki büyümesine fayda sağladığı belirlenmiştir(Lucy ve ark., 2004).

İnorganik veya organik fosfat çözebilen PGPR bakterileri toprağa veya bitki tohumlarına inokülasyonu ile bitki büyümesinin teşvik edildiği yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Kucey ve ark., 1989). Ayrıca bu mikroorganizmaların fosfat çözücü rollerinin yanı sıra, oluşturdıkları bitki hormonları, antibiyotikler, sideroforlar gibi faydalı metabolitler ile de bitki hastalıkları ile mücadelede spesifik bir rol oynadıkları belirlenmiştir (Kloepper ve ark., 1989).

## **1.6. Fosfor'un Bitkiler İçin Önemi**

Fosfor, bitki büyüme ve gelişmesi için gerekli olan en önemli makro elementlerden birisidir (Reddy ve ark., 2002). Hücre zarının yapıtaşı olan fosfolipit tabakasının en önemli bileşeni olan fosfor, hücredeki en önemli makromoleküller olan DNA ve RNA'nın da temel yapı taşıdır. Ayrıca canlıların kullandıkları enerji çeşidi olan ATP molekülünde de birbirlerine yüksek enerji bağlarıyla bağlanan üç adet fosfat grubu bulunur. Hayatın devamı için temel

fizyolojik olaylar olan fotosentez ve solunum reaksiyonlarında önemli rol oynayan NAD ve FAD koenzimlerinde de fosfor önemli bir yapı taşıdır. Fosfor kök gelişimini arttırarak nodüllerin fazla sayıda oluşmasına neden olmakta, dolayısıyla azot fiksasyonunu arttırmaktadır. Bitki olgunlaşması, erken tohum teşekkülü, dölleme ve hastalık ve zararlılara karşı direnci arttırdığından büyük önem arz eden bir besin elementidir (Kadioğlu, 1998). Bitkide fosfor eksikliği sadece verimi azaltmakla kalmaz tanelerin protein içeriklerinin düşmesine neden olur. Önemli amino asitlerden olan lysin, isoleucine, tryptophane ve methionin miktarına fosforun oldukça olumlu etkisi vardır (Sepetoğlu, 1996).

### 1.7. Fosfor Çözen Bakterilerin Tarımda Kullanımı

Fosfor Dünyamızda doğal olarak fosfat kayaları ve apatit şeklinde mineral formlarda bulunmaktadır ve bunların en önemli özelliği de çözünemez durumda olmalarıdır. Bitkiler ise ihtiyaç duydukları fosforu topraktan  $\text{HPO}_4^{2-}$  veya  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  formunda alabilir (Rodriguez ve Fraga 1999). Tarım yapılan alanlarda kullanılan normal çözünebilir formda fosfor içeren gübreler bitki için diğer bir fosfor kaynağıdır. Bu gübrelerdeki çözünebilir formdaki inorganik fosfatın büyük bir kısmı uygulamadan kısa bir süre sonra toprakta tutunarak çözünemez forma geçer. Toprak pH'sının önemli rol oynadığı bu olaya fosfor fiksasyonu denilmektedir. Kireçli ve pH'sı yüksek topraklarda fosfor kalsiyum tarafından tutulurken, asitli topraklarda ise demir ve alüminyum tarafından tutularak çözünemez forma dönüşmektedir. Bitki için topraktaki üçüncü fosfor kaynağı ise organik fosfattır. Toprakların pek çoğunda toplam fosforun % 30-50'si organik fosfat kaynaklıdır. Ancak bunlar yüksek molekül ağırlıklı bileşikler (nukleik asitler, fosfolipitler, fosfodiesterler) şeklinde bulunmaktadır. Bu nedenle de alınabilmesi için çözünebilir iyonik fosfatlara ( $\text{Pi}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  veya  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) veya düşük molekül ağırlıklı fosfor bileşiklerine dönüşmesi gerekmektedir (Paul ve Clark, 1996).

Toprakta çözünemez durumunda bulunan organik fosfatı çözen bitki köklerinde simbiyotik olarak yaşayan kök fungusları (mikorhiza) ve pek çok bakteriler başta olmak üzere birçok mikroorganizmanın metabolik işlevleri sonucu çözünebilir hale getirebilmektedir. Özellikle *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium* ve *Burkholderia* cinsine bağlı olan bu bakterilerin ürettikleri organik asitler yardımı ile inorganik fosfatı, fosfataz enzimleri yardımıyla organik fosfatı çözünebilir hale getirebilme yeteneğinde oldukları bilinmektedir (Rodriguez ve Fraga, 1999). Son yıllarda yapılan çalışmalar ile bu bakterilerin büyük bir kısmının bitkinin kök ve yakın çevresinde (rizosfer) bulunduğu, aynı zamanda indol

asetik asik ve antibiyotik gibi metabolitler ürettiğine ve bu nedenle de bitki gelişimini teşvik etmesinin yanı sıra bitki hastalıklarına karşı da biyokontrol etmeni olarak kullanılabileceğine dikkat çekmektedir (Vassilev ve ark., 2006).

Yapılan bu çalışmada, Amasya ilinde soğan ekim alanlarında soğan dip çürüklüğüne neden olan fungal etmenin izole edilmesi ve tanılanması amaçlanmıştır. Bitki gelişimini teşvik eden kök bakterileri kullanılarak *in vitro* ve *in vivo* koşullarda dip çürüklüğü hastalık etmenine karşı biyolojik mücadele olanakları araştırılarak bu PGPR'lerin soğan bitkisi gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. PGPR Bakterilerinin Bitki Gelişimine Etkisi

Kulkarni ve Nautiyal (2000), *Prosopis juliflora* bitkisinin kök kısmından izole ettikleri *Rhizobium* sp. NBRI330 izolatının özelliklerini ve bitki büyümesine olan etkilerini araştırmışlardır. *Rhizobium* izolatının *Prosopis juliflora* bitkisinin köklerinde nodül oluşturabilme özelliğine sahip olduğu belirlemişlerdir. NBRI330 izolatı ile inokule edilen bitkiler kontrol karşılaştırıldığında bitki kuru ağırlığında % 60,6 oranında bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

Asghar ve ark. (2004), *Brassica* türlerinin kök kısmından izole ettikleri kök bakteri izolatlarının *Brassica napus* L.'un kök uzunluğunu kontrole göre % 139, sürgün uzunluğunu % 78 ve sürgün ağırlığını % 72 oranlarında arttırdığını saptamışlardır.

Khalid ve ark. (2004), buğday kök kısmından izole edilen kök bakteri izolatlarının buğday bitkisi gelişimi üzerinde etkisini kontrollü şartlarda araştırmışlardır. Yaptıkları bakteri uygulamaları sonucu bitkinin sürgün uzunluğunu % 37,7 ve sürgün kuru ağırlığını % 36,3 kök uzunluğunu % 17, kök kuru ağırlığını % 13,5 oranlarında arttırdığı gözlemlenmiştir. Saksı denemelerinde yaptıkları çalışmada ise dane ağırlığını % 14,7 oranında artırırken tarla denemesinde dane ağırlığında % 27,5 oranında bir artış tespit etmişlerdir.

Erman ve ark. (2010), fosfor çözücü ve azot fiske eden bakterilerin buğday ve şekerpancarında büyüme ve verim üzerine etkilerini araştırmışlardır. Buğdayda 11 ve şeker pancarında 15 adet bakteri izolatı ile 5 farklı kontrol uygulamasının [gübresiz ve bakterisiz (kontrol), azot (N), fosfor (P), tam doz N+P (N1P1) ve yarım doz N+P (N2P2)] etkileri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Buğdayda incelenen özellikler bakımından kontrol uygulamasına göre en yüksek artışlar tam doz N+P uygulamasında elde edilmiştir. *Achromobacter xylosoxidans* ve *Rhodococcus erythropolis* izolatları, N, P ve yarım doz N+P uygulamalarından daha yüksek tane verimi elde edilmiştir. *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus macerans*, *Bacillus subtilis* ve *Achromobacter xylosoxidas* izolatlarını verim bakımından inorganik gübre uygulamasına yakın değerler vermişlerdir. *Bacillus megaterium* ve *Bacillus cereus* ise şeker pancarındaki şeker içeriği bakımından en yüksek değeri veren tam doz N+P uygulaması ile istatistiksel olarak aynı grupta yer almışlardır. Kuru madde içeriği bakımından

en yüksek değerler sırasıyla tam doz uygulaması, *Pseudomonas flourescens* ve *Bacillus cereus* uygulamalarından elde edildiğini saptamışlardır.

Çakmakçı ve ark. (2011), *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas flourescens*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus polymyxa*, *Paenibacillus macquariensis*, *Stenotrophomonas maltophilia* izolatlarının Fener-3 çay çeşidinde bitki gelişimine etkisini araştırmışlardır. Bakteri izolatlarının özellikle enzim aktivitesini, makro ve mikro element içeriğini ayrıca gövde ve yaprak gelişimini artırdıklarını saptamışlardır.

Daşcı ve ark. (2012), *Pseudomonas flourescens* TV83E, *Paenibacillus lentimorbus* TV30C, *Achromobacter xylosoxidans* TV6E, *Variovorax paradoxus* TV39F, *Hafnia alvei* TV34A, *Serratia fonticola* TV21A ve *Alcaligenes faecalis* TV113D izolatlarının ve NP (12 kg N/da + 8 kg P/da) gübrelemesinin şeker pancarı gelişimine etkilerini araştırmışlardır. İzolatlar kontrole göre kök verimini sırası ile % 3, 7, 6, 20, 22, 32, 18 ve 29; artırılmış şeker verimini ise % 2, 7, 8, 19, 24, 30, 17 ve 21 oranlarında arttırdığını belirlemişlerdir. Araştırmada kullanılan izolatların kimyasal gübre gereksinimini ve su stresinin olumsuz etkisini azaltabildiği, sürdürülebilir ve organik şeker pancarı üretiminde biyolojik gübre olarak kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu belirtmişlerdir.

## 2.2. PGPR Bakterilerinin Bitki Hastalıklarına Karşı Etkisi

Gamliel ve Katan (1993), domateste hastalığa neden olan minor fungal hastalık etmeni *Penicillium pinophilum*'u biyolojik mücadele çalışması ile kontrol altına almaya çalışmışlardır. Domates tohumlarının floresan *Pseudomonas*'lar ile inokule edilmesi ile patojenin baskı altına alındığını bildirmişlerdir. Ayrıca bu izolatların domates bitkisinde gelişimi artırdığını bildirmişlerdir. Bitki gelişimini teşvik eden *Pseudomonas putida*, *P. flourescens* ve *P. alcaligenes*'in bezelyede *Sclerotium rolfsii*, domates ve pamukta *Fusarium* solgunluğunun neden olduğu hastalık oranını düşürdüğünü saptamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışma ile floresan *Pseudomonas*'ları toprakta minor ve major patojenleri etkili bir şekilde baskılayabilecek biyolojik mücadele etmeni olarak önermişlerdir.

Knudsen ve ark. (1995), buğdayda fungal hastalık etmenlerinden olan *Bipolaris sorokiniana*'a karşı *Gliocladium roseum*'un etkinliğini saksı ortamında araştırmışlardır. *G. roseum* uygulamasında buğdayda *B. sorokiniana* enfeksiyonlarında % 73 oranında azalış meydana geldiğini saptamışlardır.

Hessenmuller ve Zeller (1996), çileklerde en önemli fungal hastalıklardan olan *P. cactorum* ve *P. fragaria*'ya karşı *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter* ve *Pseudomonas* cinslerine ait 15 antagonist bakteri izolatlarının *in vitro* koşullarda hastalık etmenlerinin gelişimini engelleyici etkisini araştırmışlardır. Bu amaç ile yapılan *in vitro* ikili kültür testlerinde tüm izolatlar patojenlerin miselyum gelişimini engellerken *in vivo* ortamda dört izolatın çilek köklerinde hastalığı azalttığını saptamışlardır. Bu dört izolat arasında en etkili izolat olarak *Bacillus licheniformis*'in çileklerde kök çürüklüğüne neden olan *P. cactorum*'u % 68 oranında engellediğini saptamışlardır. Araştırmacılar bu izolatın toprakta canlı kalabilmesinin ve kök yüzeyinde çok iyi kolonize olmasının antagonistik etkisinde önemli bir rol oynadığına bildirmişlerdir.

Koch ve ark. (1998), lahana köklerinden izole ettikleri üç bakteri izolatının (*Pseudomonas chlororaphis*, *P. putida* biotype A ve tanılanamamış U410) hıyar ve kıvırcık lahana da hastalık oluşturan *Pythium ultimum*'a karşı antagonistik etkisini araştırmışlardır. İzolatlar arasındaki U410 izolatının diğer izolatlara göre hastalığın kontrolünde daha etkili olduğunu saptamışlardır. Bezelyede yaptıkları çalışmada ise *P. chlororaphis* ve U410 izolatlarının *R. solani*'nin engelleme oranı % 25 ve % 30 oranında olduğunu göstermişlerdir. Aynı şekilde bu izolatlar ile pamukta *R. solani*'ye karşı % 23 - 44 arasında bir engelleme etkisi sağlanmıştır.

De La Fuente ve ark. (2000), yemlik baklagillerde hastalık etmeni olan *Pythium ultimum*'u iki floresan *Pseudomonas* spp. ile kontrol altına almaya çalışmışlardır. Kullandıkları antagonist izolatların salgıladıkları phenazine, 2,4-diacetylphloroglucinol, pyoluteorin ve pyrrolnitrin antibiyotiklerinin biyolojik kontrol aktivitesinde rol oynayabileceğine belirtmişlerdir. Floresan *Pseudomonas* izolatlarından biri olan UP148 izolatı istatistikî olarak hastalığı önemli düzeyde azalttığını phenazine antibiyotiği, HCN ve siderefor ürettiklerini saptamışlardır.

Dwivedi ve Johri (2003), bitki kök bölgelerinde bulunan PGPR'lar içerisinde en çok floresan *Pseudomonas* ile karşılaşıldığını ve bunların hastalığı hem başlangıç hem de yayılma aşamalarında baskılayabildiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca etki mekanizması bakımından bu *Pseudomonas*'ların pyoluteorin, pyrrolnitrin, phenozions ve 2,4-diacetyl

pholuglucinol gibi antifungal metabolitlerin salgılayarak toprak kökenli fungal patojenlerin gelişimini de baskıladığını bildirmişlerdir.

Utkhede ve Koch (2004), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 'e karşı *B. subtilis* (Quadra 136) (0,3 g/l) ve *Trichoderma harzianum* (RootShield) (0,6 g/l), lysozyme (10 g/l), vermicompostea (konsantre), *Rhodosporodinium diobovatum* (S33) ( $1 \times 10^9$  hücre /ml) ve *B. subtilis* (Quadra 137) (0,5 g/l)'i püskürtme şeklinde domates bitkilerine uygulamışlar ve hastalık şiddetinin % 54 ile % 74 arasında değişen oranlarda azaldığını tespit etmişlerdir.

Mirik (2005), biberlerde bakteriyel leke hastalığı etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* ile biyolojik mücadele olanaklarını araştırmıştır. Adana, Mersin, Osmaniye, Kahramanmaraş ve Hatay illerinden biber üretim alanlarından alınan toprak ve bitki köklerinden toplam 118 adet izolat izole etmiştir. İzolatlar içerisinde fosfatı indirgeyen 11 adet bakteri izolatını aday PGPR izolatı olarak seçmiştir. Bunlardan üç tanesi ile yapılan saksı ve tarla çalışmalarında PGPR uygulanan bitkilerde hastalık şiddetinin % 65 oranında azaldığını saptamıştır. PGPR'ların bitki boyu, gövde çapı, bitki yaş ağırlığı, bitki kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök kuru ağırlığı, verim, meyve boyu ve meyve sayısında değişen oranlarda artışa neden olduğunu belirlemiştir.

Grosch ve ark. (2006), farklı alanlardan izole ettikleri 434 adet bakteri izolatının patates ve marul bitkilerinde *R. solani*'ye karşı antifungal etkisini *in vitro* ve *in vivo* ortamda araştırmıştır. İzolatlardan 18 tanesi ikili kültür testlerinin yanında kitinaz, beta 1,3-glukanaz ve proteaz aktivitelerini dikkate alarak en etkili izolat olarak seçmişlerdir. Hem kontrollü hem de tarla koşullarında izolatlar içerisindeki 2 floresan *Pseudomonas* ve bir *Serratia plymuthica* izolatı patates ve marul bitkilerinde *R. solani*'ye karşı etki gösterdiğini ve hastalık şiddetini önemli bir şekilde düşürdüğünü saptamışlardır.

Costa ve ark. (2007), farklı bitkilerinin köklerinde izole ettikleri *Pseudomonas*'ların *Verticillium dahliae*, *R. solani* ve *Fusarium oxysporum*'ye olan antagonistik etkilerini araştırmışlardır. Çilek, kolza ve topraktan izole ettikleri izolatlardan 101 tanesinin *in vitro*'da *V. dahliae*'ye karşı antagonist etki gösterdiğini saptamışlardır. Bu izolatlardan 82 tanesinin *R. solani*'ye, 68 tanesinin *Fusarium oxysporum*'a *in-vitro*'da antagonistik etki gösterdiği ve 75 tanesinin 2,4-DAPG üretiminden sorumlu olan PhID genine sahip olduğu saptamıştır.

Khedher ve ark. (2015), *B. subtilis* izolatının patatestte siyah kabuk hastalık etmeni *R.solani* 'ye karşı biyokontrol etkisini *in vivo* ve *in vitro* ortamda araştırmışlardır. Bu amaç ile *in vitro* ortamda yapılan denemede *B.subtilis* izolatı önemli derecede antifungal etki göstererek *R. solani* gelişimini % 80 oranında baskılamıştır. *İn vivo* ortamda yapılan çalışmada ise antagonist izolat patatestte kök kanseri ve siyah kabuk hastalığını sırası ile % 63 ve % 81 oranında baskılayarak bitki gelişimini artırdığını bildirmişlerdir.

Valenzuela ve ark. (2015), kavunda hastalık etmeni *Colletotrichum gloeosporioides* 'e karşı *Trichoderma* ssp. izolatlarının antagonistik etkisini *in vitro* ve *in vivo* da test etmişlerdir. *Trichoderma* 'nın tüm izolatları *in vitro* ortamda *C. gloeosporioides* gelişimini ortalama % 50 - 60 oranında engellediğini tespit etmişlerdir. Bu *Trichoderma* izolatları içerisinde *Trichoderma longibrachiatum* en büyük antagonistik etki göstererek (% 87,4) *Colletotrichum* 'un misel gelişimini engellemiştir. Yatıkları *in vivo* çalışmalarda ise patojen uygulamasından 24 saat önceki *Trichoderma viride* uygulamasının meyvede en az lezyon görüldüğünü saptamışlardır.

Demir ve Kotan ( 2016), bağ (*Vitis vinifera* L.) alanlarında külleme hastalığı etmeni *Uncinula necator* (Sch.). etmenine karşı biyokontrol etmenlerinin geliştirilmesine yönelik yaptığı çalışmalarında yabani ve kültür bitkilerinin kök kısımlarından izole ettikleri *Brevibacillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Pantoea* izolatlarından toplam on üç bakteri izolatını kullanılmışlardır. İzolatların tanıları MIS ve BIOLOG sistemi kullanılarak doğrulanmıştır. Bakterilerin altı farklı kombinasyonu uygun bir sıvı taşıyıcıda geliştirilerek sprey yöntemi kullanılarak külleme hastalığının kontrolü için test etmişlerdir. Bakteri içeren sıvı formülasyonların tamamının külleme hastalığının gelişimini önemli ölçüde engellediğini saptamışlardır. En etkili formülasyon; *Brevibacillus brevis* RK-342, *Pseudomonas fluorescens* RK-255 ve *Bacillus thuringiensis* TV-72F izolatlarından oluşan Formülasyon E olarak belirlemişlerdir. Bu biyoformülasyon bağ küllemesi hastalığının kontrolünde biyopestisit olarak kullanılabileceği ileri sürmüşlerdir.

### 2.3. Fosfor Çözen Bakteriler

Halder ve ark. (1990), *Rhizobium* ve *Bradyrhizobium* izolatlarının kaya fosfatını çözme özelliklerinin belirlenmesi için iki farklı besi yeri (AYG ve YG) kullanmışlardır. Toplam 23 izolat kullandıkları çalışmalarında 7'si *Bradyrhizobium*, 16'sı *Rhizobium* türlerindendir. İzolatlar arasında *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae*'nin kaya fosfatı

özme bakımından en etkili izolat olduğu saptanmıştır. Bu izolat kaya fosfatı çözme özelliği yüksek miktarda 2-ketoglukonic asit üretimi başlıca neden olarak belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında besi ortamındaki çözünmeyen kaya fosfatı miktarı, çözülen fosfor miktarını çok az oranda etkilerken, besi ortamına  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$  ve  $\text{Ca(OH)}_2$  gibi bileşiklerinin eklenmesinin çözülen fosfor miktarında azalmaya neden olduğunu saptamışlardır. Ayrıca araştırıcılar pH değerindeki değişikliğin fosfor çözülmesinde pek önemli olmadığını bildirmişlerdir.

De Freitas ve ark. (1997), fosfat çözme özelliğine sahip kök bakteri izolatlarının kanola bitkisinin gelişimi üzerindeki etkilerini saksı denemeleri ile araştırmışlardır. 111 izolat buğday, bezelye, kanola, arpa ve mısır bitkilerinin kök bölgesinden izole etmişlerdir. Bu izolatlardan 9 tanesinin fosfat çözme özelliğine sahip olduğu belirlenmiştir. En fazla fosfat çözen izolatlar ise yapılan yağ asitleri (FAME) analizi sonucunda *Bacillus brevis*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis* ve *Xanthomonas maltophilia* izolatları olarak belirlenmiştir. Fosfat özme özelliğine sahip izolatların etkileri fosfatca yoksun topraklara kaya fosfatı ilave edilerek araştırılmıştır. Bazı bakterilerin saksıdaki bitkilerin gelişimini istatistikî olarak önemli derecede arttırdığı görülürken bazılarının etkili olmadığı saptamışlardır. Kaya fosfatının ilave edilmediği denemede ise bakteriler saksılardaki bitkilerin ağırlıkları ve verimi açısından değerlendirildiğinde, *B. thuringiensis* diğerlerinden istatistikî olarak etkili çıkmıştır.

Kumar ve Narula (1999), yaptıkları çalışmada buğday (*Triticum aestivum* L.) kök bölgelerinden izole edilen *Azotobacter chroococcum* izolatlarının fosfor çözme yeteneklerini araştırmışlardır. Araştırıcılar Pikovskaya besi ortamı kullanılarak izolatların oluşturdukları zonları ölçmek yolu ile fosfat çözme indeksini hesaplamışlardır. Bu amaç ile toplam çapın (koloni çapı + zon çapı) koloni çapına oranını esas almışlardır.

Johri ve ark.(1999), toprak veya tohuma uygulanan fosforu çözme özelliğine sahip bakteri izolatlarının ürün miktarında artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Araştırıcılar Pikovskaya besi ortamında izolatların oluşturdukları zonları ölçme yöntemi ile fosfat çözme indeksini hesaplamışlardır. Alkali topraklardan elde edilen izolatların yüksek sıcaklık, pH ve tuzluluk gibi stres koşullarında fosfor çözme yeteneklerinin gelişebileceğini belirtmişlerdir.

Singh ve Kapoor (1999), buğday bitksi üzerinde yaptıkları bir çalışmada bitkiler fosforu çözen izolatlardan *Bacillus*, *circulasn* *Cladosporium herbarum* ve mikorizal bir

fungus olan *Glomus sp.* 88 ile inokule etmişlerdir. Toprak olarak ise kumlu toprak kullanılmıştır. Mikroorganizmalar tek başlarına ve beraber uygulanmaları halinde en iyi sonucun fosfat çözen bakterilerin beraber kullanılması sonucu elde edildiğini saptamışlardır.

Nautiyal (1999), topraktan ve bitki köklerinden izole edilen bakterilerin fosfor çözme özelliklerini belirleyebilmek için yaptığı çalışmada PVK (Pikovskaya) besi yerine daha etkili olan NBRIP (National Botanical Research Institute) besi ortamı geliştirmiştir. Yaptığı petri denemelerinde NBRIP besi ortamı ve PVK besi ortamı benzer sonuçlar verirken sıvı NBRIP besi ortamının sıvı PVK besi ortamına oranla 3 kat daha etkili olduğu saptanmıştır. Araştırmacı topraktan ve bitki köklerinden izole edilen bakterilerin fosfor çözme yeteneklerini belirleyebilmek için sıvı NBRIP besi ortamı kullanımının daha avantajlı olduğunu bildirmiştir.

Nautiyal ve ark. (2000), çalışmalarında alkali yapıdaki toprak ve nohut köklerinden NBRI0603, NBRI12601, NBRI13246 ve NBRI14003 fosfor çözen bakteri izolatlarını izole etmişlerdir. Bu dört izolatın farklı seviyede fosfor çözdüğünü çeşitli karbon (fruktoz, galaktoz, sorbitol, mannitol, xyloz, sukroz, maltoz ve laktöz) ve azot ( $KNO_3$ ,  $CaNO_3$ ,  $NaNO_3$  ve  $(NH_4)_2NO_3$ ) kaynaklarını kullanarak belirlemişlerdir. İzolatların asit üretiminin fosfor çözülmesini artırdığını fakat mikroorganizmaların kullandığı tek mekanizmanın bu olmadığını bildirmişlerdir. Bu dört izolat arasında özellikle NBRI12601 izolatını % 10 tuz varlığında, pH 12 ve 45 °C sıcaklıkta en yüksek miktarda fosforu çözebilmiştir.

Küsek (2007), asmalarda urlara neden olan bakteriyel hastalık etmeni *Agrobacterium vitis*'in PGPR'lar ile biyolojik mücadelesini araştırmıştır. Farklı illerdeki bağlardan elde ettiği izolatlardan 63 adet PGPR izolatlarının katı NBRIB besi ortamında fosforu çözdüğünü belirlemiştir. Araştırmacı bu izolatlar arasında nicel olarak en çok fosforu çözen izolatı belirlemek için sıvı NBRIP besiyeri kullanmıştır. Bu izolatlar arasındaki en yüksek fosfor çözen 10 izolat seçilerek saksı çalışmalarında kullanmıştır. Bu izolatlardan beş tanesi *Agrobacterium vitis*'in asmalarda oluşturduğu urların ağırlığını % 45 ile % 98 arasında değişen oranlarda azalttığını belirlemiştir.

#### 2.4. Soğan Hastalıklarının Biyolojik Kontrolü

Rajendran ve Ranganathan (1996), fungal antagonist olan *Trichoderma viride*, *T. harzianum*, *T. hamatum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii* ve bakteriyel antogonist olan *Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus subtilis*'in *in vitro* da soğan dip çürüklük etmeni olan

*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*'ye karşı oldukça etkili bulmuşlardır. Tarla ve saksı denemelerinde yapılan çalışmada *T. viride* + *P. fluorescens* 'nın tohum uygulamalarının soğanlarda oluşan dip çürüklüğü hastalığına karşı oldukça etkili olduğunu belirtilmişlerdir.

El-Neshawy ve ark. (1999), yaptıkları çalışmada içerisinde *T. harzianum* ve *T. koningii* bulunan ticari preparatın soğanlarda *A. niger*'e etkisini belirlemek amacıyla, çürüme oranını ve soğan pulları üzerindeki lezyon çaplarını incelemişlerdir. Uygulama sonucunda *A. niger*'in soğan pulları üzerinde daha küçük çaplı lezyon oluşturduğunu ancak tüm soğan pullarında lezyonların meydana geldiğini gözlemlemişlerdir. Yaptıkları başka bir çalışmada soğanda fungal patojenlerden olan *Botrytis allii* ve *Aspergillus niger* için kullanılan biyolojik mücadele yöntemlerinden *T. harzianum* ve *T. koningii* karışım halinde tohum ve sprey uygulamalarında hastalığa etkili bulunduğunu bildirilmiştir.

Tehrani ve Ramezani (2003), İran'da soğanlarda görülen en önemli hastalıklardan birinin *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu dip çürüklüğü hastalığı olduğunu belirtmişlerdir. Sağlıklı soğan bitkilerin kök kısımlarından elde edilen 120 bakteri izolatından 6 tanesi en etkili antagonist olarak belirlenmiştir. Bu antagonistlerden 22, 38, 46 ve 52 nolu izolatlar *Basillus* spp. olarak tanımlamışlardır. Bu izolatlar antifungal metabolit üreterek *F.oxysporum*'un misel gelişimini engellediğini saptamışlardır. 16 ve 48 kodlu izolatlar ise *Pseudomonas fluorescens* olarak tanımlamışlardır. Toprak denemelerinde 22 ve 52 kodlu izolatlar % 56 ve % 51 arasında *Fusarium* hastalığına karşı etki göstermiştir. Bu iki izolatın karışımı ise hastalığı % 60 oranında azaltmıştır.

Karthikeyan ve ark. (2005), soğan sürmesi hastalık etmeni *Alternaria palandui*'nin biyolojik kontrolü üzerine yaptıkları çalışmada, *in vitro* ve *in vivo* ortamda *Pseudomonas fluorescens* (Pfl) izolatının *A. palandui* 'nin gelişmesini baskıladığını saptamışlardır. Pfl ile muamele edilmiş dayanıklı ve hassas bitkilerde yapılan çalışmada hastalığa karşı bitkilerin protein sentezini artırma, bazı enzimlerin (kitinaz,  $\beta$ -1.3 glukonaz, peroksidaz ve polifenol oksidaz) sentezi gibi mekanizmalar ile uyarılmış dayanıklılığını harekete geçirildiğini belirtmişlerdir.

Rafika ve ark. (2006), Tunus'da depolarda çürüyen soğanlardan izole edilen funguslar arasında en fazla *Fusarium oxysporum*'un bulunduğunu tespit etmişlerdir. Soğan cinsi bakımından değerlendirildiğinde kırmızı soğanların beyaz renkli olanlara göre kök gelişiminin fazla olmasından dolayı hastalığa karşı daha dayanıklı olduklarını belirtmişlerdir.

Türkkan ve Karaca (2006), yaptıkları çalışmada Amasya İli yemeklik soğan (*Allium cepae* L.) ekiliş alanlarında görülen fungal kök çürüklüğü hastalık etmenleri, yayılışlarını ve yoğunlukları belirlemişlerdir. Bu amaç ile 2000 ve 2001 yıllarında toplam 110 yemeklik soğan tarlasında inceleme yapmışlardır. Çalışma sonucunda, inceleme yapılan yemeklik soğan alanlarında kök çürüklüğü hastalığının yoğun bir şekilde bulunduğu belirlenmiştir. Çalışmanın ilk yılında Amasya ili yemeklik soğan ekiliş alanlarının % 95,7'sinin, 2001 yılında ise % 100'ünün kök çürüklüğü hastalık etmenleriyle bulaşık olduğu ve hastalığın bitkilerde 2000 yılında % 49,1, 2001 yılında ise % 70,7 oranında yaygın olduğu saptanmıştır. Hastalık şiddetinin ise 2000 yılında % 34,3 ve 2001 yılında % 42,4 olduğunu tespit etmişlerdir. Kök çürüklüğü hastalığına yakalanmış bitkilerden yapılan izolasyonlardan, % 91,6 oranında *Fusarium* spp., % 4,2 oranında *Rhizoctonia* spp., % 1,9 oranında *Sclerotium cepivorum*, % 1,5 oranında *Pythium oligandrum* izole etmişlerdir.

Coşkuntuna ve Özer (2008), yaptıkları çalışmada ticari bir preperat olan *Trichoderma harzianum* KUEN 1585 'nın *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* (FOC) gelişimi üzerine etkisini saksı ve arazi şartlarında soğan bitkisi üzerinde araştırmışlardır. Saksı ve arazi denemelerinde çalışmalarında toprak, FOC ile inokule edilmiş ve soğan tohumları *T. harzianum* ile kaplanmıştır. *T. harzianum*'un tohum uygulamalarında bir fungusit olan imidazole ve prochloraz gibi misel gelişimi baskılaması özelliği bakımından yüksek miktarda antifungal özellik gösterdiğini saptamışlardır. *T. harzianum*'un antifungal özelliğinden dolayı FOC'a karşı biyokontrol olarak kullanılabileceğini önermişler ayrıca bitki gelişimini artırarak soğan çapı ve ağırlığının arttığını belirtmişlerdir.

Sintayehu ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada fungusitlerden Mirage ve Seed Plus 'ın kök çürüklük etmeni FOC'un soğanlarda arazi ve depo şartlarında verdiği zararı azaltmaya yönelik kullanılabileceğini önermişlerdir. Beş farklı fungusit olan Mirage 50 WP, Folicur 25 EC, Seed plus 30 WS, Penncozeb 80 WP ve Ridomil Gold 68 WG arazi ve depo şartlarında soğanlara uygulanmıştır. Mirage ve Seed Plus kontrol ile kıyaslandığında hastalığı sırası ile % 40 ve % 43 oranı ile en fazla azaltmıştır. Depo şartlarında bu oran % 42 ve % 45'e çıktığını bildirmişlerdir.

Türkkan (2013), yaptığı çalışmada soğan dip çürüklüğü etmeni FOC'un kontrolü için sentetik fungusitlere alternatif olabilecek 26 farklı tuzun etkinliğini değerlendirmiştir. Kontrole kıyasla potasyum asetat, potasyum klorit, potasyum nitrat, potasyum fosfat dibazik, sodyum klorit, sodyum sülfat ve trisodyum fosfat fungusun gelişimini artırdığını saptamıştır.

Diamonyum fosfat misel gelişimini etkilememiş; diğer 15 tuz misel gelişimini % 16,6 - 83,4 oranında azalttığını tespit etmiştir. Amonyum bikarbonat, amonyum karbonat ve sodyum metabisülfite misel gelişimini tamamen engellediğini gözlemlemiştir. *In vitro*'da amonyum bikarbonat, amonyum karbonat ve sodyum metabisülfite engelleyici etkilerinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFC) değerleri sodyum metabisülfite amonyum bikarbonat ve amonyum karbonattan daha etkili olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, toprak testleri sodyum metabisülfite % 0,4 konsantrasyonda fungus gelişimini tamamen engellediğini gösterir iken test edilen amonyum bikarbonat ve amonyum karbonatın yalnızca en yüksek konsantrasyonu (% 2) fungus gelişimini engelleyebilmiştir. Çalışmada ayrıca FOC'un hem asidik hem de bazik ortamda gelişebildiğini gözlemlemiştir. Fungus pH 6 ile 9 arası değerlerde engellenmeksizin gelişirken, daha yüksek ve daha düşük pH değerlerinde gelişmesi önemli bir şekilde azalmış ve pH 12'de tamamen engellediğini saptamıştır.

Malathi (2015), soğanda kök çürüklüğü etmeni FOC'a karşı biyolojik mücadele yöntemlerini araştırmıştır. Hindistan Tamil Nadu bölgesinde yetişen soğanların kök bölgelerinden biyokontrol etmenlerinin izolasyonunu gerçekleştirmiştir. İzolatların *in vitro* da antagonistik özelliklerini incelemiştir. Test yaptığı izolatlar içerisinde FOC'un misel gelişimini *Trichoderma* spp., *T. harzianum* (TH 3) izolatı % 83 oranı ile en fazla etkinlik gösterirken *Pseudomonas* spp. (Pf 12) izolatı % 75 oranında baskılamıştır. Sera şartlarında yaptığı üçlü kombinasyonda ise (Pf12 +Pf27+ TH3) hastalığın % 85 oranında azaldığını gözlemlemiş olup biyokontrol etmenlerinin hem ürün artışında, hemde hastalığa karşı biyokontrol elemanı olarak kullanılabileceğini belirtmiştir.

## 2.5. Soğan Dip Çürüklüğü Etmeninin Karakterizasyonu

Dissanayake ve ark. (2009), Hastalık belirtisi gösteren soğan bitkilerinden otuz adet *Fusarium oxysporum* izolatı izole etmişlerdir. İzolatlar ribozomal DNA (rDNA)'daki ITS bölgesinin nükleotid sekanslarındaki farklılıklar açısından incelenerek virülenslik testine tabi tutulmuştur. ITS sekans analizine dayanan filogenetik analizde, izolatların virülensliği ile aralarındaki genetik ilişki filogenetik olarak karşılaştırmışlardır. Çalışmalarında düşük virülense sahip izolatların, genetik olarak yüksek ve orta virülense sahip izolatlardan farklı olduğunu saptamışlardır.

Bayraktar ve ark. (2010), Türkiye'de soğan üretim alanlarında yayılım gösteren soğan dip çürükçü etmeni FOC izolatları arasındaki genetik ilişkiyi belirlemek amacı ile Bursa, Eskişehir, Ankara, Çorum, Amasya, Tokat ve Yozgat şehirlerinden 75 adet FOC izolatu izole etmişlerdir. İzolatlar arasındaki genetik ilişkiyi Vejetatif Uyum Grupları (VCGs) ve rDNA bölgesindeki ITS bölgelerine göre RFLP analizi ile yapmışlardır. Herbir izolatu tek başına bulunduğu 48 vejetatif uyum grubu belirlemişlerdir. Sadece s6 izolatu referans izolat olan VCG0423 ile heterokaryon özellik göstermiştir. Beş izolat (s24, s34, s40, s62 ve s137) ise yarı heterokaryon uyuşma göstermiştir. RFLP analizi sonucunda 75 FOC izolatından 13 adet ITS ortaya çıkarılırken referans izolat olan Colarado (ABD)'de ise 16 ITS enzim tipi ortaya koymuşlardır. Çoğunluğu tek üyeli VCGs grupları kendi aralarında küçük sapmalar ile RFLP bantları oluşurken referans izolattan önemli bir şekilde farklı bulunmuşlardır. Bu sonuçlar ile Türkiye'den izole edilen FOC izolatları farklı bir klonal soydan türediğini belirtmişlerdir.

Malathi ve Mohan (2012), Hindistan'da Tamil Nadu bölgesindeki soğan ekim alanlarındaki FOC izolatları arasındaki genetik ilişkiyi RAPD analizi ile araştırmışlardır. Çalışmalarında her biri 12 baz içeren 12 primer kullanarak RAPD profilinin skorlarından türetilen genetik katsayı matrisinin analizi hesaplamışlardır. FOC izolatlar arasında genetik fark bulunduğunu tespit ederek % benzerliklerin minimum ve maksimum % 14 - 85 arasında olduğunu saptamışlardır.

Taylor ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada İngiltere'de farklı bölgelerden hastalıklı soğanlardan izole ettikleri *Fusarium oxysporum* izolatlarını transfer elongation factor 1-a (TEF) gen sekansına göre karakterize etmişlerdir. Bu amaç ile EF1 (5-ATGGGTAAG-GARGACAAGAC-3) ve EF2 (5-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3) primerlerini kullanmışlardır. Ayrıca FOC izolatu'nun belirlenmesi amacı ile de *Fusarium oxysporum* izolatlarını ile iki farklı tohum kullanılarak virülenslik testi yaparak virülenslik şiddetlerini tespit etmişlerdir.

Sasaki ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada 55 adet FOC izolatlarını rDNA bölgelerindeki ITS ve translation elongation factor-1 $\alpha$  (EF-1 $\alpha$ ) nükleotit gen sekansına göre karakterize etmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Materyal

Soğan dip çürüklüğü etmenini izole etmek için 2015 yılı Temmuz - Ekim ayları arasında Amasya İli (Suluova, Merzifon, Gümüşhacıköy, Taşova, Göynücek, Hamamözü) soğan ekim alanları gezilerek toplanan dip çürüklüğü hastalık belirtisi gösteren bitkiler kullanılmıştır (Şekil 3.1). Hastalıklı bitkilerden izole edilen dip çürüklüğü etmeninin patojenisite ve topraktan izole edilen yararlı bakterilerin hastalık etmeni üzerine etkisini belirlemek için FOC'a karşı hassas olan Kantartopu çeşidi (Özer, 1998; Özer ve ark. 2003) ve hastalığa dayanıklı Banko çeşidi soğan kullanılmıştır.



Şekil 3.1. FOC ile bulaşık soğan bitkilerinin tarlada görünümü

Biyolojik mücadele çalışmasında kullanılacak PGPR izolatlarını elde etmek üzere aynı bölgedeki sağlıklı ve diğer bitkilere göre daha iyi gelişmiş soğan bitkisi köklerinden alınan toprak örnekleri kullanılmıştır. Topraktan izole edilen bakteri izolatlarının aşırı duyarlılık reaksiyonunda White Burley çeşidi 5 - 6 yapraklı *Nicotiana tabacum* (tütün) fideleri bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU'ndan temin edilen *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* R52 izolatu tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonunda pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Saksı denemelerinde kullanılan kaya fosfatı ise Mardin Mazıdağı fosfat tesisinden temin edilmiştir. Ayrıca çeşitli besi yerleri (EK - 1) ve kimyasallar, PCR malzemeleri bu çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

### 3.2. Metod

#### 3.2.1. Soğan dip çürüklüğü hastalık etmeninin izolasyonu

Soğan Dip Çürüklüğü hastalık etmeninin izolatlarının elde edilmesi amacı ile 2015 yılı Temmuz - Ekim aylarında Amasya İli soğan ekim alanları dikkate alınarak hastalık belirtisi olarak yapraklarında sararma, kök kısmında çürüme görülen soğanlar toplanmıştır (Şekil 3.2). Baş soğanlar kurutma kağıtlarına sarıldıktan sonra polietilen torbalara konularak buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiş ve 24 saat içinde Soğan Dip Çürüklüğü hastalık etmeninin izolasyon işlemi yapılmıştır.



Şekil 3.2. Soğan Dip Çürüklüğü hastalığının baş soğan dip bölgesindeki çürüklük belirtileri

Soğan Dip Çürüklüğü hastalık etmeninin izolasyon işlemi 19 Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakterioloji Laboratuvarında Doç.Dr. Hasan Murat AKSOY danışmanlığında aşağıda belirtilen yönteme göre yapılmıştır. Soğan Dip Çürüklüğü hastalık etmeninin izolasyonunda baş soğanların kök veya kökboğazı bölgesindeki kahverengileşmiş bölgelerinden 5 - 6 mm uzunluğunda dokular kesilmiştir. Dokular % 2'lik

sodyum hipoklorit (NaOCl) solüsyonunda 2 dakika bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyon yapıldıktan sonra 2 kez steril saf suda durulanmış ve ardından steril kurutma kağıtlarında kurumaya bırakılmıştır. Soğan Dip Çürüklüğü hastalık etmeninin izolasyonunda Patates Dextroz Agar (PDA) besi ortamı kullanılmıştır. Besi ortamı, 50 °C'ye soğutulmuş, içerisine 500 mg/l ampicillin antibiyotiği ilave edilmiş ve 9 cm çaplı petri kaplarına dökülmüştür. Yüzeysel olarak sterilize edilen bitki dokuları, bu besi ortamı üzerinde kültüre alınmış ve 25 °C sıcaklıkta, karanlık koşullarda inkübe edilmiştir. İzolasyon işleminden 4 gün sonra, petride gelişen kolonilerinden birbiri ile morfolojik olarak beyaz, krem, pembe, bordo ve tonlarındaki misel rengine sahip funguslar tek spor yolu ile saflaştırılmıştır. Bu işlem için steril bir lam üzerine 100 µl steril distile su damlatılmış ve iğne ucu ile izolasyonu yapılmış fungus kolonilerden, aseptik koşullarda, bir miktar miselyum alınıp bu suyun içerisine batırılarak spor süspansiyonu elde edilmiştir. Daha sonra, içerisinde antibiyotikli su agarı bulunan petri kaplarındaki agar yüzeyine, bir öze dolusu spor süspansiyonu çizilerek dağıtılmış ve bu petriler 12 saat süreyle 25 °C sıcaklıkta inkübe edilmişlerdir. İnkübasyondan sonra bir tek spordan elde edilen fungus izolatlar patojenisite testlerinde ve diğer çalışmalarda kullanmak amacıyla eğik PDA besi ortamında +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

### **3.2.2. Soğan dip çürüklüğü etmeni izolatlarının virülensliğinin belirlenmesi**

Soğan Dip Çürüklüğü hastalık etmeni izolatlarının virülensliğini belirlemek için FOC'a duyarlı olduğu bilinen Kantartopu soğan çeşidi kullanılmıştır. Bu amaçla ile 121 °C'de 30 dakika otoklavda sterilize edilmiş olan 250 g torf, kum, perlit (3:1:1) karışımı 6 cm çapındaki 250 ml'lik pet bardaklara doldurmuştur. Hastalıklı bitkilerden izole edilerek saf fungal izolatların konidiol inokulum süspansiyonu hazırlamak için, 10 ml tüplerdeki eğik agardaki stok kültürlerden PDA besi ortamı içeren petrilere ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 25 °C sıcaklıkta inkibatörde 7 - 8 gün inkübe edilerek konidiospor oluşması sağlanmıştır. PDA besi ortamında gelişen konidiosporları elde etmek için petrilere bir miktar steril su eklenmiştir. Steril lam yardımı ile petri yüzeyinden sıyrılan fungus konidiosporlar bir tüp içerisinde toplanarak spor süspansiyonu hazırlanmıştır. Elde edilen spor süspansiyonları Thoma lamı ile sayılarak konsatrasyonları steril saf su yardımı ile 10<sup>6</sup> spor/ml'ye ayarlanmıştır. Her saksıya 100 ml spor solüsyonu inokule edilerek bir hafta bekletilerek inokulum hazırlanmıştır (Özer ve Köycü, 1998). Negatif kontrol olarak ise aynı miktarda su eklenmiştir. Soğan tohumları % 2'lik NaOCI içinde 3 dak. yüzeysel sterilizasyon yapılmış ve içerisinde inokulumlu toprak bulunan her pet bardağa 5 tohum ekimi yapılmıştır. Tohumların

çimlenme durumu dikkate alınarak her saksıda 3 fide bırakılmıştır. Deneme iklim odasında 5 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Kırk beş günün sonunda bitkiler sökülerek kök gelişimi ve yaprak sararması incelenerek hastalık şiddeti 0 - 4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Kehr ve ark., 1962) (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.3). SPSS 20 paket programı kullanılarak ikili karşılaştırma testi ile fungus inokule edilmemiş uygulama ile her bir fungus uygulaması karşılaştırılarak fungusların hastalık şiddetleri istatistikî olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.1. İzolatların virülenslik hesaplanmasında kullanılan 0-4 hastalık skalası

| İndeks | Hastalık Belirtisi (%) | Hastalık Tanımı                                   |
|--------|------------------------|---------------------------------------------------|
| 0      | 0                      | Hastalık belirtisi yok                            |
| 1      | 1 - 25                 | Yapraklarda hafif sararma ve kök gelişim geriliği |
| 2      | 26 - 50                | Bitkide % 50 ye varan sararma ve gelişim geriliği |
| 3      | 51 - 99                | Bitkinin tamamında sararma ve kök bölgesi lekeli  |
| 4      | 100                    | Yaprakların tamamen kuruması, kök çürümüş         |



Şekil 3.3. Hastalık şiddeti hesaplanmasında kullanılan 0 - 4 değerlerin soğan bitkilerindeki görünümü

Hastalıklı bitki dokusundan izole edilen her bir fungus izolatının hastalık şiddeti Tawsend-Heuberger formülü (3.1) ile hesaplanmıştır (Karman 1971).

$$\text{Hastalık Şiddeti (\%)} = \frac{\sum (V \times n)}{N \times Z} \times 100 \quad (3.1)$$

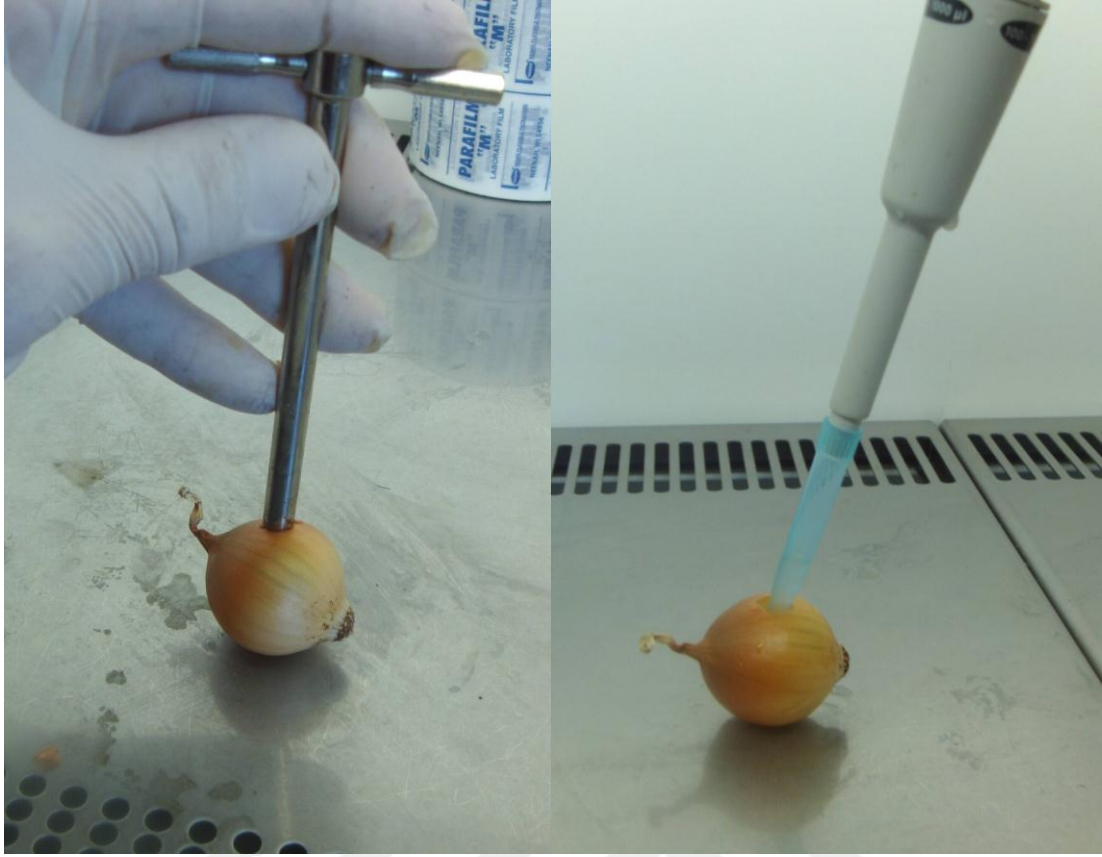
n: her bir skala değerindeki bitki sayısı

V: skala değeri

Z: en yüksek skala değeri

N: gözlem yapılan toplam bitki sayısı

Hastalıklı soğanların dip kısmından izole edilen fungus izolatlarının her birinin hastalık şiddeti hesaplanarak virülenslik şiddetleri belirlenmiştir. Yapay olarak inokule edilen bitkilerden yüksek derecede virülens (hastalık şiddeti > % 70) olan funguslar re izolasyon yapılarak daha önce yetiştirilmiş kantartopu cinsi soğanlarda patojenite testi yapılmıştır. Bunun için; Kantartopu cinsi soğanlar % 75'lik alkol çözeltisinde 5 dak. süre boyunca yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuş, daha sonra her bir soğanın iki tarafına 0,5 cm çapında ve 2 cm derinliğinde iki adet yara açılmıştır (Latorre ve ark. 1997). Açılan yaralara re izolasyon yapılan funguslardan hazırlanan  $10^6 \text{ ml}^{-1}$  konidio süspansiyonlarından 250  $\mu\text{l}$  ilave edilmiştir (Şekil 3.4). Kontrol uygulamasında ise konidio süspansiyonu yerine sadece saf su inokule edilmiştir. Steril saf su ile ıslatılmış 3 katlı kurutma kâğıtlarının bulunduğu küvetlerin içine inokule edilen soğanlar yerleştirilmiştir. Küvetler şeffaf naylon torbalar ile örtülerek 27 °C'de bir hafta karanlık koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda soğanlarda çürüklük meydana getiren izolatlar patojen olarak değerlendirilmiştir. Patojen olan ve virülenslik testinde yüksek derece virülens sınıfına giren re izolasyon sonucu edilen FOC izolatlarının virülenslik şiddetleri Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak kendi arasında ve negatif kontrol uygulaması ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.4. Kantartopu cinsi baş soğan kullanılarak yapılan patojenite testi; a: yara açılması, b: fungus inokülasyonu

### 3.2.3. *Fusarium oxysporum* izolatlarının morfolojik tanımlanması

Patojen olan ve yüksek derece virülenslik sınıfına giren izolatın tür düzeyindeki ayrımı, morfolojik ve mikroskopik incelemeleri Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç.Dr. Davut Soner AKGÜL yardımı ile yapılmıştır. Morfolojik karakterlerin düzgün bir biçimde ortaya çıkması için, fungus izolatı ayrı ayrı Sentetik Nutrient Agar (SNA) ve PDA ortamlarında geliştirilerek incelenmiştir. PDA ortamı daha çok miseliyal büyüme oranı, havai miselyum oluşturma, koloni pigmentasyonu gibi karakterlerin belirlenmesinde kullanılırken, SNA ortamı makro ve mikrokonidilerin optimum bir biçimde gelişimi, konidiofor morfolojisi ve klamidospore oluşumu gibi özelliklerin ortaya konmasında ihtiyaç duyulmuştur. Besi ortamları hazırlanarak pH 6,8'e ayarlanmış ve otoklav edilmiştir. Ardından bu ortamlar 9 cm çaplı petrilere dökülüp, bunların üzerine daha önce saflaştırılarak saklanmış orijinal kültürlerden petri kaplarına ekim yapılmıştır. PDA ve SNA ortamına ekilen kültürler 24°C sıcaklık ve karanlık koşullarda 10 gün gelişmeye bırakılmışlardır. İnkübasyondan sonra tüm fungal izolatlar

mikroskop altında incelenmiş ve bunların mikroskobik özellikleri kaydedilerek Booth, (1971), Nelson ve ark., (1983), Burgess ve ark., (1994) ve Seifert (1996)'e göre teşhis anahtarları kullanılarak tanılanmıştır. Tanılamada, aşağıdaki 16 farklı özellik araştırılmış olup bunlar şu şekilde sıralanmaktadır:

- 1- Büyüme oranı (24 °C'de 10 günlük koloni çapı uzunluğu)
- 2- Havai miselyum oluşturma özelliği
- 3- Koloni rengi
- 4- Sporodochium özellikleri
- 5- Makrokonidi şekilleri
- 6- Makrokonidideki en geniş kısım
- 7- Makrokonidi boyutları
- 8- Makrokonidi bölmeleri
- 9- Bazal hücrenin yapısı
- 10- Apikal hücre uzunluğu
- 11- Apikal hücrenin şekli
- 12- Havai miselyumdaki mikrokonidi yoğunluğu
- 13- Mikrokonidilerde kümeleşme ve zincirleşme
- 14- Mikrokonidi şekli
- 15- Havai miselyumdaki konidiofor şekilleri
- 16- Klamidospor oluşumu ve bunların oluşum şekilleri

Teşhis ile ilgili incelemeler tamamlandığında türlerin belirleyici özelliklerini yansıtan bazı fotoğraflar çekilmiştir.

#### **3.2.4 . Soğan dip çürüklüğü etmeni izolatlarından genomik DNA izolasyonu**

Yüksek derecede virülens özelliğine sahip fungal izolatların genomik DNA'sını elde etmek için Doyle ve Doyle (1987) tarafından geliştirilen CTAB (hexadecyltrimethylammonium bromide) metodunda bazı değişiklikler gerçekleştirilerek yapılmıştır. DNA izolasyonu için PDA besi ortamında 7 gün geliştirilen funguslardan 10 mm çapında 3 misel disk alınarak 100 ml erlenlerde 50 ml Patates Dekstroz Broth (PDB) besi ortamına ekim yapılmış ve çalkalayıcıda 120 dev/dak'da 25 °C'ye ayarlanmış inkübatörde bir hafta çalkalanarak geliştirilmiştir. Besi ortamı fungal miselyumları elde etmek için iki kat tülbent ile süzölmüştür (Şekil 3.5). Miselyumlar saf suda yıkanıp spor ve besi ortamından arındırıldıktan sonra kurutma kâğıtlarında kurutulup 2 ml cryo tüpler içerisinde sıvı azot ile

dondurulmuştur. Dondurulan hücreler 0,5 mm çapında çelik bilye kullanılarak hücre duvarları parçalanmıştır. Hücre duvarları kırılan hücrelerin üzerine CTAB izolasyon tamponu (0,1 M Tris HCl, 1,4 M NaCl; 0,02 M EDTA; % 2 CTAB, pH 8,0) 700 µl eklenmiştir. Tüpler 65 - 70 °C'de 90 dak. boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra tüplere 500 µl kloroform eklenmiş ve tüpler vortekslenmiştir. Kısa süreli bir ısıtma işlemi (70 °C'de 5 dak) gerçekleştirildikten sonra örnekler 10,000 dev/dak'da 10 dak santrifüj yapılmıştır. Süpernatant kısmından 500 µl alınarak 2 ml'lik yeni bir cryo tüplerine aktarılmış ve üzerine 300 µl soğuk isopropanol ilave edilmiştir. Tüpler 10,000 dev/dak'da tekrar 10 dak. santrifüj edilmiş ve üst sıvı dikkatli bir şekilde dökülmüştür. Tüpün dip kısmında toplanan DNA üzerine 1 ml % 70 etanol eklenerek yıkanmış ve tuzların ortamdan uzaklaşması sağlanmıştır. Bu işlem sonunda DNA pelleti 10,000 dev/dak'da 10 dak. santrifüj edilerek çöktürülmüş ve üst sıvı atılmıştır. Tüplerin kapakları bir süre açık olarak bekletilmiş ve etanolün tümüyle uçması sağlanmıştır. Elde edilen DNA 50 µl TE tamponu (1 mM TrisHCl, pH 8,0; 0,1 mM EDTA) içerisinde çözülerek PCR çalışmalar için -20 °C'de saklanmıştır.



Şekil 3.5. DNA izolasyonunda kullanılan fungal miselyumların süzülerek elde edilmesi

### 3.2.5. Soğan dip çürüklüğü hastalık etmeni izolatlarının PCR tekniği ile amplifikasyonu

Hastalıklı soğan bitkiciklerinden elde edilen re izolatların tanımlanmasında PCR yöntemi kullanılmıştır. PCR çalışmasında ITS1-5.8S-ITS2 DNA bölgesini kodlayan ve amplifikasyonu sağlayan iki primer (ITS-1 ve ITS-4) kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Soğan bitkisinden izole edilen *Fusarium oxysporum* izolatlarının teşhisi için kullanılan primer çifti ve baz dizilimi

| Hedef fungus        | Primer | Sekans (5'-3')        | T <sub>M</sub> | Büyüklik (bp) | Kaynak                   |
|---------------------|--------|-----------------------|----------------|---------------|--------------------------|
| <i>F. oxysporum</i> | ITS1F  | ACATACCACTTGTTCCTCG   | 58,,4          | 340           | Mishra ve ark.<br>(2003) |
|                     | ITS4R  | CGCCAATCAATTTGAGGAACG | 59,,5          |               |                          |

T<sub>M</sub>: Melting Temperature

PCR işleminde kullanılan solüsyonun hazırlanmasında 0,2 ml hacminde 96'lık PCR playtleri kullanılmıştır. PCR Solüsyonunun hazırlanmasında: 1 µl dNTP (5 mM) (Vivantis), 2 µl 10x PCR solüsyonu, 2,5 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM), primer çifti (1 µl (10 pmol) F ve 1 µl (10 pmol) R), 1 µl genomik DNA (10 ng), 11 µl dH<sub>2</sub>O ve 0,5 µl DNA Taq polimeraz kullanılarak toplam 20 µl solüsyon hazırlanmış ve Çizelge 3.3'deki gibi PCR programlanarak çalıştırılmıştır.

Çizelge 3.3. PCR işlemi için kullanılan program

| Sıcaklık (°C) | Zaman (sn) | Döngü |
|---------------|------------|-------|
| 94            | 180        | 1     |
| 94            | 30         | 35    |
| 57            | 30         |       |
| 72            | 60         |       |
| 72            | 300        | 1     |
| 4             | ∞          | -     |

Elektroforez işlemi için elde edilen PCR ürünleri 0,5X TBE (1 lt H<sub>2</sub>O + 5,4 g Tris + 2,75 g Borik Asit +0,5 M 2 ml EDTA (pH:8)) ile % 3'lük agaroz jel hazırlanmıştır. PCR ürünleri yükleme solüsyonu ile yükleme kuyucuklarına, 10 µl PCR ürünü ve 3 µl yükleme solüsyonu olacak şekilde yüklenmiş ve 50 mA'de yaklaşık 4 saat koşturulmuştur. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra jel ethidium bromür solüsyonunda (100 ml 1x TBE için 30 µl etidium bromüde) 15 dak. bekletilerek, jel görüntüleme cihazında, UV ışık altında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir.

### 3.2.6. ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgelerinin sekans analizleri

Fungal izolatların DNA ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesi ITS-1 ve ITS-4 primerleri kullanılarak PCR'da amplifiye edilmiştir. UV ışık altında görüntüleme sonucunda tek bant elde edilen ITS1-5.8S-ITS2 rDNA amplifikasyon ürünleri KSÜ ÜSKİM'de MacroGen Inc (Korea) firmasına ait automatic sequencer 3730XL kullanılarak sekanslandırılmıştır. Fungal izolatlara ait tek yönlü primer kullanılarak elde edilen ITS1-5.8S-ITS2 rDNA gen sekans verileri her bir izolata ait sekansı elde etmek için Clone Manager programına aktarılarak ITS sekansları elde edilmiştir. Bu sekanslar NCBI veri bankasında bulunan FOC'a ait Şekil 3.6'de verilen ITS1-5.8S-ITS2 rDNA (Acc. No. HQ658965) gen sekansı ve farklı *Fusarium* spp.'ler ile karşılaştırılmıştır. Dizilerin hizalanması için Clustal W ve Clustal X bilgisayar programları kullanılmıştır (Thompson ve ark., 1994). Clustal W online programı (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2>), nükleotid veya protein dizileri arasında homolog (benzer) bölgeleri hizalamak için yaygın olarak kullanılmaktadır ve karşılaştırılan diziler için bir homoloji skoru hesaplamaktadır. Dizi hizalanması sonucu elde edilen hesaplanmış genetik uzaklık veya benzerlik, her bir takson çifti arasındaki mesafelerin bir matrisinin oluşturulmasında kullanılabilirler. Filogenetik ilişkileri göstermek amacıyla Kimura-2-parametre modeli ve Neighbor-Joining metoduna göre MEGA 6.0 programı kullanılarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Oluşturulan ağaçtaki kladların istatistiksel olarak ne kadar desteklendiğini belirlemek amacıyla yine heuristic search algoritması kullanılarak bootstrap (10000 replikasyon) analizi yapılmıştır. Ayrıca farklı ağaç dallanma gösterimleri içinde treev32 ve SplitsTree programlarından yararlanılmıştır.

```
TTCCGTTGGTGAACCAGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCC  
TGTGAACATAACCACTTGTTCCTCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGA  
CGGCCCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTTCTGAGTAAAC  
CATAAATAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAG  
AACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTAATCATCGAA  
TCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCG  
TCATTTCAACCCTCAAGCACAGCTTGGTGTTGGGACTCGCGTTAATTCGCGTTCCT  
CAAATTGATTGGCGGTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAGTAAAACCCCTCGTT  
ACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCG  
GATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTTAAGCATA TCATTAAGCGGAGGAA
```

Şekil 3.6. NCBI veri bankasında bulunan FOC'a ait ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesini içeren rDNA gen bölgesinin dizisi

### 3.2.7. Soğan dip çürüklük hastalık etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* 'in biyolojik mücadelesiyle ilgili çalışmalar

#### 3.2.7.1. Fosfor çözücü PGPR'lerin izolasyonu

Biyolojik mücadele çalışmasında kullanılacak fosfor çözen PGPR'lerin izolasyonu için Amasya merkez ve ilçeleri (Suluova, Merzifon, Gümüşhacıköy, Taşova, Göynücek, Hamamözü) soğan üretim alanlarında diğer bitkilere göre daha iyi gelişim gösteren ve sağlıklı görünen soğan bitkilerinin kök bölgesi toprağından kılcal kökleri de içerecek şekilde örnekler alınmıştır (Şekil 3.7). Toplanan örnekler önce kurutma kâğıdına, sonra plastik torbalara konularak buzluk içerisinde laboratuvara getirilerek iki gün kuruması için bekletilmiştir. Kuruyan toprak örnekleri 2 mm çaplı eleklerden elendikten sonra 10 g toprak örneğı alınarak 90 ml fizyolojik su (% 0,85 NaCl) içerisinde iki saat 150 dev./dak.'da çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Süspansiyondan 1,0 ml alınıp içinde 9,0 ml fizyolojik su (% 0,85 NaCl) bulunan 15 ml'lik falkon tüpe ilave edilmiş ve tüp karıştırıcıda iyice karıştırıldıktan sonra 10 kat sulandırma serileri hazırlamak için tüplerden 1,0 ml alınarak, 9,0 ml fizyolojik su (% 0,85 NaCl) olan tüpe ilave edilmiştir. Bu 10 katlık seriler halinde hazırlanan süspansiyonlardan ikinci, üçüncü ve dördüncü sulandırma serilerinden 100 µl alınarak katı NBRIP (Nautiyal, 1999) besi ortamına yüzeysel ekim yöntemiyle ekim yapılmış ve  $25 \pm 1$  °C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra besi ortamında fosforu çözerek zon oluşturan koloniler seçilerek çizgi ekim yöntemiyle saf kültür elde edinceye kadar katı King B (KB) besi ortamında ekim yapılmıştır. Elde edilen saf kültürler 10 ml'lik falkon tüpleri içerisindeki 5,0 ml sıvı Nutrient Broth (NB) besi ortamına ekilerek çalkalayıcı inkübatörde  $25 \pm 1$  °C'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda Sıvı NB'de gelişen izolatlardan 200 µl ve % 40'luk Glycerol 'de 200 µl alınarak 2 ml'lik cryo tüplerde karıştırılmış ve tüpler etiketlenerek -20 °C'de stoklanmıştır.

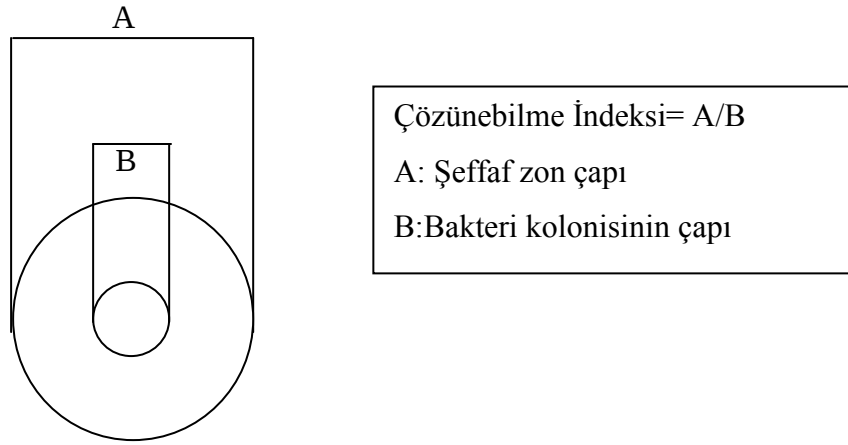


Şekil 3.7. Fosfor çözen kök bakterilerinin izole edildiği soğan bitkisi kök kısmı ve toprağı

PGPR izolatlarının sıvı ve katı ortamda fosfatı indirgeme özellikleri Nautiyal ve ark., (1999) ve Johri ve ark., (1999) göre hesaplanmıştır. PGPR izolatları aynı zamanda patatesta pektolitik aktivite, tütün’de aşırı duyarlılık reaksiyonu, levan oluşumu, oksidaz testi ve katalaz özellikleri Lelliott ve Stead (1987)’ye göre belirlenmiştir.

#### **3.2.7.2. PGPR’ lerin fosfatı indirgeme özelliğinin hesaplanması**

Topraktan izole edilen bakterilerin fosforu (P) çözme özelliklerini belirlemek için iki yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde topraktan izole edilen PGPR izolatları steril kürdan yardımı ile katı NBRIP besi ortamına nokta ekim yapılmış ve her bir petride 9 izolat olacak şekilde ekilmiştir. Deneme 3 tekrarlı olarak kurularak  $27 \pm 1$  °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Bir hafta sonunda fosfor çözme indeksinin hesaplanmasında besi ortamında bakteri kolonisinin etrafındaki şeffaf zon çapı ve bakteri kolonisinin çapı ölçülüp elde edilen değerler birbirine oranlanarak belirlenmiştir (Şekil 3.8) (Johri ve ark., 1999).



Şekil 3.8. Katı NBRIP besi ortamında PGPR izolatlarının fosfor çözme indeksinin hesaplanmasında kullanılan yöntem

PGPR izolatlarının seçiminde kullanılan ikinci yöntemde NB ortamında geliştirilen izolatlar 10 ml sıvı NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium) besi ortamı içeren tüplere üç tekerrürlü olarak ekilmiştir. Toprakta izole edilen bakteri izolatları sıvı NBRIP besi ortamında bir hafta 150 dev./dak. dönen çalkalayıcıda  $27 \pm 1$  °C'de geliştirilmiştir (Nautiyal ve ark., 1999). Daha sonra bakterileri, suda çözülmeyen katı maddeleri ve  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 'yi çöktürmek için tüpler 10.000 dev./dak'da 10 dakika santrifüj yapılmış ve süpernatant elde edilmiştir. Supernatant kısımdan pipet yardımı ile 1 ml alınarak 10 ml'lik yeni tüplere aktarılmıştır. İçinde 1 ml süpernatant bulunan tüplere 5 ml saf su eklenerek seyreltilmiştir. Oluşan karışım üzerine 1 ml Barton çözeltisi eklendikten sonra 30 dak. karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Spektrofotometrik analizler için stok fosfor çözeltisi ile farklı ppm dozlarında (0, 10, 25, 50, 100, 200 ppm) beş standart çözelti hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler 430 nm'de ölçülmüş ve absorbans değerleri kaydedilmiştir. Karanlık ortamda inkübe edilen çözeltilerde çözünmüş halde ne kadar fosfor bulunduğu 430 nm'de spektrofotometrede ölçülerek elde edilen absorbans değerleri, standart çözeltilerin absorbans değerleri ile kıyaslanarak ppm düzeyinde hesaplanmıştır.

### 3.2.7.3. PGPR izolatlarının ön eleme testleri

Katı ve sıvı besi ortamında fosfor çözme değerleri hesaplanan PGPR izolatlarının bitki patojeni olup olmadıklarının saptanması için tütünde aşırı duyarlılık testleri (Klement, 1963) ve Pektolitik Aktivite testleri Lelliot ve Stead (1987)'ye göre yapılmıştır.

### 3.2.7.3.1. PGPR izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık testleri

NA besi ortamında 24 - 48 saat geliştirilen izolatlar fizyolojik su kullanılarak 600 nm'de 0,1 absorbans değerine ayarlanarak bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyon daha önce yetiştirilen White Burley çeşidi tütün bitkisinin yapraklarının damar aralarına bir enjektör yardımıyla enjekte edilmiştir (Şekil 3.9). İnokulasyon bölgesinde 24 saat içinde derimsi kuruma gösteren belirti pozitif olarak değerlendirilmiştir (Klement, 1963). Bu çalışmada pozitif kontrol amacıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* bakteri süspansiyonu kullanılmış, ayrıca negatif kontrol olarak da yapraklara fizyolojik su enjekte edilmiştir.



Şekil 3.9. Tütünde aşırı duyarlılık testi için tütün yaprak damar arasına bakteri süspansiyonun enjekte edilmesi

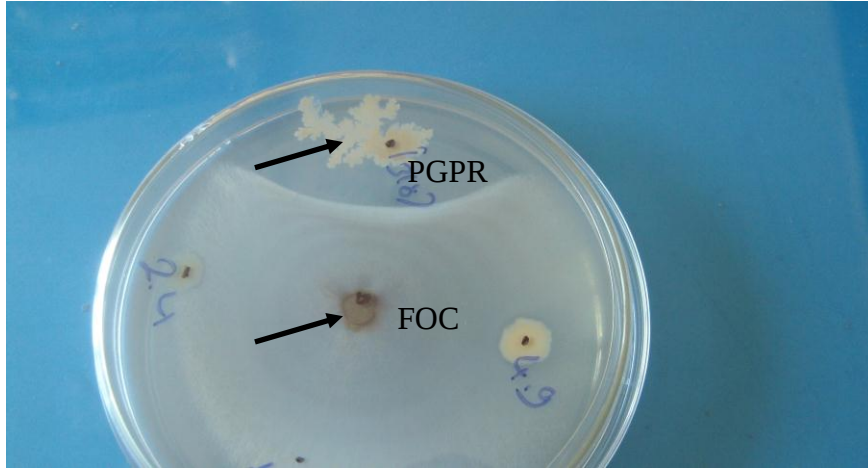
### 3.2.7.3.2. PGPR izolatlarının pektolitik aktivite testler

Pektolitik aktivite testi için patates (*Solanum tuberosum*) dilimleri kullanılmıştır. Patateslerin yüzeysel sterilizasyonu için deterjan eklenmiş suda fırçalanarak yıkanmış ve % 1'lik NaOCl'de 3 dak. bekletilmiştir. NaOCl'i yüzeyden uzaklaştırmak için 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Bu işlemden sonra steril bir bisturi ile kabukları soyulmuştur. Steril ıslak filtre kağıdı içeren steril petri içine kabuğu soyulmuş 1 cm kalınlığındaki patates dilimleri yerleştirilmiştir. Bir öze dolusu bakteri kültürü patates dilimi üzerine bulaştırılmıştır.

Negatif kontrol olarak su kullanılmıştır. 25 °C’de iki günlük inkübasyondan sonra değerlendirme yapılmıştır. İnokule edilen bölgedeki yumuşama ve çürüme pozitif olarak kabul edilmiştir. (Lelliot ve Stead, 1987).

#### 3.2.7.4. PGPR izolatlarının antagonistik ve siderefor etkilerinin belirlenmesi

PGPR bakteri izolatlarının FOC’a karşı antifungal etkilerini belirlemek amacı ile 3 tekerrürlü olarak *in vitro*’da ikili kültür testleri yapılmıştır. Bu amaç ile NA besi ortamında 24-48 saatlik geliştirilen bakteri izolatları steril fizyolojik su (% 0,85 NaCl) ile 600 nm’de 0,1 absorbans değerine ayarlanmış bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. PDA besi ortamı bulunan petri kaplarına petri merkezinden 25 mm uzaklıktaki üç noktaya PGPR süspansiyonu, bir noktaya ise kontrol olarak steril fizyolojik su 5 µl olacak şekilde damlatılmıştır. Bakteri inokulasyonundan 24 saat sonra bir hafta PDA besi ortamında geliştirilen FOC’a ait 10 mm çaplı agar plağı alınarak bakterilerin ekilmiş olduğu petrinin merkezine konulmuştur (Şekil 3.10). Besi ortamında 26 °C’de 7 gün boyunca inkube edilmiş ve bakterilerin inokule edildiği bölgede gelişen fungus kolonisi yarıçapı ölçülerek bakteri inokulasyonu yapılmayan bölgede gelişen fungus kolonisi yarıçapı ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.10. PGPR izolatlarının *in vitro* ortamda FOC’a karşı antagonistik özellikleri

PGPR izolatlarının antagonistik özelliği Abbott % engelleme formülüne göre hesaplanmıştır (Şekil 3.11). Antagonistik izolatların etkileri istatistikî olarak Duncan çoklu karşılaştırma testi ile 0,05 önem seviyesinde karşılaştırılmıştır. PGPR izolatlarının siderefor etkisi Kloepper ve ark. (1980) ile Bora ve Özaktan (1998)’a göre yukarıda anlatılan antagonistik etki belirleme yöntemine (3.2) göre yapılmıştır. Fakat burada PDA besi ortamı içerisine litreye 80 µM FeCl<sub>3</sub> ilave edilmiştir.

$$\% \text{ Engelleme} = \frac{\left\{ \begin{array}{c} \text{Negatif kontrol fungus} \\ \text{yarıçapı} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{c} \text{Bakteri inokülasyonu} \\ \text{yapılmış yarıçapı} \end{array} \right\}}{\text{Negatif kontrol fungus yarıçapı}} \times 100 \quad (3.2)$$

Şekil 3.11. PGPR izolatlarının *in vitro* ortamda FOC'a karşı antagonistik değerlerini hesaplanmasında kullanılan formül

### 3.2.7.5. PGPR izolatlarının seçimi yapılan biyokimyasal testler

Soğan rizosferinden izole edilen PGPR izolatları arasında seçim fosfat çözme özelliklerine göre ve tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu ve patatestte çürüme yapmayan toprakbakterilerinden seçilmiştir. Tütünde aşırı duyarlılık testinde ve pektolitik aktivite testlerinde negatif sonuç veren izolatlar arasından sıvı besi ortamında en fazla fosfor çözen 10, fosfor çözme indeksi en yüksek olan 2 ve *in vitro* ortamda FOC'a karşı antagonistik 3 adet PGPR izolatı seçilerek saksı çalışmalarında kullanılmıştır. Seçilen bu PGPR izolatların karakterizasyonu morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal testler ve BIOLOG GENIII otomatik tanılama sistemi ile yapılmıştır.

#### 3.2.7.5.1. Levan oluşumu

Bu biyokimyasal test için Nutrient Agar ortamına % 5 oranında sakkaroz eklenmiş Sakkaroz Nutrient Agar besi ortamı kullanılmıştır. Seçilen 15 adet PGPR izolatı çizgi ekim yöntemi ile besi ortamına ekildikten sonra 25 °C'de 3 - 4 gün inkübe edilmiştir. Kalın, konveks, beyaz, mukoid koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

#### 3.2.7.5.2. Oksidaz testi

Taze hazırlanmış % 1'lik N; N; N; N' - Tetramethyl- 1.4 phenylene diammonium diclorid çözeltisi steril filtre kağıdına bir damla damlatılmıştır. Seçilmiş PGPR izolatlarının 48 saatlik taze kültürü kürdan ile filtre kâğıdına çizildiğinde koyu mavi-mor renk 10 saniye içerisinde oluşturanlar pozitif, 10 - 60 sn içinde oluşturanlar zayıf pozitif, renk değiştirmeyenler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Kovaks, 1956).

### 3.2.7.5.3. Katalaz Testi

Nutrient Agar (NA) besi ortamında bakteri izolatları 25 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra gelişen koloniler üzerine 1 ml % 3'lük taze hazırlanmış hidrojen peroksit damlatılmıştır. Bakteri kolonisi üzerinde birkaç saniye içinde katalaz aktivitesi sonucu açığa çıkan oksijen kabarcıkları pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

### 3.2.7.6. Bakteri izolatlarının BIOLOG sisteminde tanınması

Seçilen bakteri izolatları BIOLOG GENIII sistemi yardımı ile metabolik enzim profilleri ortaya konularak tanınmıştır. Bu çalışmada sadece denemelerde kullanılacak bakterileri izolatları BIOLOG GEN III tanılama sistemine göre tanınmıştır. İzolatların tanımlamasında kullanılan The Biolog GEN III Micro Pleytleri (BIOLOG 21124 Cabot Blvd. Hayward, CA 94545), Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilerin tür seviyesinde tanınması için 94 biyokimyasal testin kullanıldığı, standart bir otomatik tanılama sistemidir (Çizelge 3.4) (Bochner, 1989a ve 1989b). Tanısı yapılacak izolatların metabolik profillerin belirlemek amacı ile; bakteri izolatları Bug Agar besi ortamında 32 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bakteri izolatları BIOLOG IF-A tampon çözeltisinde süspansiyon hazırlanmış ve bakteri konsantrasyonu turbidimetre ile absorbans değeri % 92 - 98 olarak ayarlanmıştır. Yoğunlukları ayarlanan bakteriyel süspansiyonları mikropleytlerdeki her bir çukura 100 µl konulmuş ve 32°C'de 20-24 saat inkübe edilmiştir (Anonymous, 2008). Daha sonra mikropleytler pleyt okuyucuda okutularak sistemin veri bankası ile karşılaştırılarak bakteri teşhisi yapılmıştır. BIOLOG otomatik tanılama sisteminde MicroLog 3/5.2.01 33 versiyonu kullanılmıştır

Çizelge 3.4. Biolog GEN III Micro Pleytlerinin (BIOLOG 21124 Cabot Blvd. Hayward, CA 94545) her bir çukurunda bulunan karbon, azot ve stres faktörleri

|    | A                | B                                   | C                   | D                       | E                    | F                         | G                             | H                                  |
|----|------------------|-------------------------------------|---------------------|-------------------------|----------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1  | Negatif kontrol  | D-Raffinose                         | $\alpha$ -D-Glucose | D-Sorbitol              | Gelatin              | Pectin                    | p-Hydroxy-Phenylacetic Acid   | Tween 40                           |
| 2  | Dextrin          | $\alpha$ -D-Lactose                 | D-Mannose           | D-Mannitol              | Glycyl-L-Proline     | D-Galacturonic Acid       | Methyl Pyruvate               | $\gamma$ -Amino-Butyric Acid       |
| 3  | D-maltose        | D-Melibiose                         | D-Fructose          | D-Arabitol              | L-Alanine            | L- alactonic Acid Lactone | D-Lactic Acid Methyl Ester    | $\alpha$ -Hydroxybutyric Acid      |
| 4  | D-Trehalose      | $\beta$ - Methyl-D-Glucoside        | D-Galactose         | Myo-Inositol            | L-Arginine           | D-Gluconic Acid           | L-Lactic Acid                 | $\beta$ - Hydroxy-D, L-ButyricAcid |
| 5  | D-Cellobiose     | D-Salicin                           | 3-Methyl Glucose    | Glycerol                | L-Aspartic Acid      | D-Glucuronic Acid         | Citric Acid                   | $\alpha$ -Keto-Butyric Acid        |
| 6  | Gentiobiose      | N-Acetyl-D-Glucosamine              | D-Fucose            | D-Glucose-6- Phosphate  | L-Glutamic Acid      | Glucoron amide            | $\alpha$ -Keto- Glutaric Acid | Acetoacetic Acid                   |
| 7  | Sucrose          | N-Acetyl- $\beta$ -D- Mannosa- mine | L-Fucose            | D-Fructose-6- Phosphate | L-Histidine          | Mucic Acid                | <b>D</b> -Malic Acid          | Propionic Acid                     |
| 8  | D- Turanose      | N-Acetyl-D- Galactosami ne          | L-Rhamnose          | D-Aspartic Acid         | L- Pyroglutamic Acid | Quinic Acid               | L-Malic Acid                  | Acetic Acid                        |
| 9  | Stachyose        | N-Acetyl Neuraminic Acid            | Inosine             | D-Serine                | L-Serine             | D-Saccharic Acid          | Bromo- Succinic Acid          | Formic Acid                        |
| 10 | Positive Control | %1 NaCl                             | %1 Sodium Lactate   | Troleando- mycin        | Lincomycin           | Vanco-mycin               | Nalidixic Acid                | Aztreonam                          |
| 11 | pH 6             | %4 NaCl                             | Fusidic Acid        | Rifamycin SV            | Guanidine HCl        | Tetrazolium Violet        | Lithium Chloride              | Sodium Butyrate                    |
| 12 | pH 5             | %8 NaCl                             | D-Serine            | Minocycline             | Niaproof 4           | Tetrazolium Blue          | Potassium Tellurite           | Sodium Bromate                     |

### 3.3. *İn vivo* Saksı Çalışmaları

#### 3.3.1. Denemede kullanılan toprağın temini, hazırlanması ve kimyasal özellikleri

Saksı denemesinde kullanılacak toprağın belirlenmesi için arazi çalışması yapılarak bitki örtüsünün zayıf olduğu 6 lokaliteden 30 cm derinlikten toprak örnekleri alınmıştır. Toprak örneklerinin fosfor analizi Merzifon Su ve Toprak Analiz Laboratuvarında yapılarak toprakta çözülebilir fosfor miktarı belirlenmiştir. Bu topraklar içerisinde en düşük çözülebilir fosfor (5,58 ppm) miktarına sahip çalışmada kullanılmıştır. Saksı çalışması için yeterli olacak şekilde fosfor bakımından fakir olan 5 numaralı Suluova bölgesindeki lokaliteden alınan toprak deneme alanına getirilmiştir (Şekil 3.12). Saksı denemesinde kullanılan olan fosfor bakımından fakir toprağa % 5 oranında kaya fosfatı eklenerek karıştırılmıştır (Şekil 3.13).



Şekil 3.12. Fosfor bakımından fakir olarak belirlenen toprağın saksı denemesi için araziden alınması



Şekil 3.13. Fosfor bakımından fakir olan deneme toprağına % 5 oranında kaya fosfatı eklenmesi

### 3.3.2. PGPR izolatlarının soğan dip çürüklüğü hastalık çıkışı ve bitki gelişimi üzerine etkisi

#### 3.3.2.1. PGPR izolatlarının soğan dip çürüklüğü hastalık çıkışı üzerine etkisi

Fosfatı çözme değeri en yüksek 12 izolat ile *in vitro*'da antagonist özellik gösteren 3 PGPR izolatın FOC'un neden olduğu Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı ve bitki gelişimi üzerine etkisi saksı çalışmaları ile araştırılmıştır. Deneme 2016 yılı Şubat – Eylül ayları arasında sera ve açık alan koşullarında gerçekleştirilmiştir. Deneme boyunca ortam sıcaklık değişimleri IG-150 sıcaklık kayıt cihazı ile kayıt altına alınmıştır. Çalışmada duyarlı çeşit olarak Kantartopu, dayanıklı çeşit olarak da Banko soğan çeşitleri kullanılmıştır. Hastalık etmeni olarak yüksek derece virülens olan FOC (İB-57) izolatı ( $1 \times 10^6$  spor/ml), negatif kontrol olarak ise steril su kullanılmıştır. Hastalık denemesinde şahit olarak ISR 2000 (*Lactobacillus acidophilus* + maya ekstraktı + bitki ekstraktı + benzoik asit) (Improcrop Firması) adlı bitki aktivatörü firma tarafından önerilen dozda (L/1ml) kullanılmıştır. Deneme öncesinde soğan tohumlarının çimlenme oranları, ISTA (Uluslararası Tohum Test Birliği) kurallarına göre belirlenmiştir. Soğan (*Allium cepa* L.) tohumları çimlenme deneyi öncesi % 1'lik NaOCI'de 2 dak. yüzeysel olarak steril edilmiştir. NaOCI'yi tohum yüzeyinden uzaklaştırmak için saf su ile yıkanmış ve her iki soğan çeşidinin tohumları çift katlı filitre kâğıtları bulunan 9 cm çaplı petri kaplarına aktararak steri su ile nemlendirilmiştir. Herbir tohum çeşidi için 3 petri kabı kullanılmış ve her petri kabında 100 tohum olacak şekilde tohumlar yerleştirilmiştir. Bu petri kapları 15 gün boyunca 25 - 27 °C'de muhafaza edilmiştir. Tohumların çimlenme durumunda radikulanın testadan dışarı çıkması çimlenme kriteri olarak değerlendirilmiş ve deneme sonunda her petrideki bu şekilde çimlenen tohumlar sayılarak tohumların % çimlenme oranları hesaplanmıştır.

King B besi ortamında  $25 \pm 1$  °C'de 24 - 48 saat geliştirilmiş olan PGPR izolatlarının yoğunluğu fizyolojik su ile spektrofotometre'de 600 nm dalga boyunda 0,3 absorbans değerine ayarlanmıştır. Yüzeysel steril ederek yıkanan 1 g tohuma 10 ml olacak şekilde hazırlanan bakteri süspansiyona karboksi metil selulaz (CMC) eklenerek bir gece süreyle bekletilmiştir (Şekil 3.14). Bakterilerin kümeleşerek yapışmasını önlemek ve homojen dağılımını sağlamak için süspansiyona 1-2 damla Tween 80 ilave edilmiştir (Ramamoorthy ve ark., 2002). ISR 2000 uygulamasında ise tohumlar firma tarafından önerilen dozda solüsyon hazırlanarak tohumlar bir gece solüsyonda bekletilmiştir.



Şekil 3.14. Tohumların PGPR bakterileri ile inokulasyon yapılması

Kaya fosfatı eklenmiş deneme toprağı 15 x 28 cm ölçülerindeki poşet saksılara doldurulmuştur. İnkubatorde 7 - 8 gün inkübe edilerek konidiospor oluşması sağlanan FOC izolatu steril saf su yardımı ile  $1 \times 10^6$  spor/ml konidiospor yoğunluğuna ayarlanarak her saksıya 250 ml inokule edilmiştir. Negatif kontrole ise aynı miktarda saf su eklenmiştir. Bir hafta sonra PGPR bakteri ve ISR 2000 inokulasyonu yapılan soğan tohumlarının saksılara ekimi yapılmıştır (Şekil 3.15). Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre her bir saksıda 1 bitki olacak şekilde 6 tekrarlı olarak düzenlenmiştir.



Şekil 3.15. PGPR bakteri inoküle edilmiş tohumların saksılara ekimi

Bitkiler düzenli olarak eşit miktarda sulanmıştır. Altı ayın sonunda bitkiler sökülerek kök, kök boğazları ve yapraklar incelenmiş meydana gelen hastalık şiddeti 0 - 4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Kehr ve ark.,1962) (Çizelge 3.5; Şekil 3.16). Skalaya göre elde edilen değerler Townsend–Heuberger formülüne uygulanarak bitkilerdeki hastalık şiddeti hesaplanmıştır. Hastalık şiddeti değeri kullanılarak Abbott formülü ile bakteri izolatlarının % etkileri belirlenmiştir. Uygulamalar arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile 0,05 önem seviyesinde karşılaştırılmış ve PGPR izolatlarının etkinliği aşağıda verilen % Abbot formülüne (3.3) göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Etki} = \frac{X-Y}{X} \times 100 \quad (3.3)$$

X= Pozitif kontroldeki hastalık yüzdesi

Y= Uygulamalardaki hastalık yüzdesi

Çizelge 3.5. PGPR izolatlarının soğan dip çürüklüğüne etkisinin değerlendirme skalası (Kehr ve ark.,1962)

| İndeks | Hastalık Belirtisi (%) | Hastalık Tanımı                                                   |
|--------|------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 0      | 0                      | Hastalık Belirtisi yok                                            |
| 1      | 1 - 25                 | Yaprak uçlarında sararmalar ve kök gelişiminde azalma             |
| 2      | 26 - 50                | Yapraklarda boydan boya sararmalar ve kök yapısı son derece zayıf |
| 3      | 51 - 99                | Bitkinin tamamına yakınında sararma ve kök kısmının çürümesi      |
| 4      | 100                    | Bitkinin tamamen sararması ve kök bölgesinin çürümesi             |



Şekil 3.16. Hastalık değerlendirme skalasında kullanılan bitkilerin kök ve yaprak görünüşleri

### 3.3.2.2. PGPR izolatlarının bitki gelişimi üzerine etkisi

Çalışmada 15 PGPR izolatı, şahit uygulama (ISR 2000) ve negatif kontrol olmak üzere toplam 17 uygulama kullanılmıştır. Fosfor bakımından fakir ve % 5 oranında kaya fosfatı eklenmiş deneme toprağının ve tohumların ekime hazırlanması, tohumların saksılara ekimi yukarıda anlatılan yöntemle göre yapılmıştır. Farklı olarak deneme toprağına hastalık etmeni FOC inokule edilmemiştir. Deneme yeri sıcaklık değişimi tüm uygulamalarda kayıt cihazı ile kaydedilmiştir.

PGPR izolatlarının bitki gelişimine etkisini belirlemek için ISR 2000, negatif kontrol ve PGPR uygulaması yapılan soğan bitkilerinin hasat sonunda aşağıdaki ölçümler yapılmıştır.

- 1. Yaprak Sayısı:** Soğan bitkisinde bulunan tüm yaprakların adet olarak ifadesidir.
- 2. Yaprak Uzunluğu:** Soğan bitkisinde yaprakların çıkmaya başladığı kısımdan yaprakların en uç noktasına kadar olan kısım cetvel ile ölçülerek cm olarak ifade edilmiştir.
- 3. Baş soğan çapı:** Soğan baş orta noktası olan ekvatorial kısmın kumpas yardımı ile ölçülüp cm olarak ifade edilmiştir.
- 4. Baş soğan yaş ağırlığı:** Baş soğanların kökleri kesildikten sonra kalan baş kısmı hassas terazi ile tartılarak gr olarak ifade edilmiştir.

**5. Baş soğan kuru ağırlığı:** Baş soğanların kökleri kesildikten sonra kalan baş kısmı kese kağıtları içerisinde konmuş ve 80  C'deki etüvde tartılınca ağırlıkları değişmeye ne kadar kurutulmuştur (Nejad ve Johnson., 2000). Baş soğanlar hassas terazide tartılarak gr olarak ifade edilmiştir.

**6. Bitki Kök Uzunluğu:** Baş soğan dip kısmındaki kök çıkıs noktasından en uzun köke kadar olan kısım cetvel ile ölçülerek cm olarak ifade edilmiştir.

Uygulamaların bitki gelişimindeki istatistikî etkisi SPSS 20 programı kullanılarak Duncan oklu karşılaştırma testi ( $p \leq 0,05$ ) ile kendi aralarında karşılaştırılmıştır. PGPR izolatlarının bitki gelişimine % etkisi negatif kontrol ile karşılaştırılarak hesaplanmıştır.



## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Soğan Dip Çürüklük Hastalık Etmeninin İzolasyonu

Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı etmeninin izolasyonu için yapılan arazi gözlemlerinde hastalık soğan bitkilerinde başlangıçta yapraklarda sararma ve bitkilerde gelişme geriliği olarak belirtilenlerini göstermiş, hastalık ilerledikçe özellikle yapraklardaki kurumalar, gözlemlenmiştir (Şekil 4.1). Bitkinin topraktan sökölmesi ile kök gelişiminde gerileme gözlemlenmiş, şiddetli enfeksiyonlarda ise kök tamamen çürümüş ve bitki ölümü meydana gelmiştir (Şekil 4.2). Soğan dip çürüklüğü etmeninin izolasyonu için Nisan - Eylül 2015 arasında Amasya Merkez ilçe, Suluova, Merzifon, Gümüşhacıköy, Göynücek, Hamamözü ve Taşova ilçesinde soğan üretimi yapılan alanlarda tesadüfî bir şekilde 10'ar farklı soğan üretim alanı gezilmiştir. Sörvey yapılan soğan ekim alanlarından Suluovada 8, Merzifon 6, Gümüşhacıköy 7, Göynücek 5, Hamamözü 5 ve Taşova ilçesinde 4 ekim alanında hastalık belirtisi gösteren bitkiler gözlemlenmiştir.

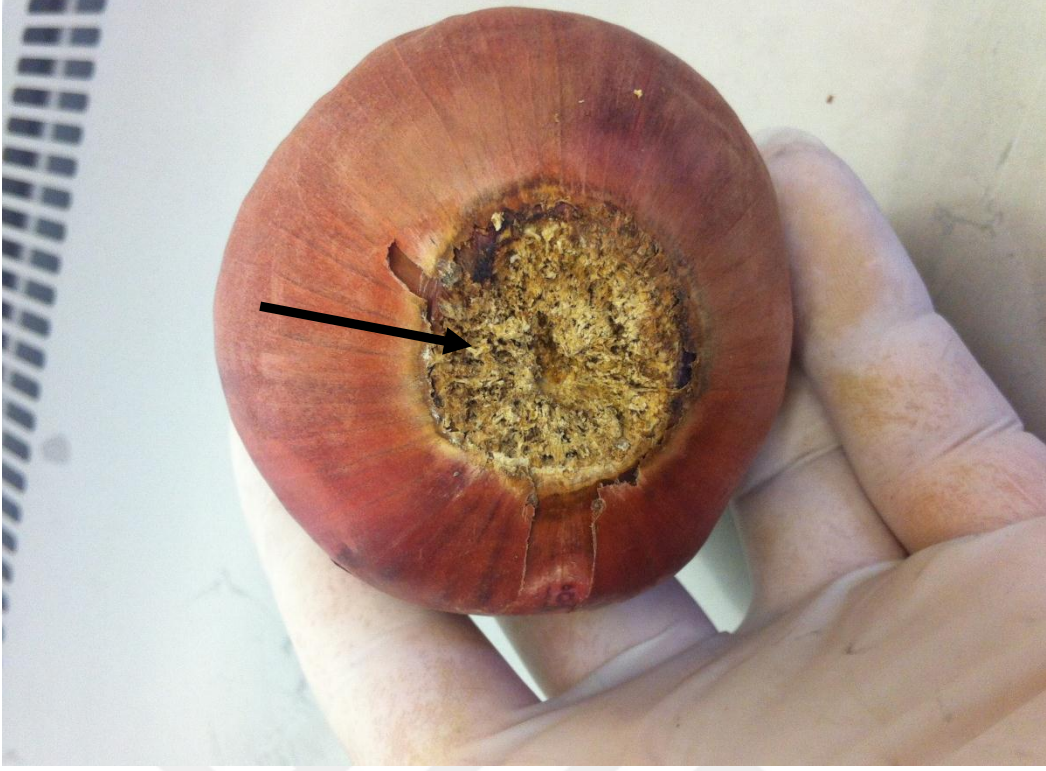
Amasya ilinde ilçeler düzeyinde üretim alanlarında simptomolojik olarak yapılan gözlemlere dayanarak Soğan Dip Çürüklüğü hastalığının ilçelere göre % 40 - 80 arasında ekim alanlarının yaygın olduğu tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirmede Suluova ilçesinde soğan ekim alanlarının % 80 oranında, Taşova ilçesinde ise % 40 oranında dip çürüklüğü hastalığı etmeni ile yaygın olduğu tespit edilmiştir. Dip çürüklüğü hastalığının görüldüğü ekim alanlarından hastalık belirtisi gösteren 3'er bitki ve toplam 105 adet Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığının görüldüğü soğan örneği alınmıştır (Şekil 4.3). Dip çürüklüğü hastalığı görülen soğanlardan PDA besi ortamı kullanılarak izole edilen beyaz, krem, pembe, bordo ve tonlarındaki misel rengine sahip funguslar (Şekli 4.4) ve fungusların tek spor yolu ile saflaştırılması ile *Fusarium* spp. izolatları elde edilmiştir (Şekil 4.5). İzolasyon sonucunda Suluova'dan 45, Merzifon'dan 22, Gümüşhacıköy'den 27, Göynücek 23, Hamamözü 15 ve Taşova 18 olmak üzere toplam 150 adet *Fusarium* spp. izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlardan 114 adet *Fusarium* spp. izolatının patojen olduğu belirlenmiştir. *Fusarium* spp. izolatlarının belirlenmesinde mikroskopik yöntem kullanılmıştır.



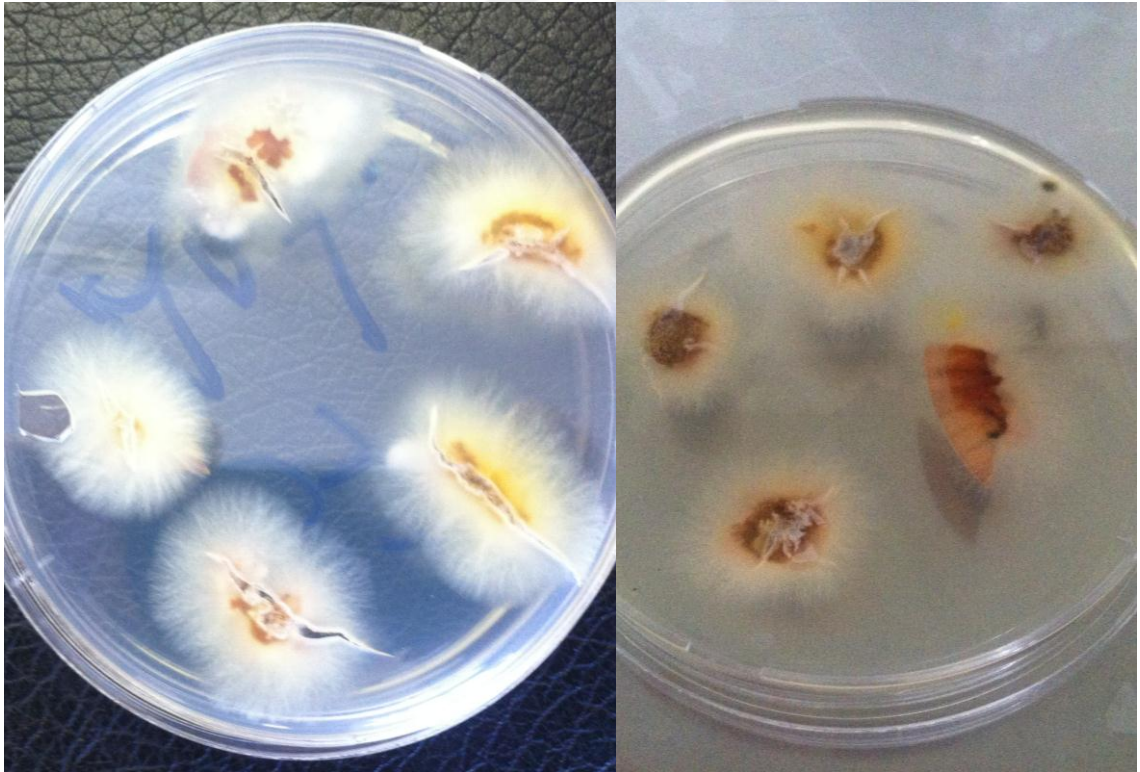
Şekil 4.1. a) Sağlıklı ve b) Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı görülen soğan bitkilerinin görünümleri



Şekil 4.2. Soğan bitkisinde şiddetli Soğan Dip Çürüklüğü hastalığının görünümü



Şekil 4.3. Baş soğanın dip kısmında Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığının görünümü



Şekil 4 .4. Hastalıklı soğanlardan PDA besi ortamında gelişen farklı morfolojideki *Fusarium* spp. izolatları



Şekil 4. 5. Hastalıklı bitki dokusundan saflaştırılan farklı *Fusarium* spp. izolatlarının genel görünümü

Amasya ili soğan ekim alanlarında kök çürüklüğü etmeni FOC'un yaygın olarak bulunması aynı zamanda yüksek oranda hastalık şiddeti oluşturduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda ilçeler düzeyinde sörvey yapılan soğan ekim alanlarının % 40 - 80 arasında soğan dip çürüklük hastalık etmeni ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Türkkan ve Karaca (2006), Amasya ili soğan ekim alanlarında görülen fungal kök çürüklüğü hastalık etmenleri, yayılışları ve yoğunluklarını yaptıkları çalışma ile belirlemişlerdir. İncelemeleri sonucunda, kuru soğan alanlarında kök çürüklüğü hastalığının % 95,7-100 oranında hastalık etmenleriyle bulaşık olduğu saptamışlardır. Kök çürüklüğü hastalığının görüldüğü bitkilerden

yaptıkları izolasyonlarda, % 91,6 oranında *Fusarium* spp., % 4,2 oranında *Rhizoctonia* spp., % 1,9 oranında *Sclerotium cepivorum*, % 1,5 oranında *Pythium oligandrum* izole etmişlerdir. Bu çalışmalar bölgede Soğan Dip Çürüklüğünün yaygın olduğunu ve en önemli patojenin *Fusarium* spp. türleri olduğunu göstermektedir.

FOC'un hastalıklı baş soğanların dip kısmından izolasyonu ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan Rauf ve Javaid (2013), yaptığı çalışmada *Chenopodium album*'dan farklı kimyasallar kullanarak elde ettiği bitki eksatraklarının *in vitro* ortamda FOC'a karşı aktivitelerini araştırmışlardır. Hastalık etmeni fungusu PDA besi ortamı kullanılarak baş soğan dip kısmından izole edilmiştir. Biz de çalışmamız da kullandığımız FOC benzer şekilde PDA besi ortamı kullanılarak hastalıklı baş soğanların dip kısımlarından izole edilmiştir.

#### **4.2. Soğan Dip Çürüklüklüğü Hastalık Etmeni İzolatlarının Virülensliğinin Belirlenmesi**

İzole edilen 150 adet *Fusarium* spp. bölge izolatının virülenslik testlerinde 114 izolat inokulasyondan sonraki 8 hafta içerisinde Kantartopu soğan fidelerinde kahverengilikler, yapraklarda ve dallarda solgunluk ve bazı bitkilerde ölüm meydana gelmiştir. İzolatların virülenslik derecelerine göre simptom gelişim hızı ve şiddetinde değişiklikler saptanmıştır. Patojenite denemesi sonucunda sökülen soğan bitkileri 0 - 4 hastalık skalasına göre değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak saf su ile inokule edilen deneme toprağında yetişen bitkilerde herhangi bir hastalık simptomu gözlenmemiştir (Şekil 4.6). İzolatlar arasında % 78,3 ile en yüksek hastalık şiddeti oluşturan İB-57, İB-66, İB-87, İB-107, İB-109 izolatları Suluova'dan; İB-114 izolat ise Gümüşhacıköy ilçesindeki soğan ekimi yapılan alanlardan alınan hastalıklı bitkilerden izole edilmiştir. Virülenslik testinde 43 adet *Fusarium* spp. izolatın meydana getirdiği hastalık şiddeti > % 70 olduğu için yüksek virülens, 68 adet *Fusarium* spp. izolatının hastalık şiddeti ise % 30 - 70 arasında bulunduğu için orta deceli virülens, 3 *Fusarium* spp. izolatın hastalık şiddeti ise % 30'un altında olup düşük şiddetli virülens olarak sınıflandırılmıştır. 36 *Fusarium* spp. izolatı ise hiçbir hastalık belirtisi göstermemiştir. Yüksek derece virülens olan *Fusarium* spp. izolatlarının hastalık şiddetleri istatistiki olarak kendi aralarında karşılaştırmaları Çizelge 4.1.'de izole edilen tüm *Fusarium* spp. izolatlarının hastalık şiddetleri ise EK-2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Yüksek derece virülens olan *Fusarium* spp. izolatlarının kantartopu soğan çeşidi üzerinde göstermiş olduğu hastalık şiddetleri

| İzolat No   | Hastalık Şiddeti $\pm$ SS   | İzolat No | Hastalık Şiddeti $\pm$ SS   |
|-------------|-----------------------------|-----------|-----------------------------|
| Kontrol(K-) | 0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>  | İB-94     | 76,0 $\pm$ 3,0 <sup>b</sup> |
| İB-107      | 78,3 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup> | İB-25     | 75,3 $\pm$ 4,0 <sup>b</sup> |
| İB-57       | 78,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-32     | 75,0 $\pm$ 5,0 <sup>b</sup> |
| İB-66       | 78,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-48     | 75,0 $\pm$ 5,0 <sup>b</sup> |
| İB-87       | 78,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-53     | 75,0 $\pm$ 5,0 <sup>b</sup> |
| İB-109      | 78,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-92     | 75,0 $\pm$ 5,0 <sup>b</sup> |
| İB-114      | 78,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-129    | 75,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup> |
| İB-49       | 77,6 $\pm$ 6,4 <sup>b</sup> | İB-3      | 75,0 $\pm$ 5,0 <sup>b</sup> |
| İB-10       | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-39     | 73,3 $\pm$ 7,6 <sup>b</sup> |
| İB-61       | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-56     | 73,3 $\pm$ 7,6 <sup>b</sup> |
| İB-67       | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-123    | 73,3 $\pm$ 7,3 <sup>b</sup> |
| İB-89       | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-19     | 73,3 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup> |
| İB-101      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-38     | 73,3 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup> |
| İB-113      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-84     | 73,3 $\pm$ 5,7 <sup>b</sup> |
| İB-115      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-21     | 73,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> |
| İB-121      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-60     | 73,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> |
| İB-124      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-136    | 73,3 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> |
| İB-125      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-1      | 71,6 $\pm$ 7,6 <sup>b</sup> |
| İB-130      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-50     | 71,6 $\pm$ 7,6 <sup>b</sup> |
| İB-146      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-47     | 71,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> |
| İB-147      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-110    | 71,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> |
| İB-150      | 76,6 $\pm$ 2,8 <sup>b</sup> | İB-33     | 71,6 $\pm$ 7,6 <sup>b</sup> |

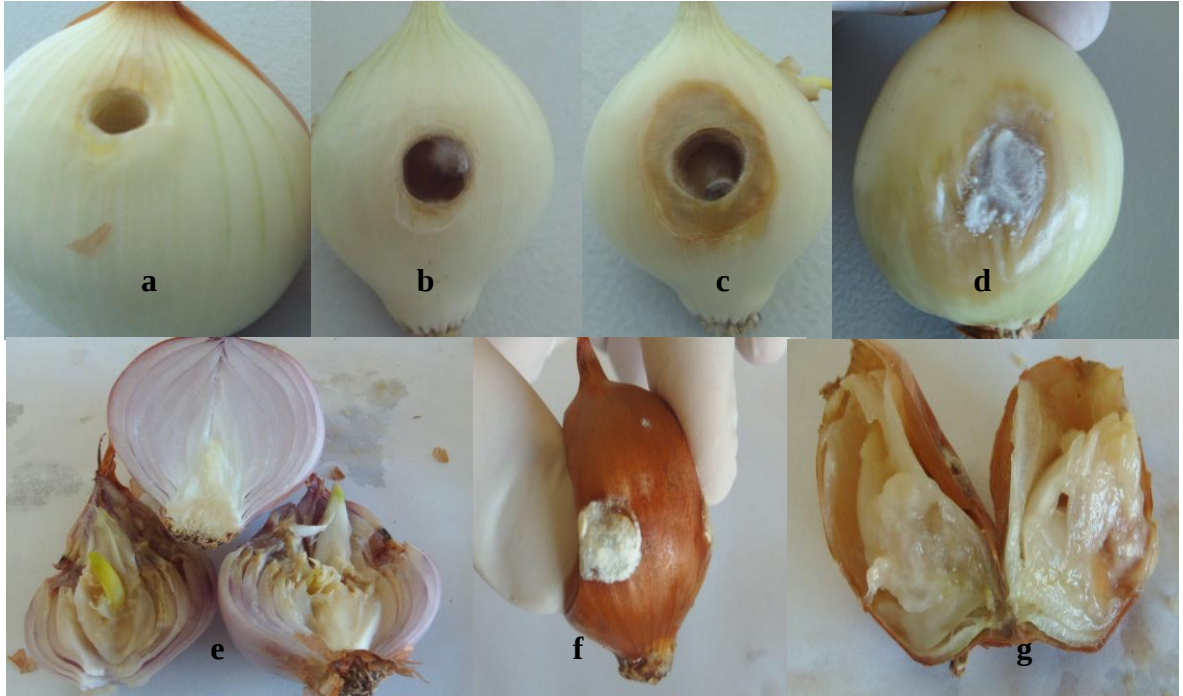
\*Aynı harf ile ifade edilen hastalık şiddetleri arasında Duncan çoklu karşılaştırma tesine göre fark yoktur ( $p>0,05$ ).

Kantartopu soğan çeşidinde yüksek derece virülenslik gösteren izolatların hastalık şiddetleri kendi aralarında ve negatif kontrol uygulaması ile karşılaştırılmıştır. Negatif kontrol uygulamasında herhangi bir hastalık gözlenmemiştir. *Fusarium* spp. izolatlarının uygulamaları ise negatif kontrolden istatistiki olarak farklı olarak yüksek derece virülenslik meydana getirmişlerdir. *Fusarium* spp. izolatlarının virülenslik şiddetleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise aralarındaki farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir. Sasaki ve ark. (2015), soğan tohumlarını  $1 \times 10^6$  spor/ml FOC solusyonunda 25 C° de 1 saat bekletilerek tohuma hastalık inokulasyonu gerçekleştirmişlerdir. Üç hafta sonra bitkilerin kök kısımları incelenerek hastalık şiddetlerine göre funguslar yüksek virülens > % 70, orta virülens > % 30-70 ve düşük virülens < % 30 olmak üzere üç sınıf oluşturmuşlardır.



Şekil 4. 6. Farklı *Fusarium* spp. izolatların kantartopu soğan üzerindeki etkisi

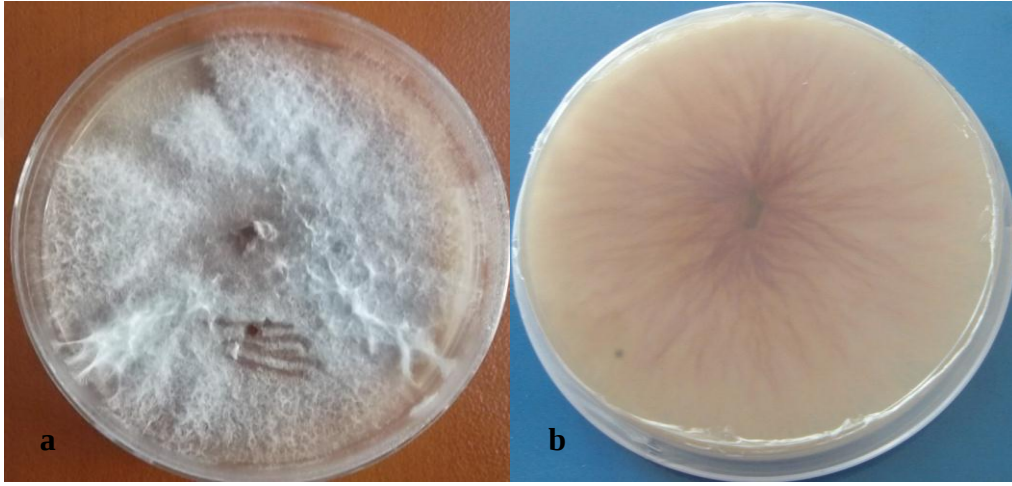
Tipik hastalık simptomsu olarak yapraklarda kurumalar ve baş soğan dip kısmında çürümeler görülen bitkilerden yapılan re izolasyonlar sonucu 43 re-izolat tekrar elde edilmiştir. İzolatlar Kantartopu cinsi baş soğanlarda patojenite testine tabi tutulmuştur. Değerlendirme sonucunda tüm re izolatlar Kantartopu cinsi baş soğan üzerinde çürüklük oluşturduğu saptanmıştır (Şekil 4.7). Baş soğanlarda patojen reaksiyon gösteren funguslar PCR işlemi ile moleküler karakterizasyona tabi tutulmuştur.



Şekil 4.7. Farklı re-izolatların kantartopu baş soğan üzerindeki etkisi; a) negatif kontrol, b) İB-80, c) İB-124, d) İB-49, e) İB-150, f) İB-3, g) İB-57)

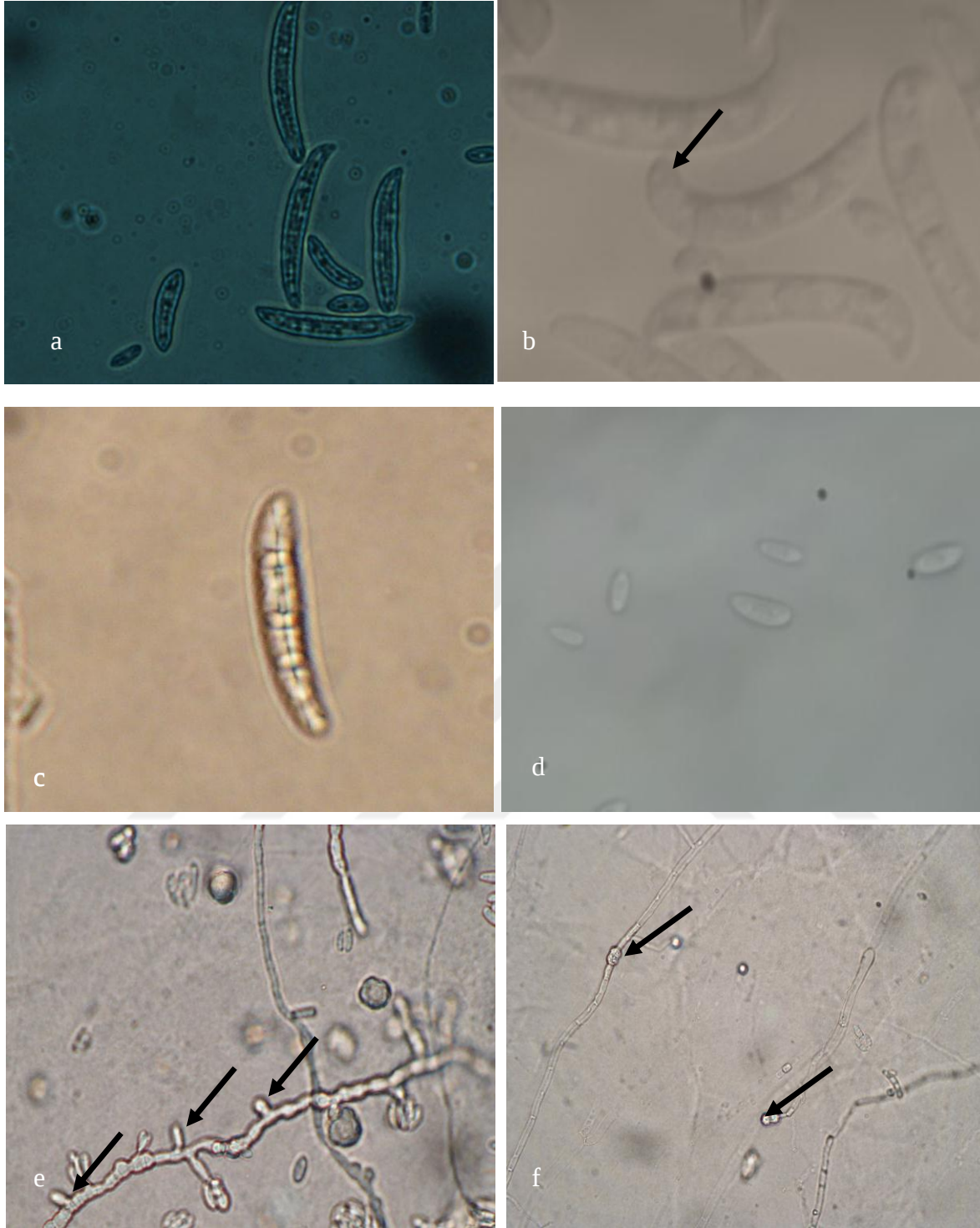
#### 4.3. *Fusarium oxysporum* İzolatlarının Morfolojik Tanılanması

Soğan bitkisinde hastalıklara yol açan fungal etmenlerden *Fusarium oxysporum* f.sp.cepae türünün yanında başka fungal etmenlerin de bulunmasından dolayı, yüksek derecede virülens olan 43 adet *Fusarium* spp. tür bakımından tanılanması amacı ile morfolojik karakterizasyona tabi tutulmuştur. *Fusarium* spp. izolatlarının tamamı PDA besi ortamında; miseller agar yüzeyinde pamuğumsu bol miktarda ve beyazdan soluk mora kadar renk aralığına sahip olduğu görülmüştür (Şekil 4.8). Soluk mor renge sahip miseller, merkezi spor kütleleri içinde üretildiği saptanmıştır. Koloni çapı 24 °C’de 10 günde 80 - 85 mm’ye ulaşmıştır.



Şekil 4.8. FOC’un İB-57 izolatının PDA besi ortamındaki gelişimi (a: üstten, b: alttan)

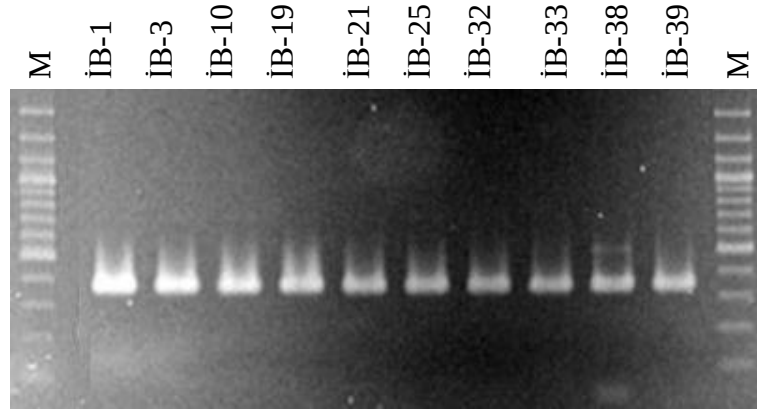
Sporodochiumları soluk kahverengi ve bol miktarda olduğu görülmüştür. Makrokonidiaları ince duvarlı uç kısmı bazen hafif bir kanca gibi sivri genellikle üç bölmeye sahip orta uzunlukta, hafif kavisli, nispeten ince olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.9 a,b,c) Mikrokonidialar bölmesiz oval, eliptik veya böbrek şeklinde ve havai misellerde bol miktarda olduğu saptanmıştır (Şekil 4. 9d). Monofialidler kısa ve şişkin olduğu görülmüştür (Şekil 4. 9e). Düz hücre duvarlı olan klamidosporları kısa sürede gerçekleşmiştir. Genellikle tek veya çiftler halinde bazı durumlarda ise kümelerde veya kısa zincirler halinde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.15f). Booth, (1971), Nelson ve ark., (1983), Burgess ve ark., (1994) ve Seifert (1996)’in ortaya koydukları tanı yöntemleri doğrultusunda bu izolatların tamamının *Fusarium oxysporum* olduğu tespit edilmiştir.



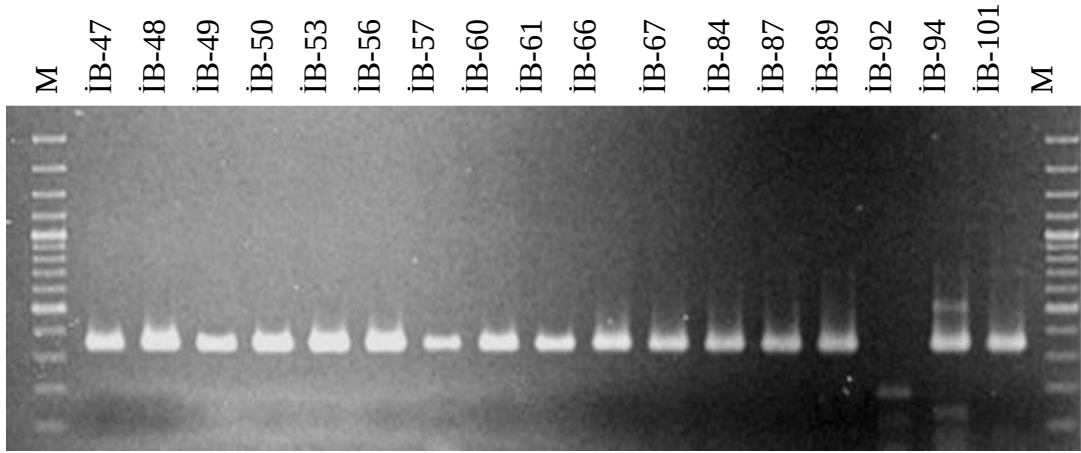
Şekil 4.9. PDA besi ortamında *Fusarium oxysporum* izolatlarının mikroskobik görüntüleri a) *F. oxysporum* makrokonidileri, b) uç kısım kanca gibi makrokonidialar, c) üç bölmeli makrokonidialar d) oval eliptik mikrokonidialar e) basit kısa şişkin fialitler f) inter ve terminal klamidosporlar

#### 4.4. Soğan Dip Çürüklüğü Hastalık Etmeni İzolatlarının PCR Tekniği ile Moleküler Karakterizasyonu

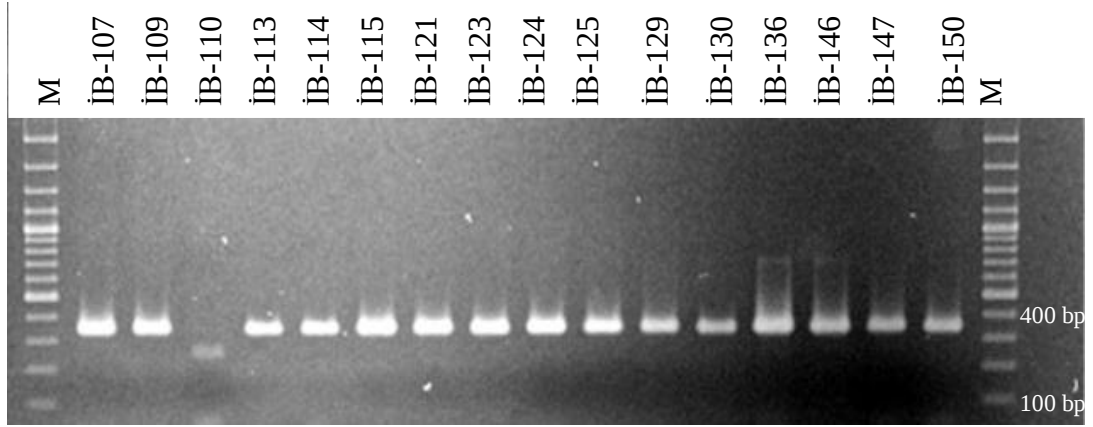
*Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* izolatlarının moleküler tanısında tekrar re izolasyon sonucu elde edilen ve patojen olduğu tespit edilen aynı zamanda yüksek derece virülens olan, morfolojik tanısında *Fusarium oxysporum* olduğu belirlenen 43 adet fungusun genomik DNA'larının izolasyonu yapılmıştır. Moleküler karakterizasyon işleminde ITS primerleri kullanılarak izolatların rDNA ITS (ITS1-5.8S-ITS2) gen bölgelerinin PCR amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. PCR amplifikasyonu UV ışık altında agaroz jel elektroforezinde DNA fragmentleri gözlemlenmiş 41 adet izolatta tek bir bölgenin çoğaldığını belirten 340 bp büyüklüğünde tek fragment gözlemlenmiştir. *Fusarium* spp.'nin farklı bir türü olarak düşündüğümüz Suluova ilçesinden izole edilen İB-92 ve Merzifon ilçesinden izole edilen İB-110 izolatlarında ise daha küçük bir fragmentin olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.10). Mishra ve ark. (2003), patojen *Fusarium* ssp.'lerin tanısı üzerine yaptıkları çalışmada fungusların ITS gen bölgeleri için spesifik primerler kullanmışlardır. *Fusarium oxysporum*'un tür teşhisinde ise ITS1F: 5P-ACATACCACTTGTTCCTCG-3P ve ITS4R: 5P-CGCCAATCAATTTGAGGAACG-3P primerlerini kullanarak elektroforez jel görüntüsünde 340 bp büyüklüğünde tek bant elde etmişlerdir. Çalışmamızda *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* 'nin moleküler karakterizasyonunda aynı primerlerin kullanılması ile 340 bp büyüklüğünde tek bant elde edilerek literatür ile benzer sonuçların elde edildiği gözlenmiştir.



(a)



(b)

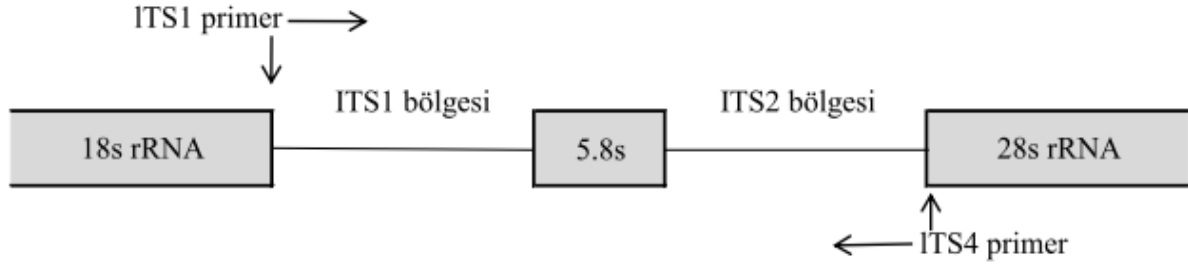


(c)

Şekil 4.10. *Fusarium oxysporum* izolatlarının PCR ile çoğaltılmış DNA fragmentlerinin agaroz jel görüntüsü (a,b,c) M: marker

#### 4.5. *Fusarium oxysporum* İzolatlarının ITS Sekans Verilerinin Analizi

Morfolojik ve moleküler olarak *Fusarium oxysporum* olarak belirlenen patojen olan aynı zamanda yüksek derece virülens olduğu tespit edilen fungal izolatların kendi arasındaki ve NCBI veri bankasında bulunan FOC'a ait referans HQ658965 accession numaralı izolat arasındaki genetik ilişki gösterilmiştir. Bu amaç ile 41 *Fusarium oxysporum* izolatlarının ITS (ITS1-5.8S-ITS2) rDNA bölgelerinin moleküler dizi analizleri yapılmıştır (Şekil 4.11). Kullanılan spesifik ITS primerlerin fungus DNA'sında amplifikasyon yaptığı bölgenin sekansı Şekil 4.12'de verilmiştir. Tüm izolatların sekans dizi analizleri EK-3 ve izolatların homolojisi EK-4'de verilmiştir.

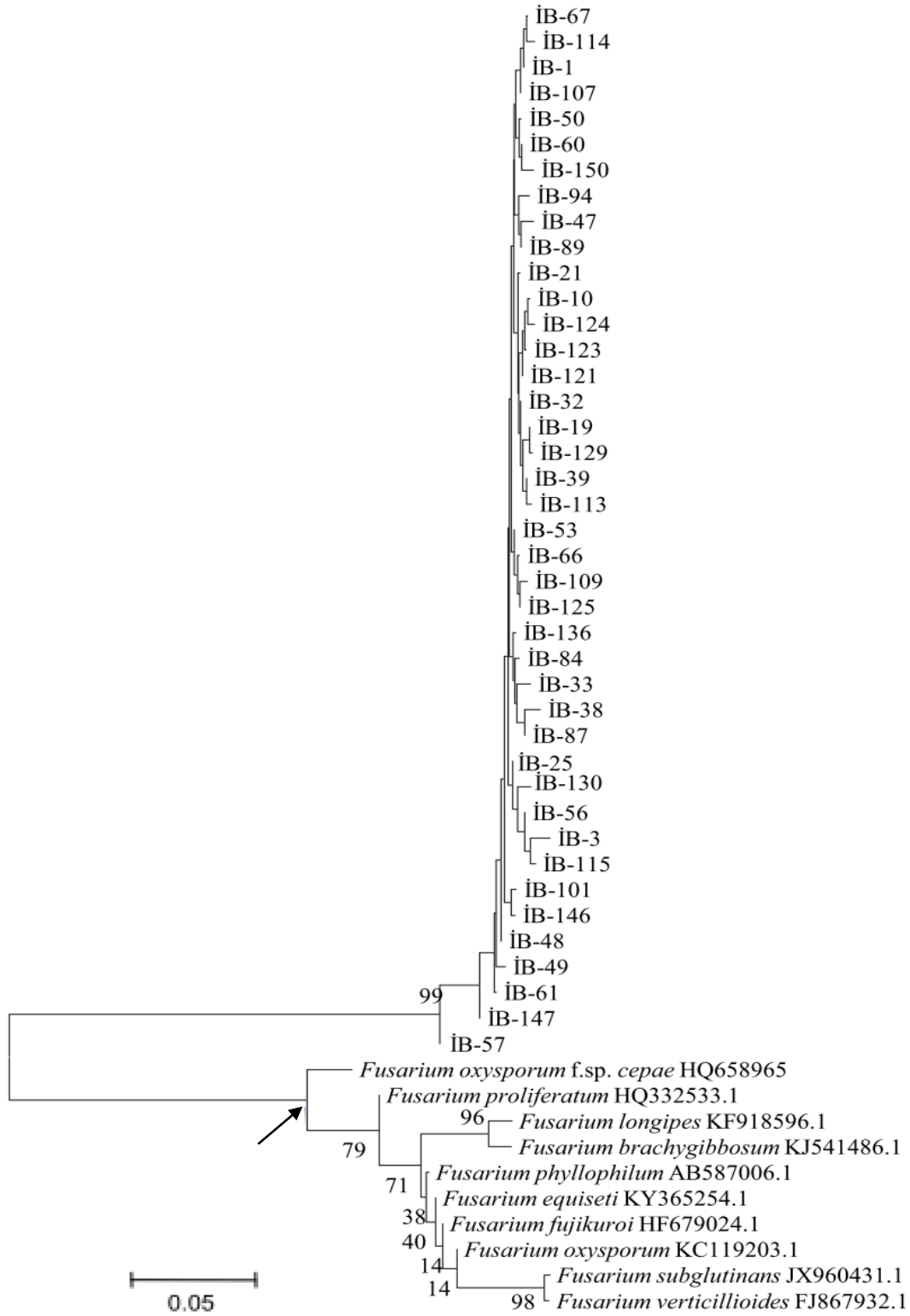


Şekil 4.11. Fungus izolatlarının çoğaltılan ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgeleri  
(<http://wpamushroomclub.org/education/introduction-dna-barcoding/>)

**ACATACCACTTGTTGCCTCG**GCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGACGG  
CCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTTCTGAGTAAAACCAT  
AAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAAC  
GCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCT  
TTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCA  
TTTCAACCCTCAAGCACAGCTTGGTGTGGGACTCGCGTTAATTCG**CGTTCCTCA**  
**AATTGATTGGCG**

Şekil 4.12. Spesifik ITS Primerlerin HQ658965 accession numaralı izolatın ITS (ITS1-5.8S-ITS2) rDNA gen bölgesinde amplifikasyon yaptığı bölgenin dizisi (kırmızı renk ile belirtilmiş olan diziler primerlerdir)

Farklı bölgelerden izole edilen Soğan dip çürüklüğü hastalık etmeninin 41 adet izolatının PCR ürününün nükleotit dizileri NCBI veri bankasında ([https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE\\_TYPE=BlastSearch&LINK\\_LOC=blasthome](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome)) blast edilmiş ve tüm dizilerin *Fusarium oxysporum*'a ait ITS1-5.8S-ITS2 bölgesine ait nükleotit dizisi olduğu görülmüştür. *Fusarium oxysporum*'un 41 adet izolatının sekans analizine dayalı olarak filogenetik ağaç oluşturulmuştur (Şekil 4.13). Filogenetik ağaç oluşturulmasında gerek sınırlı DNA polimorfizmi görülmesi gerekse haplotip sayısı ve haplotipler arasındaki genetik farklılıkların düşük olması nedeni ile burada sadece genetik ilişkileri göstermek için Aritmetik Ortalamalı Ağırlıksız Çift Grup Yöntemi (UPGMA) kullanılmıştır. Bootstrap çalışması ile elde edilen filogenetik ağacın kladlarının hangi oranda desteklendiği belirlenmiştir. Bootstrap oranı 0 - 100 arasında değişen değerlerdir. Yapılan çalışma ile elde edilen dallanmada yüzdelik oran ne oranda desteklendiği analiz edilmiştir. Bu şekilde elde edilen ağaçta UPGMA kriterleri kullanılarak istatistiksel olarak referans FOC'a ile en yakın izolatı bulmak amaçlanmıştır. *Fusarium oxysporum* izolatlarının ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesine göre çizilen soy ağacı incelendiğinde tüm izolatlar köken olarak aynı soydan geldiği aralarındaki genetik farklılığın çok düşük olduğu saptanmıştır. Bu benzerliğin ise % 99 Bootstrap değeri ile desteklendiği saptanmıştır. *Fusarium oxysporum* izolatlarının referans FOC izolatı ile kıyaslandığında aralarında yüksek oranda filogenetik benzerlik olduğu belirlenmiştir. İzolatlar farklı NCBI veri bankasındaki ITS gen bölgesi bakımından farklı *Fusarium spp.* türleri kıyaslandığında ise *Fusarium spp.* (*Fusarium proliferatum* HQ332533.1, *Fusarium longipes* KF918596.1 *Fusarium brachygibbosum* KJ541486.1, *Fusarium phyllophilum* AB587006.1, *Fusarium equiseti* KY365254.1, *Fusarium fujikuroi* HF679024.1, *Fusarium oxysporum* KC119203.1, *Fusarium subglutinans* JX960431.1, *Fusarium verticillioides* FJ867932.1) 'ler farklı bir kola ayrılarak farklı bir klad olduğu saptanmıştır (Şekil 4.13). Filogenetik sınıflandırmada Suluova bölgesinden izole edilen İB-57 izolatı, referans FOC izolatına ITS gen bölgesi bakımından en yakın izolat olarak belirlenmiştir. Bu izolat ile yapılan virülenslik testinde virülensliğinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.13. FOC bölge izolatların ITS sekanslarının *Fusarium oxysporum* f.sp.*cepae* ve farklı *Fusarium* spp. lere ait ait filogenetik akrabalığı gösteren soyağacı (Dallar üzerindeki rakamlar bootstrap değerlerini göstermektedir)



Şekil 4.14. Patojenite denemesinde hastalık uygulanmamış kontrol (a) ve İB-57 nolu izolatın uygulanmış (b) olduğu soğan bitkilerinin kök ve gövde görünümü

Moleküler karakterizasyon yöntemi ile *Fusarium oxysporum* olarak tanımlanan ve patojen olduğu tespit edilen referans izolat FOC'a genetik yakınlığı en yüksek olarak İB-57 nolu izolat olarak tespit edilmiştir. Southwood ve ark. (2012), FOC'un soğan üzerindeki hastalık şiddetini % 80 - 100 arasında değişen değerlerde saptamışlar ve FOC'u yüksek derecede virülens sınıfına dahil etmişlerdir. Çalışmamızda da referans izolat FOC'a en yakın izolat olan İB-57 nolu izolat yüksek virülens sınıfına dahil olduğu ortaya çıkmıştır bu yönü ile yapılan çalışma ile benzer sonuç elde edilmiştir. *Fusarium* spp. türlerinin teşhisinde ITS bölgelerinin kullanılabileceğini belirten bir çalışmada Dissanayake ve ark. (2009), Japonyada solgunluk gösteren soğan bitkilerinden izole ettikleri 32 adet fungusu moleküler ve morfolojik olarak tanımlamışlardır. Bu izolatlar arasında *F. oxysporum* (18 izolat), *F. verticillioides* (7 izolat) ve *F. solani* (7 izolat) teşhis ederek izolatlara sera koşullarında patojenite testi yapmışlardır. Özellikle 8, 15, 17,22 ve 30 nolu izolatların yüksek derecede virülens özellik göstererek patojen olduklarını saptamışlardır. *Fusarium* izolatlarının moleküler karakterizasyonunu PCR-RFLP yöntemi ile ribozomal ITS bölge analizlerine göre karakterize

ederek 4 tip *F. oxysporum*, 1 tip *F. verticillioides* ve *F. solani* teşhis etmişlerdir. Yaptıkları bu çalışma ile ITS bölge analizinin *Fusarium* türlerinin teşhisinde faydalı olabileceğini belirtmişlerdir. Türkiye'de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* bölge izolatlarının farklı genotiplere sahip olduğunu belirten bir çalışmada Bayraktar ve ark., (2010), yaptığı çalışmada Türkiye'de farklı bölgelerden izole ettiği *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* izolatlarını Random Amplified Polymorphic (RAPD) tekniği kullanılarak moleküler markör analizi ile incelemiştir. Kullanılan 11 polimorfik primer ile 110 RAPD fragmenti gözlemlemiştir (10 polimorfik bant/primer). Elde edilen verilerin UPGMA ile cluster analizi % 5 benzerlik seviyesinde 5 farklı soy ortaya çıkarmıştır. Türkiye'den elde edilen *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* izolatlarının büyük çoğunluğunun muhtemelen aynı klonal soydan türediğini belirtmiştir. Genetik değerlendirmeler ve popülasyon farklılıkları da Türkiye' den elde edilen izolatların referans izolat Colorado izolatlarından büyük ölçüde farklı olduğunu ve Bursa popülasyonunun Türkiye popülasyonları arasında en farklı popülasyon olduğunu göstermiştir. Ayrıca Türkiye popülasyonları arasında düşük seviyelerde genetik farklılıklar ortaya çıkarmıştır. Toplam genetik farklılığın sadece % 11,4'lük kısmının coğrafik popülasyonlar arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı gözlemlenmiştir. Moleküler varyans analizi de (ANOVA) popülasyonlar arasındaki düşük genetik farklılıkları doğrulamıştır. Çalışmamızda patojen olduğu tespit edilen tüm örneklerin sekans dizi analizleri referans dizi analizi ile kıyaslandığında referans izolata göre bölge izolatlarının farklı bir clade oluşturduğu ve kendi arasında düşük genetiksel farklılıklar olduğu görülmüştür. Bostroop analizinde referans olarak kullanılan dizinin yurt dışı kaynaklı olması ve aradaki genetiksel farklılığın muhtemelen fungusun ülkeden ülkeye farklı genetiksel yapıya sahip olduğu, izole ettiğimiz fungusun Amasya bölgesine özgü olabileceğini sonucuna varılması ile yapılan çalışma çalışmamızı destekler yönde olduğu görülmektedir. Çalışmamız ile benzer sonuçlar elde edilen başka bir çalışmada Malathi ve Mohan (2012), Hindistan da Tamil Nadu bölgesindeki farklı soğan ekim alanlarından izole ettikleri FOC'lar arasındaki genetik ilişkiyi incelemiştir. RAPD primerlerinin kullanıldığı yöntemde izolatların benzerlik oranının minimum % 14, maksimum % 85 olduğunu tespit etmişlerdir. Yaptıkları bu çalışma ile FOC'un genetik çeşitlilik içerdiğini ve bu çeşitliliğe çevre koşullarının sebebiyet verdiğini ileri sürmüşlerdir.

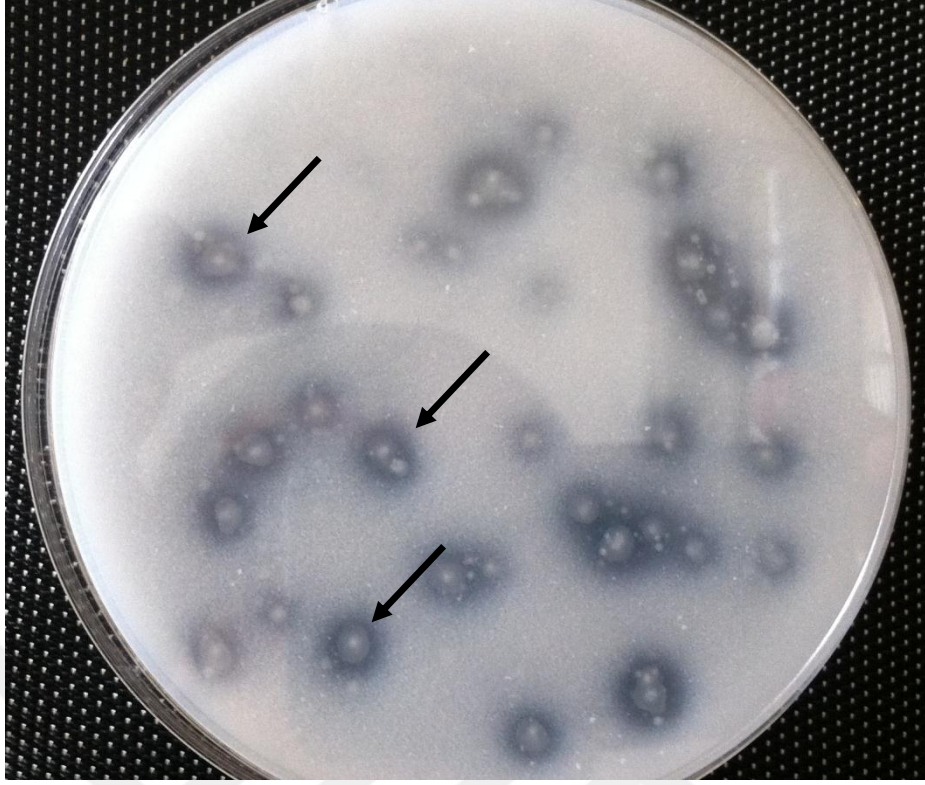
#### 4.6. *F.oxysporum* f.sp. *cepae*'nin Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar

##### 4.6.1. Fosfor çözücü PGPR'ların izolasyonu

Soğan dip çürüklüğü etmeni *F.oxysporum* f.sp. *cepae*'nin biyolojik mücadelesinde kullanılacak fosfor çözücü PGPR'lerin izolasyonu soğan bitkileri kök çevresindeki topraktan yapılmıştır. Amasya ilçelerindeki (Suluova, Merzifon, Gümüşhacıköy, Göynücek, Taşova ilçeleri) soğan yetiştirilen alanlarda (Şekil 4.15) diğerlerine göre daha iyi gelişmiş sağlıklı bitkilerin kök bölgesi toprağından kılcal kökleri de içerecek şekilde 30 adet toprak örneğı alınmıştır. Alınan 30 toprak örneklerinden katı NBRIP besi ortamı kullanılarak farklı morfolojik özellik gösteren 269 adet fosfor çözen bakteri izolatu elde edilmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.15. Fosfor çözücü topraktakterilerinin izolasyonu için toprak örneğı alınan bir soğan tarlasından görünümü



Şekil 4.16. Toprakтан izole edilen fosfor çözen kökbakterilerinin katı NBRIP besi ortamında gelişen kolonileri ve oluşturduğu zonları

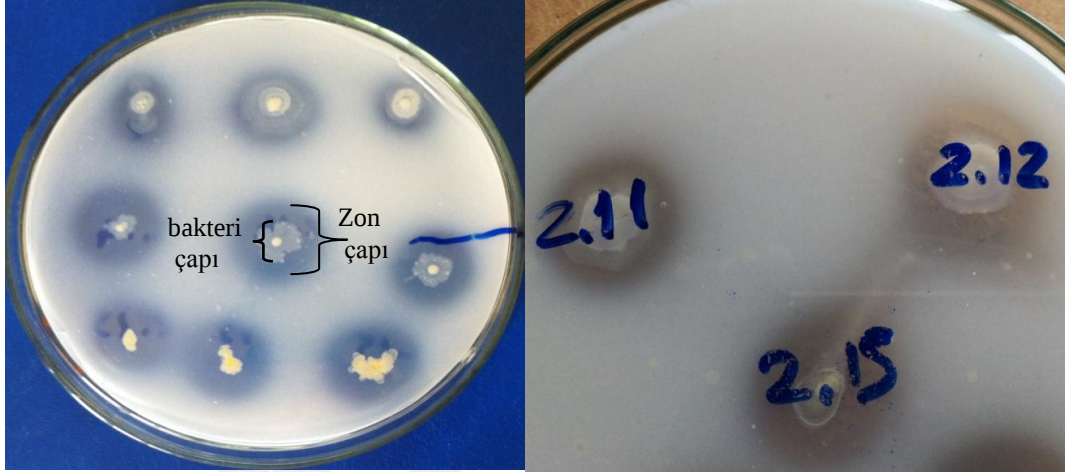
Katı NBRIP besiyeri fosfor çözen bakterilerin hızlı bir şekilde belirlemek için kullanılan bir besiyeri çeşididir. Fosfor çözen bakterilerin belirlenmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada Küsek ve Çınar (2007), asma kök bölgesindeki fosfor çözen bakterilerin izolasyonu ve seçiminde katı NBRIP besi ortamı kullanmışlardır. Farklı şehirlerden izole ettikleri 464 bakteri izolatu içerisinde 63 tanesi katı NBRIP besiyerinde fosforu çözdüğünü belirten zon gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda fosfor çözen bakterilerin hızlı bir şekilde belirlenmesinde doğrudan katı NBRIP besiyeri kullanılmış ve çalışmaya benzer şekilde besiyerinde zon oluşturan 269 bakteri izolatu seçilerek bu bakteriler fosfor çözen bakteri olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.6.2. PGPR'lerin fosfatı indirgeme özelliklerinin incelenmesi

Bitki gelişimini sağlamak için en etkili yöntem toprakların uygun gübre ile gübrenmesidir. Bitkilerin en fazla ihtiyaç duyduğu besin maddeleri arasında fosfor bulunmakta ve gübrelemede fazla fosfor gübresi kullanılmaktadır. Kimyasal gübre fiyatlarının artması, gübrelerin çevreye olumsuz etkilerinin ortaya çıkması; doğal olarak meydana gelebilen, güvenilir, alternatif fosfor gübrelerinin ortaya konulmasını gündeme getirmiştir. Yapılan araştırmalar ile toprakta var olan kaya fosfatını çözen bakterilerin, izolasyonu, tanısı, araştırılması, geliştirilmesi ve kullanımı önem kazanmaya başlamıştır. Özellikle toprakta bulunan ve çözülmeyen formdaki fosfatı çözerak bitkinin alacağı forma dönüştüren bakteriler önem kazanmıştır (Nautiyal 1999; Çakmakçı 2005). Fosforun toprakta fazla miktarda olmasından daha çok alınabilir formdaki fosfor miktarı çok düşüktür. Topraktaki fosforun büyük bir miktarı kalsiyum tarafından tutulur ve toprağa uyguladığımız fosfor da kısa sürede kalsiyum tarafından tutularak bitkilerin alamayacağı forma dönüşür. Fosfor çözen bakteriler toprağa veya tohuma uygulandığında topraktaki bitkiler tarafından alınamayan formdaki fosforu alınabilir forma dönüştürerek bitkilerin daha iyi gelişmesi sağlanabilir (Abd-Alla, 1994; Jones ve Darrah, 1994). Bu bakterilerin etki mekanizması şekerleri kullanarak organik asitler üretmekte ve bu asitlerin etkisi ile suda çözölemeyen fosfor çözölebilir forma dönüştürölerek bitki tarafından alınabilir forma dönüşmektedir (Leyval ve Barthelin, 1989).

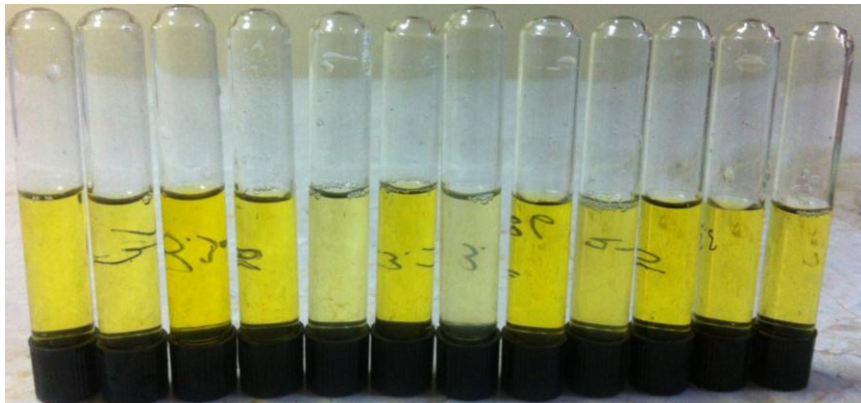
Bakteri izolatlarının fosfor çözöbilme indekslerinin hesaplanmasında Katı NBRIP besi ortamı kullanılmıştır. Bu yöntemde her bir petriye 9 bakteri izolatı ekilmiştir ve kısa sürede fosfor çözöbilen bakteri kolonilerinin etrafında açık bir zon oluşmuştur (Şekil 4.17). Bakteri gelişimi sonunda oluşan zon çapının bakteri kolonisine oranlayarak fosfor çözme indeksi belirlenmiştir. Topraktan izole ettiğimiz 269 bakteri izolatının seçiminde doğrudan katı NBRIP besiyeri kullanılarak saflaştırıldığı için izolatların tamamında belirli bir fosfor çözme indeksi hesaplanmıştır. Katı NBRIP besi ortamına ekilen izolatların fosfor çözme indekslerinin hesaplanması sonucunda fosfor çözme indeksi en yüksek 4,83 ile EB-38 nolu izolat olduğu saptanmıştır. Ünlü ve Aysan (2011), yaptıkları çalışmada Adana ilinde sardunya yetiştirilen farklı alanlardan izole ettiği PGPR bakterileri içerisinde 60 tanesinin fosfatı çözödüğü ve fosfat çözme indekslerinin 2 – 6,6 arasında değıştiğini tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da fosfat çözme indeksleri 1,0 – 4,8 arasında değıştiği bulunarak yapılan çalışma ile uyum içinde olduğu tespit edilmiştir.

Mardad ve ark. (2013), inorganik fosfatın çözünürlüğü üzerine yaptıkları bir çalışmada izole ettikleri bakterilerin fosfor çözme indekslerini hesaplamışlardır. PSB6 kodlu izolat 4,4 fosfor çözme indeksi ile en fazla fosfor çözerken bu izolatu 4,1 ile PSB4 ve 3,7 ile PSB5 izolatları takip etmiştir. Görüldüğü gibi bakteri izolatları fosfor çözme indeksi bölgeden bölgeye, izolattan izolata değişiklik göstermektedir ve çalışmamızı destekler yönde sonuçlara ulaşılmıştır.



Şekil 4.17. Toprakta izole edilen izolatların fosfor çözme indeksinin hesaplanmasında katı NBRIB besiy ortamında fosforu çözmesinden dolayı oluşan açık zon ve bakteri kolonisi

İzolatların çözdükleri fosfor miktarı Barton yöntemine göre analiz edildiğinde izolatlar arasında farklılıklar olduğu saptanmıştır (Şekil 4.18). Sıvı NBRIP besiy ortamına en yüksek fosfor çözen 382,5 mg/ ml ile OB- 169 nolu izolat olurken en az çözen 19,3 mg/ ml ile OB-203 nolu izolat olmuştur.



Şekil 4.18. Farklı PGPR izolatlarının sıvı NBRIP ortamında fosfor çözme özelliklerine göre Barton çözeltisi eklenmesi ile meydana getirdiği renk farklılığı

Sıvı NBRIP besi ortamına inokule edilen 269 adet izolat arasından en fazla fosfor çözme özelliği olan 50 adet izolatın fosfor çözme özellikleri istatistiki olarak negatif kontrol uygulaması ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır. Sıvı NBRIP besi ortamına çözdüğü fosfor değerinin hesaplanmasında 50 adet izolatın çözdüğü fosfor miktarı negatif kontrol ile karşılaştırıldığında aradaki farkın tüm izolatlar için istatistikî olarak önemli olduğu saptanmıştır. İzolatların fosfor çözme değerleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise izolatlar arasında farklılıklar olabileceği saptanmıştır (Çizelge 4.2). Tüm izolatların sıvı NBRIP besi ortamında fosfor çözme değerleri ve katı NBRIB besi ortamındaki fosfor çözme indeksleri ise EK - 5’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. PGPR izolatlarının sıvı NBRIP besi ortamında çözdükleri fosfor miktarları ve katı NBRIB besi ortamındaki fosfor çözme indeksleri

| İzolatlar      | Fosfor Çözme miktarı (ppm)± SS | Fosfor Çözme İndeksi | İzolatlar | Fosfor Çözme miktarı (ppm)± SS | Fosfor Çözme İndeksi |
|----------------|--------------------------------|----------------------|-----------|--------------------------------|----------------------|
| K <sup>-</sup> | 11,7±1,6 <sup>z</sup>          | -                    | İB-162    | 258,8±4,7 <sup>mnop</sup>      | 1,1                  |
| OB-169         | 382,5±2,1 <sup>a</sup>         | 1,2                  | OB-173    | 257,9±2,5 <sup>mnop</sup>      | 1,5                  |
| EB-14          | 337,6±0,7 <sup>b</sup>         | 1,0                  | EB-1      | 257,3±1,5 <sup>mnop</sup>      | 1,5                  |
| EB-15          | 321,9±4,3 <sup>c</sup>         | 1,9                  | AZB-80    | 256,9±1,2 <sup>nopr</sup>      | 1,8                  |
| EB-21          | 316,9±3,3 <sup>d</sup>         | 2,7                  | MK-249    | 255,5±5,1 <sup>opr</sup>       | 1,5                  |
| HB-234         | 304,4±2,5 <sup>e</sup>         | 1,3                  | OB-188    | 254,6±1,3 <sup>prs</sup>       | 1,2                  |
| HB-230         | 298,7±2,3 <sup>f</sup>         | 2,1                  | İB-127    | 253,7±4,4 <sup>prs</sup>       | 2,0                  |
| HB-207         | 295,8±3,7 <sup>f</sup>         | 1,7                  | OB-197    | 253,6±2,3 <sup>prs</sup>       | 2,1                  |
| HB-204         | 282,1±3,2 <sup>g</sup>         | 1,7                  | HB-232    | 253,3±2,4 <sup>prs</sup>       | 1,1                  |
| HB-228         | 281,3±2,8 <sup>g</sup>         | 1,6                  | OB-170    | 250,7±5,1 <sup>rsst</sup>      | 1,1                  |
| AZB-64         | 278,8±7,3 <sup>gh</sup>        | 1,9                  | EB-10     | 250,6±1,0 <sup>rsst</sup>      | 3,1                  |
| MK-257         | 274,8±4,0 <sup>h</sup>         | 2,3                  | OB-189    | 250,0±5,16 <sup>rsst</sup>     | 1,1                  |
| HB-228         | 274,2±2,2 <sup>h</sup>         | 1,0                  | MK-258    | 249,7±3,3 <sup>sstu</sup>      | 1,7                  |
| EB-16          | 271,8±2,0 <sup>ii</sup>        | 1,5                  | HB-239    | 249,4±4,3 <sup>sstu</sup>      | 2,2                  |
| HB-229         | 268,0±2,6 <sup>i</sup>         | 1,8                  | MK-248    | 249,0±7,7 <sup>sstu</sup>      | 1,6                  |
| AZB-79         | 265,9±2,7 <sup>jk</sup>        | 1,6                  | MK-262    | 247,8±2,5 <sup>stui</sup>      | 1,9                  |
| EB-38          | 265,5±4,9 <sup>jk</sup>        | 4,8                  | OB-165    | 246,0±3,2 <sup>stui</sup>      | 1,1                  |
| OB-219         | 265,4±3,4 <sup>jk</sup>        | 1,2                  | MK-250    | 245,7±4,7 <sup>uiv</sup>       | 1,5                  |
| HB-218         | 264,9±6,0 <sup>kl</sup>        | 1,5                  | OB-183    | 245,2±5,1 <sup>uiv</sup>       | 1,1                  |
| EB-22          | 264,5±3,7 <sup>kl</sup>        | 1,1                  | HB-238    | 245,2±4,9 <sup>uiv</sup>       | 1,6                  |
| EB-6           | 264,4±1,6 <sup>kl</sup>        | 3,5                  | AZB-43    | 245,0±5,2 <sup>uiv</sup>       | 3,3                  |
| MK-264         | 261,4±6,4 <sup>klm</sup>       | 1,7                  | MK-252    | 243,8±3,0 <sup>üv</sup>        | 3,9                  |
| HB-212         | 261,1±4,0 <sup>klm</sup>       | 3,0                  | HB-214    | 242,6±3,2 <sup>üv</sup>        | 2,1                  |
| OB-194         | 260,3±5,1 <sup>lmn</sup>       | 2,4                  | ZEB-87    | 241,4±1,3 <sup>v</sup>         | 1,9                  |
| ZEB-94         | 259,4±7,9 <sup>mno</sup>       | 5,0                  | AZB-75    | 240,7±4,4 <sup>v</sup>         | 1,6                  |
| HB-244         | 259,4±3,8 <sup>mno</sup>       | 1,6                  |           |                                |                      |

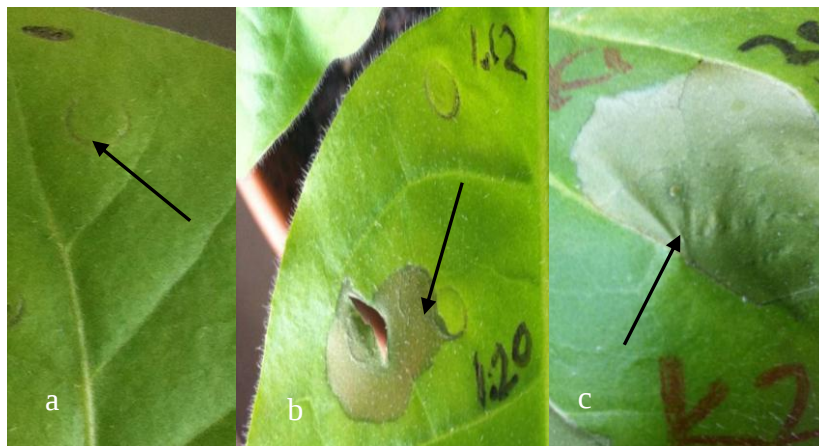
Aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre izolatların sıvı NBRIP besi ortamında çözdükleri fosfor miktarı bakımından istatistiki açıdan fark yoktur (p>0,05).

Kapri ve Tewari (2010), farklı bitki köklerinden izole ettikleri *Trichoderma* spp. 'nin *in vitro*'da ne kadar fosfor çözdüğünü sıvı NBRIP besi ortamı kullanarak nicel olarak araştırmışlardır. Bitki rizosferlerinden izole ettikleri DRT-1 kodlu izolat 96 saatin sonunda 404,07 ppm fosfat çözdüğünü tespit etmişlerdir. Th-Std kodlu izolat 386,42 ppm ve PRT-1 izolatı 377,44 ppm fosfor çözdüğünü belirlemişlerdir. Kumar ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada bezelye bitkisinin kök kısmından izole ettikleri 30 bakteri izolatını biyokimyasal testler ile tanımlamışlardır. İzolatların fosfor çözme özelliklerini belirlemek için sıvı NBRIP besi ortamı kullanmışlardır. Beş günün sonunda yapılan fosfor analizinde çözülen fosfor miktarının en fazla 562,34 ppm ile FBJ6 kodlu *Pseudomonas* spp. izolatı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu izolatı sırası ile 482,64 ppm ile FBS kodlu *Bacillus* sp. ve 443,46 ppm ile FBJ kodlu *Acinetobacter* sp. izolatları takip ettiğini saptamışlardır. Toprakten izole ettiğimiz bakteri izolatlarının nicel olarak fosfat çözme özelliklerini belirlemek için literatürde belirtildiği gibi sıvı NBRIP besi ortamı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre izolatların farklı miktarlarda fosfor çözdüğü saptanarak çalışmamız belirtilen literatür çalışmalar ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

#### 4.6.3. PGPR izolatlarının ön eleme testleri

##### 4.6.3.1. PGPR izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık testleri

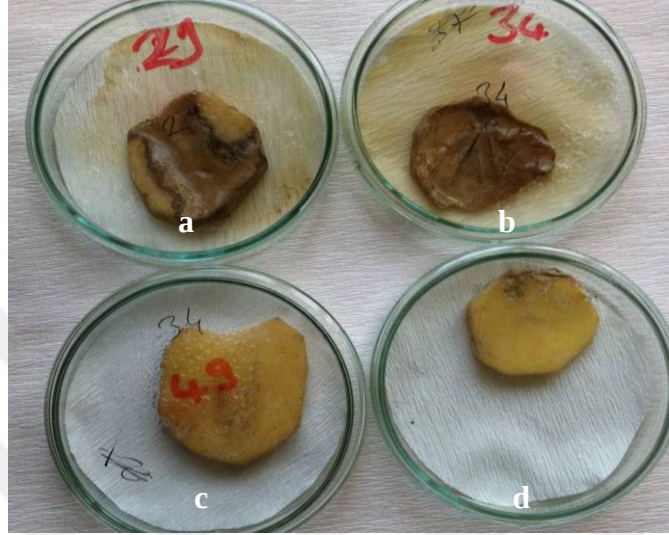
Aday 269 PGPR izolat arasındaki 6 izolat ve referans izolat olarak kullanılan bitki patojeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* 24 saat içinde tütün yapraklarında aşırı duyarlılık belirtisi (Şekil 4.19 b ve c) göstermiş ve bitki patojeni olabileceğinden dolayı çalışmadan çıkarılmıştır.



Şekil 4.19. Tütünde aşırı duyarlılık tesinde; saf su (a), EB-20 (b) ve referans *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (c) izolatlarının tütün yapraklarında oluşturdukları reaksiyon

#### 4.6.3.2. Pektolitik aktivite testleri

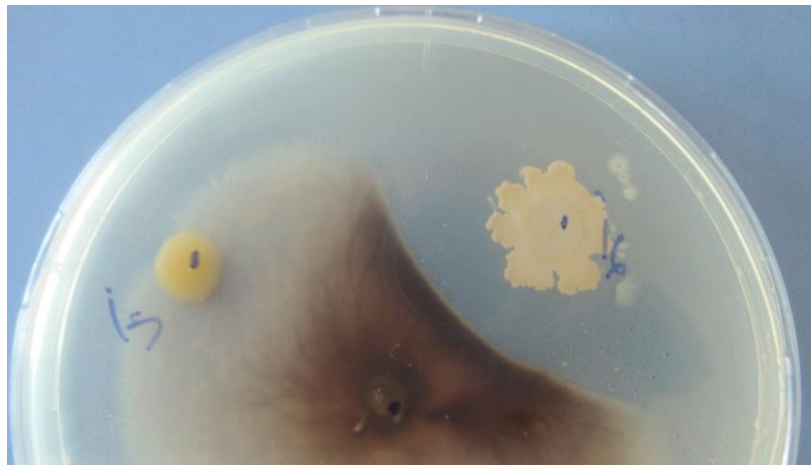
Toprakтан İzole edilen edilen 269 adet izolat patates dilimlerine inokule edilerek iki gün sonunda 15 izolat patates dilimleri üzerinde çürüklük oluşturduğu saptanmıştır. Negatif kontrol olarak kullanılan saf su da ise hiçbir etki görülmemiştir (Şekil 4.20). Bu izolatların bitki patojeni olma olasılığından dolayı çalışmadan çıkarılmıştır.



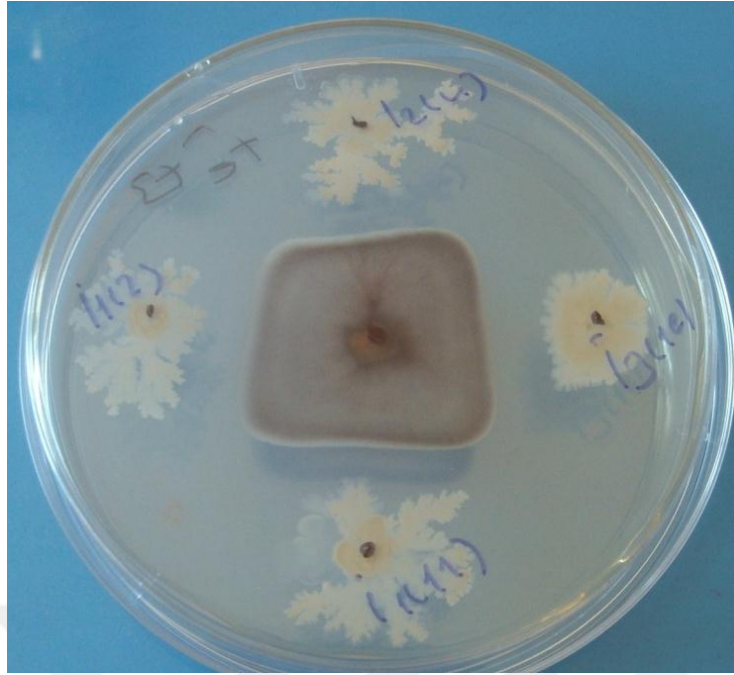
Şekil 4.20. Aday bakteri izolatlarının patatestte pektolitik aktivite reaksiyonları (a ve b pozitif reaksiyon), (c ve d negatif reaksiyon)

#### 4.6.4. PGPR izolatlarının antagonistik ve siderefor etkilerinin belirlenmesi

Yapılan ikili kültür testinde testinde EB-18, AZB-59, AZB-78, ZEB-82, ZEB-116, İB-162, MK-252 ve MK-262 nolu izolatlarının antagonistik olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.21; Şekil 4.22).



Şekil 4.21. *In vitro*'da yapılan ikili kültür testinde antagonist bir bakteri izolatının FOC'a karşı oluşturduğu engelleme zone



Şekil 4.22. *İn vitro*'da yapılan ikili kültür testinde antagonist dört bakteri izolatının FOC'a karşı oluşturduğu engelleme zonu

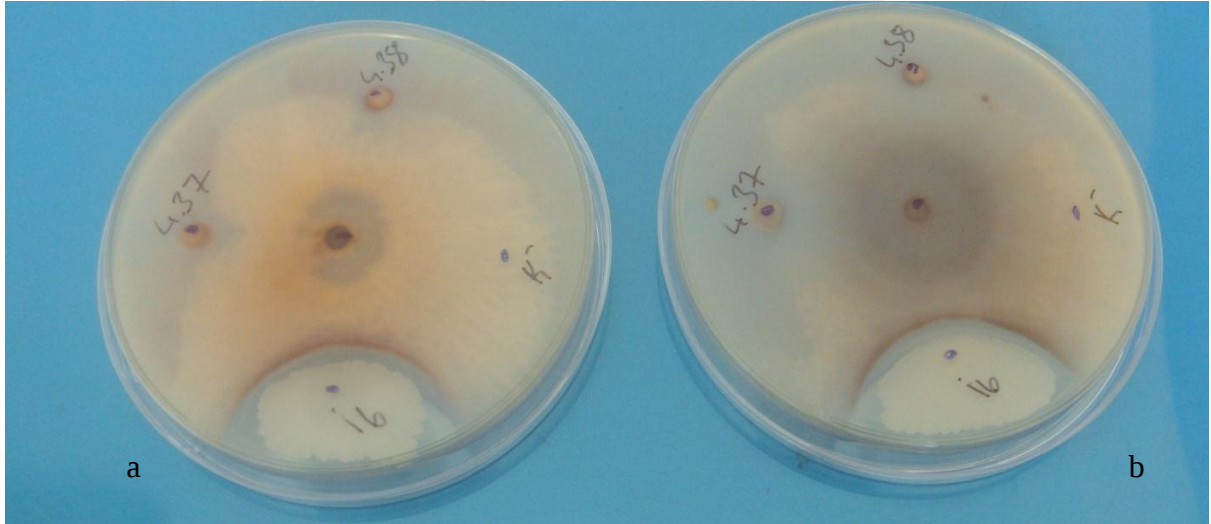
Antagonist PGPR izolatlarının *in vitro* ortamda FOC'u engelleme oranları % 71,5-75,7 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Antagonistik değeri en yüksek MK-252 adlı izolat olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatı sırası ile MK- 262, AZB-59, ZEB-82, İB-162, ZEB-116, AZB-78 ve EB-18 no'lu izolatlar takip etmiş ve bu izolatların antagonist yüzdeleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak farklı olmadığı görülmüştür (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Antagonist PGPR izolatlarının FOC'a karşı *in vitro*'da oluşturdıkları antagonistik engelleme yüzdeleri ve standart sapmaları

| İzolat Adı              | Antagonistik etki* (%) $\pm$ SS |
|-------------------------|---------------------------------|
| K <sup>-</sup> (saf su) | 0,000 $\pm$ 0,000 <sup>b</sup>  |
| MK-252                  | 75,7 $\pm$ 5,0 <sup>a</sup>     |
| MK-262                  | 75,3 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>     |
| AZB-59                  | 73,7 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>     |
| ZEB-82                  | 73,1 $\pm$ 4,3 <sup>a</sup>     |
| İB-162                  | 72,5 $\pm$ 4,1 <sup>a</sup>     |
| ZEB-116                 | 72,4 $\pm$ 4,0 <sup>a</sup>     |
| AZB-78                  | 71,8 $\pm$ 6,1 <sup>a</sup>     |
| EB-18                   | 71,5 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup>     |

Aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre izolatların antagonistik değerleri bakımından istatistiki açıdan fark yoktur ( $p>0.05$ ).

Malathi ve Mohan (2013), farklı bitki kök kısımlarından elde ettiği 62 tane *Pseudomonas* spp. nin *in vitro* koşullarda ikili kültür test yöntemi ile FOC'a karşı antagonistik etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada 6 adet izolat *in vitro*'da FOC'un miselyum gelişmesini %74,68-41,43 arasında baskılayarak antagonistik etki gösterdiğini saptamışlardır. Diğer isolatlar herhangi bir antagonistik etki göstermediği saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da *in vitro*'da yaptığımız ikili kültür testlerinde 8 adet izolat % 71,5 - 75,7 arasında FOC'a karşı antagonistik etki göstererek yapılan çalışma ile benzer sonuca ulaşılmıştır. Antagonist özelliğe sahip isolatların siderefor özelliğini belirlemek için PDA ve FeCl<sub>3</sub> eklenmiş PDA besi ortamları kullanılmıştır. Her iki besiyerinde yapılan ikili kültür test yönteminde isolatların antagonist özelliklerinin karşılaştırılmasında FeCl<sub>3</sub> eklenmiş PDA besi ortamında hiçbir izolatin oluşturduğu zon azalmamıştır. Bu özellikten dolayı isolatların sahip olduğu antogonistik özelliğin siderefor özelliğinden olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.23).



Şekil. 4.23. EB-18 nolu izolatin siderefor etkisinin belirlenmesi a) PDA besi ortamı, b) PDA + FeCl<sub>3</sub> besi ortamı

Mirik (2005), biberde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırdığı çalışmasında saksı ve tarla çalışmasında kullanacağı antagonistik olan üç tane izolatin siderefor özelliğini incelemiştir. M1-3 ve M3-1 isolatları Fe<sup>+3</sup> yokluğunda KB besiyerinde patojene karşı engelleme zonu oluştururken Fe<sup>+3</sup> varlığında bu zon oluşmamıştır. Elde ettiği bu sonuç ile M1-3 ve M3-1 isolatlarının patojeni engellemesinde siderefor etkisinden olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda ise Fe<sup>+3</sup> varlığında herhangi bir

zon azalması meydana gelmediği için çalışmadan farklı olarak antagonistik izolatların antagonistik özelliği siderefor özelliğinden olmadığı sonucuna varmıştır.

#### 4.6.5. PGPR izolatlarının seçimi yapılan biyokimyasal testler

Patateste Pektolitik aktivite ve Tütünde aşırı duyarlılık gösterenler bitki patojeni olma riski nedeni ile çalışmadan çıkarılmıştır. Kalan izolatlar arasından Sıvı besi yerinde en fazla fosfor çözen 10, fosfor çözme indeksi en yüksek olan 2 ve *in vitro*'da en yüksek antagonistik özellik gösteren 3 izolat saksı denemelerinde kullanılmak için seçilmiştir (Çizelge 4. 4).

Çizelge 4. 4. Saksı denemelerinde için seçilen PGPR izolatları ve özellikleri

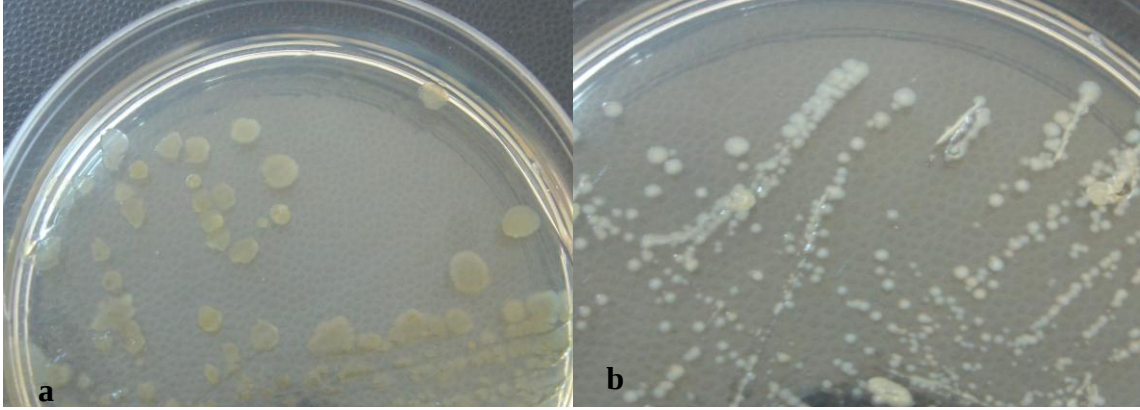
| İzolatlar | Tütünde Aşırı Duyarlılık | Pektolitik Aktivite | Çözdüğü fosfor (ppm) | Fosfor Çözme İndeksi | <i>in vitro</i> Antagonistik etki | <i>in vitro</i> da % etki | Siderefor etki |
|-----------|--------------------------|---------------------|----------------------|----------------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------|
| OB-169    | -                        | -                   | 382,5±2,1            | 1,2                  | -                                 | -                         | -              |
| EB-14     | -                        | -                   | 337,6±0,7            | 1,0                  | -                                 | -                         | -              |
| EB-15     | -                        | -                   | 321,9±4,3            | 1,9                  | -                                 | -                         | -              |
| EB-21     | -                        | -                   | 316,9±3,3            | 2,7                  | -                                 | -                         | -              |
| HB-234    | -                        | -                   | 304,4±2,5            | 1,3                  | -                                 | -                         | -              |
| HB-230    | -                        | -                   | 298,7±2,3            | 2,1                  | -                                 | -                         | -              |
| HB-207    | -                        | -                   | 295,8±3,7            | 1,7                  | -                                 | -                         | -              |
| HB-204    | -                        | -                   | 282,1±3,2            | 1,7                  | -                                 | -                         | -              |
| HB-228    | -                        | -                   | 281,3±2,8            | 1,6                  | -                                 | -                         | -              |
| AZB-64    | -                        | -                   | 278,8±7,3            | 1,9                  | -                                 | -                         | -              |
| ZEB-94    | -                        | -                   | 259,4±7,9            | 5,0                  | -                                 | -                         | -              |
| EB-38     | -                        | -                   | 265,5±4,9            | 4,8                  | -                                 | -                         | -              |
| MK-252    | -                        | -                   | 243,8±3,0            | 3,9                  | +                                 | 75,7                      | -              |
| İB-162    | -                        | -                   | 258,8±4,7            | 1.1                  | +                                 | 72,5                      | -              |
| MK-262    | -                        | -                   | 247,8±2,5            | 1.9                  | +                                 | 75,3                      | -              |

Aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre izolatların çözdükleri fosfor miktarı bakımından istatistiki açıdan fark yoktur ( $p>0.05$ ).

##### 4.6.5.1. Levan oluşumu

Saksı denemesi için seçilen aday PGPR izolatlarının levan oluşum testi % 5 sakkaroz içeren NA besi ortamında yapılmış ve sonuçta EB-14, EB-15, EB-21, EB-38, AZB-64, ZEB-94, OB-169, HB-204, HB-207, HB-228, HB-230 ve HB-234 nolu izolatlarda kalın konveks ve mukoid gelişim gözlemlendiğinden levan pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kalın

konveks ve mukoid gelişmeyen MK-252, İB-162 ve MK-262 nolu izolatlar ise levan negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.24).



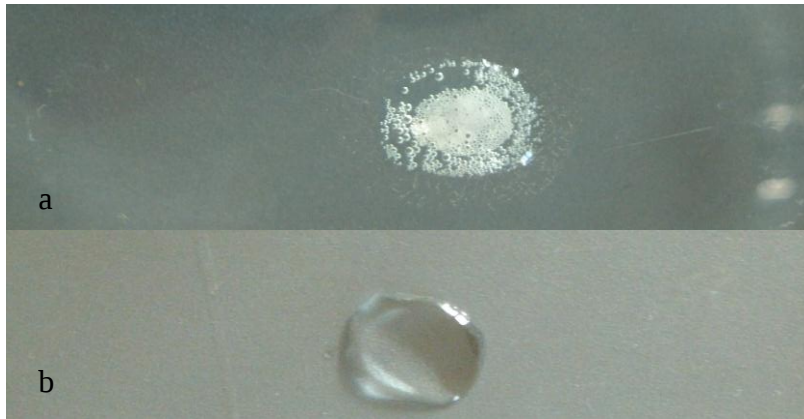
Şekil 4.24. Nutrient sakkaroz agar besiyerinde Levan testi; (a) pozitif ve (b) negatif

#### 4.6.5.2. Oksidaz Testi

Saksı denemesi için seçilen izolatlar oksidaz test solüsyonu emdirilmiş filtre kâğıdına çizilen zigzaglar sonucu herhangi bir renk değişimi olmadığı için saksı denemeleri için seçilen PGPR izolatlar oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.6.5.3. Katalaz Testi

NA ortamında geliştirilmiş 48 saatlik saksı denemeleri için seçilmiş izolatların üzerlerine lam üzerinde 1 ml % 3'lük Hidrojen Peroksit damlatılması ile tüm izolatlarda oksijen kabarcıkları görülmüştür (Şekil 4.25a). Oksijen kabarcıklarının gözlenmesi katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Kontrol olarak ise Hidrojen Peroksit'in saf suya damlatılması ile herhangi bir gaz çıkışı gözlenmemiştir.



Şekil 4.25. Katalaz pozitif (+) reaksiyon veren izolatların lam üzerinde oluşturduğu kabarcıklar (a) ve saf su (b)

#### 4.7. Bakterilerin BIOLOG GEN III Sisteminde Tanınması

BIOLOG GEN III sisteminde tanısı yapılan bakterilerin tanı sonuçları, benzerlik indeksleri ve biyokimyasal özellikleri Çizelge 4.5’de verilmiştir. BIOLOG GEN III tanı sonuçlarına göre; EB-14, EB-38, ZEB-94, OB-169, HB-204, HB-228, HB-230, HB-234 kodlu izolatları *Enterobacter cloacae* ssp *dissolvens*, EB-15 kodlu izolat *Pantoea agglomerans*, EB-21 kodlu izolat *Yersinia intermedia*, İB-162, MK-262 *Bacillus subtilis* /*atrophaeus* MK-252 nolu izolat *Bacillus subtilis* olarak tanımlanmıştır. AZB-64 ve HB-207 kodlu izolatlar ise cihazda tanılama yapılamamıştır (EK - 6). Tanımlanan izolatlar sakı denemelerinde kullanılmıştır.

Çizelge 4.5. Seçilen bakteri izolatlarının BIOLOG tanı sonuçları ve biyokimyasal özellikleri

| İzolatlar | BIOLOG tanı Sonucu                                | Benzerlik İndeksi | İzole Edildiği Yer | Sidereför etki | Levan Oluşumu | Oksidaz testi | Katalaz testi | Gram test |
|-----------|---------------------------------------------------|-------------------|--------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
| OB-169    | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.54              | Suluova            | -              | +             | -             | +             | -         |
| EB-14     | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.54              | Taşova             | -              | +             | -             | +             | -         |
| EB-15     | <i>Pantoea agglomerans</i>                        | 0.77              | G.Hacıköy          | -              | +             | -             | +             | -         |
| EB-21     | <i>Yersinia intermedia</i>                        | 0.55              | Göynücek           | -              | +             | -             | +             | -         |
| HB-234    | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.65              | Merzifon           | -              | +             | -             | +             | -         |
| HB-230    | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.52              | Göynücek           | -              | +             | -             | +             | -         |
| HB-207    | Tanımlanamadı                                     | -                 | Suluova            | -              | +             | -             | +             | -         |
| HB-204    | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.66              | Suluova            | -              | +             | -             | +             | -         |
| HB-228    | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.56              | Göynücek           | -              | +             | -             | +             | -         |
| AZB-64    | tanımlanamadı                                     | -                 | Suluova            | -              | +             | -             | +             | -         |
| ZEB-94    | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.54              | Göynücek           | -              | +             | -             | +             | -         |
| EB-38     | <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> | 0.64              | G.Hacıköy          | -              | +             | -             | +             | -         |
| MK-252    | <i>Bacillus subtilis</i> / <i>subtilis</i>        | 0.56              | Suluova            | -              | -             | -             | +             | +         |
| İB-162    | <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i>      | 0.58              | Göynücek           | -              | -             | -             | +             | +         |
| MK-262    | <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i>      | 0.57              | Suluova            | -              | -             | -             | +             | +         |

#### 4.8. *İn vivo* Saksı Denemelerinde Kullanılan Toprak Özellikleri

Saksı çalışmalarında kullanılan toprağı belirlemek için 6 farklı yerden toprak örneğı alınmıştır. Toprak örnekleri Merzifon Toprak ve Su Analiz Laboratuvarında fosfor analizi yapılmıştır. Analiz sonucunda fosfor bakımından en düşük olarak belirlenen yerden alınan toprak saksı çalışmasında kullanılmak üzere deneme alanına getirilmiştir (Çizelge 4.6). Saksı çalışmasında kullanılan toprağın fosfor miktarı 5,58 ppm olduğu belirlenmiştir. Bu değer fosfor bakımından fakir toprak sınıfına girmektedir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6. Saksı çalışmasında kullanılacak toprağı belirlemek için alınan örneklerinin fosfor miktarları

| Toprak Örnekleri | Fosfor miktarı(ppm) |
|------------------|---------------------|
| 1                | 12,9                |
| 2                | 6,56                |
| 3                | 32,74               |
| 4                | 5,66                |
| 5                | 5,58                |
| 6                | 13,86               |

Çizelge 4.7. Toprakların fosfor içeriklerine göre sınıflandırılması (Tüzüner, 1990)

| Alkalen reaksiyonlu topraklarda |               | Asit reaksiyonlu topraklarda |               |
|---------------------------------|---------------|------------------------------|---------------|
| P (ppm)                         | Sınıflandırma | P (ppm)                      | Sınıflandırma |
| < 2,5                           | Çok fakir     | < 5                          | Çok fakir     |
| 2,5-6                           | Fakir         | 5-12                         | Fakir         |
| 6-12                            | Orta          | 12-22                        | Orta          |
| > 12                            | Zengin        | > 22                         | Zengin        |

#### 4.9. Soğan'da Dip Çürüklüğü Hastalık Çıkışı Üzerine PGPR'lerin Etkisi

Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu deneme serasında yürütülen saksı denemelerinde Kantartopu ve Banko soğan çeşitleri kullanılmıştır (Şekil 4.26). Denemede kullanılacak tohumlar ISTA kurallarına göre *in vitro*'da yapılan çimlenme testinde çimlenme oranları belirlenmiş ve Kantartopu için ortalama % 88 olurken Banko çeşidinde ise % 92 olmuştur.



Şekil 4.26. Hastalık denemesinin kurulduğu deneme serası (a) ve araştırma parseli (b)

PGPR izolatlarının her iki soğan çeşidindeki dip çürüklüğü hastalığı üzerine etkisi pozitif kontrole göre önemli bulunmuştur (Çizelge 4.8). FOC İB-57 izolatı ile enfekteli toprakta yetiştirilen Kantartopu ve Banko soğan çeşidinde kontrolde hastalık şiddetleri sırası ile % 75 ve % 41,6 olarak saptanmıştır (Şekil 4.27). Çeşitler arasındaki kontroldeki hastalık şiddetlerinin farklı olması ise çeşitlerin dayanıklı ve duyarlı olmalarından kaynaklanmaktadır. Her iki soğan çeşidinin hastalık etmeninin bulunmadığı toprağa ekilmesi sonucu ise hiçbir hastalık belirtisi görülmemiştir. Deneme boyunca sera içi sıcaklık değişimi kayıt altına alınmıştır. IG-150 sıcaklık kayıt cihazına göre en düşük sıcaklık 15°C ölçülürken en yüksek sıcaklık ise 45 °C ölçülmüştür.

Çizelge 4.8. Aday PGPR izolatlarının sera koşullarında farklı soğan çeşitlerinde hastalık şiddeti üzerine olan etkisi

| İzolatlar                                                    | Kantartopu Soğan Çeşidi        |        | Banko Soğan Çeşidi              |        |
|--------------------------------------------------------------|--------------------------------|--------|---------------------------------|--------|
|                                                              | Hastalık Şiddeti $\pm$ SS      | % Etki | Hastalık Şiddeti $\pm$ SS       | % Etki |
| Pozitif Kontrol (FOC)                                        | 75,0 $\pm$ 15,81 <sup>f</sup>  | -      | 41,6 $\pm$ 12,9 <sup>f</sup>    | -      |
| Negatif Kontrol                                              | 0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>     | -      | 0,0 $\pm$ 0,0 <sup>a</sup>      | -      |
| ISR 2000 + FOC                                               | 41,6 $\pm$ 12,9 <sup>bcd</sup> | 44,4   | 20,8 $\pm$ 10,2 <sup>bcde</sup> | 44,4   |
| <i>Bacillus subtilis</i> MK-252+FOC                          | 25,0 $\pm$ 15,8 <sup>b</sup>   | 66,6   | 8,3 $\pm$ 12,9 <sup>ab</sup>    | 77,8   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> OB-169+FOC | 29,1 $\pm$ 18,8 <sup>bc</sup>  | 61,1   | 8,3 $\pm$ 12,9 <sup>ab</sup>    | 77,8   |
| <i>Pantoea agglomerans</i> EB-15+FOC                         | 33,3 $\pm$ 12,9 <sup>bc</sup>  | 55,6   | 12,5 $\pm$ 13,6 <sup>abc</sup>  | 66,6   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB14+FOC   | 33,3 $\pm$ 12,9 <sup>bc</sup>  | 55,6   | 16,6 $\pm$ 12,9 <sup>abcd</sup> | 55,7   |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> MK-262+FOC      | 33,3 $\pm$ 20,4 <sup>bc</sup>  | 55,5   | 16,6 $\pm$ 12,9 <sup>abcd</sup> | 55,7   |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> İB-162+FOC      | 33,3 $\pm$ 12,9 <sup>bc</sup>  | 55,5   | 12,5 $\pm$ 13,6 <sup>abc</sup>  | 66,6   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB230+FOC  | 37,5 $\pm$ 13,6 <sup>bc</sup>  | 50     | 25 $\pm$ 15,8 <sup>bcdef</sup>  | 33,3   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> ZEB94+FOC  | 41,6 $\pm$ 20,4 <sup>bcd</sup> | 44,4   | 16,6 $\pm$ 12,9 <sup>abcd</sup> | 55,7   |
| <i>Yersinia intermedia</i> EB-21+FOC                         | 45,8 $\pm$ 18,8 <sup>cde</sup> | 38,8   | 25 $\pm$ 15,8 <sup>bcdef</sup>  | 33,3   |
| AZB-64+FOC                                                   | 58,3 $\pm$ 12,9 <sup>def</sup> | 22,2   | 33,3 $\pm$ 12,9 <sup>def</sup>  | 11,1   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB-38+FOC  | 62,5 $\pm$ 13,6 <sup>ef</sup>  | 16,6   | 29,1 $\pm$ 18,8 <sup>cdef</sup> | 22,4   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB234+FOC  | 62,5 $\pm$ 13,6 <sup>ef</sup>  | 16,6   | 20,8 $\pm$ 10,2 <sup>bcde</sup> | 44,4   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB228+FOC  | 62,5 $\pm$ 13,6 <sup>ef</sup>  | 16,6   | 37,5 $\pm$ 13,6 <sup>ef</sup>   | 10,9   |
| HB-204+FOC                                                   | 66,6 $\pm$ 12,9 <sup>f</sup>   | 11,2   | 29,1 $\pm$ 18,8 <sup>cdef</sup> | 22,4   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB207+FOC  | 66,6 $\pm$ 12,9 <sup>f</sup>   | 11,2   | 33,3 $\pm$ 20,4 <sup>def</sup>  | 11,1   |

\*Aynı sütunda aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistikî açıdan fark yoktur (  $p>0,05$ ).

Kantartopu ve Banko çeşitlerinde farklı PGPR uygulamaları sonucunda meydana gelen hastalık şiddetleri Kantartopu çeşidinde dokuz, Banko çeşidinde ise sekiz PGPR izolatı hastalık şiddetini kontrole göre istatistikî olarak azalttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

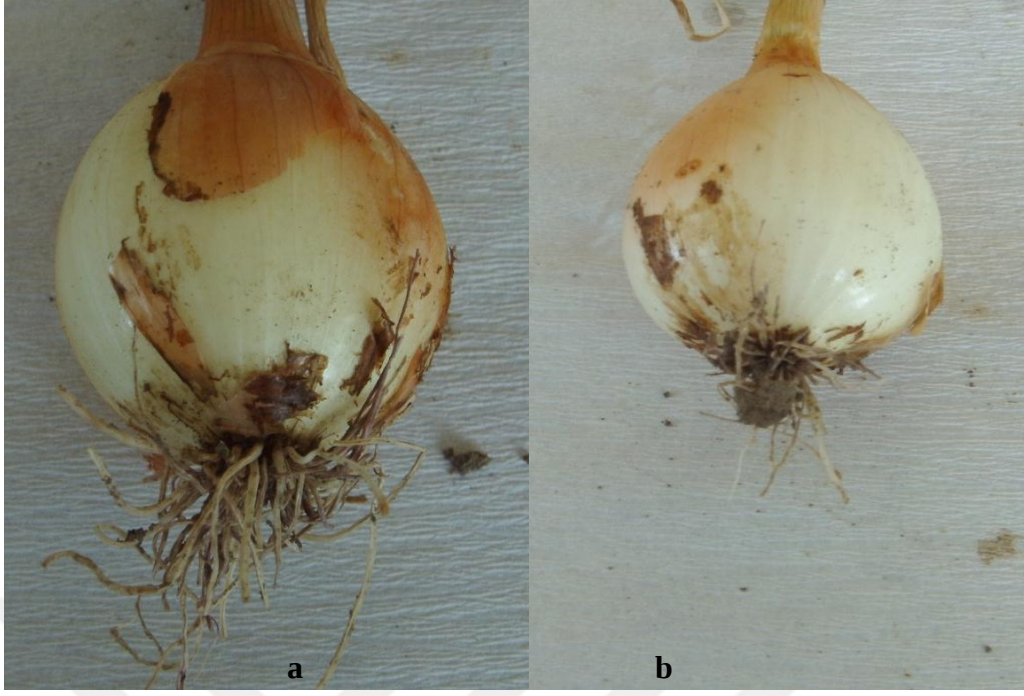
Kantartopu çeşidinde MK-252 kodlu PGPR izolatı Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı üzerine etkisi % 66,6 oranında olmuştur. Banko çeşidinde ise MK-252 izolatı ile OB-169 izolatı % 77,8 oranında hastalığa karşı etkili olduğu saptanarak hastalığa karşı en yüksek etkiyi göstermişlerdir (Şekil 4.28; Şekil 4.29). Bu izolatları Kantartopu çeşidinde % 61,1 ile OB-169, % 55,6 ile EB-14 ve EB-15, % 55,5 ile İB-162 ve MK-262, % 50 ile HB-230, % 44,4 ile ZEB-94 ve % 38,8 ile EB-21 izolatları etkili olduğu bulunmuştur (Şekil 4.27).

Banko çeşidinde ise Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığına karşı % 66,6 etki ile İB-162 ve EB-15 izolatları, % 55,7 etki ile MK-262, ZEB-94 ve EB-14 izolatları, % 44,4 etki ile HB-234 izolatları etkili olduğu görülmüştür (Çizelge 4.8). PGPR izolatlarından HB-207, HB-204, HB-228, HB-234, EB-38, AZB-64 izolatlar Kantartopu çeşidinde hastalık şiddeti pozitif kontrole göre % 11,2 - 22,2 oranında, HB-228, HB-207, AZB-64, HB-204, EB-38, EB-21, HB-230 izolatlar Banko çeşidinde hastalık şiddetlerinin % 10,9 - 33,3 oranında azaltmasına rağmen istatistiki olarak hastalığa karşı etkisi önemli olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

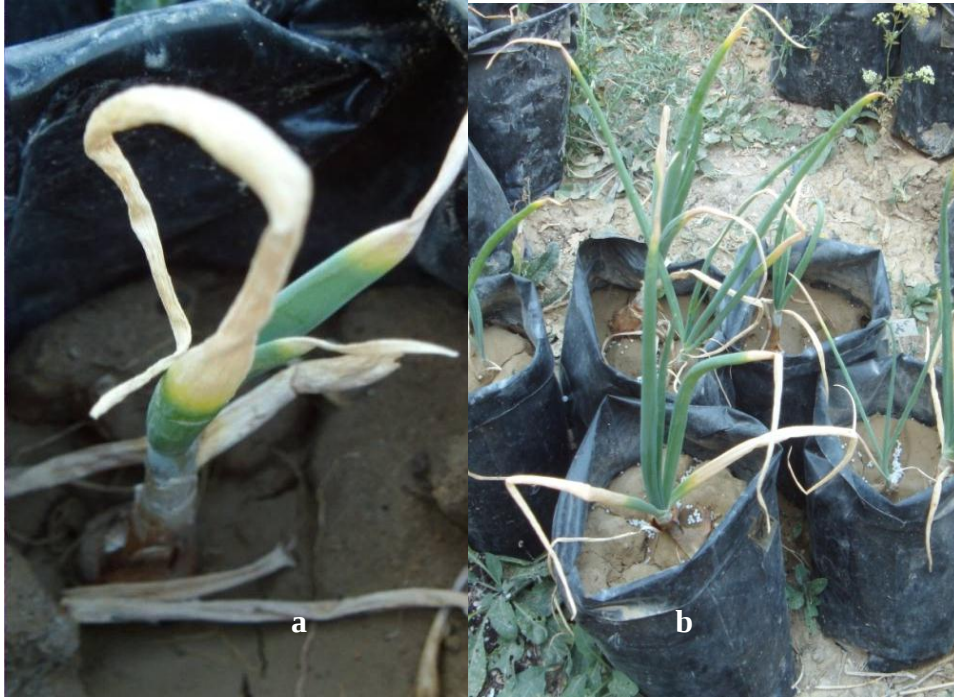
Kantartopu ve Banko çeşidinde ISR 2000'in soğan dip çürüklüğü etmeni FOC'un meydana getirdiği hastalık şiddetini pozitif kontrole göre her iki çeşitte % 44,4 oranında azalttığı saptanmıştır (Şekil 4.30; Şekil 4.31). Her iki soğan çeşidindeki ISR 2000 uygulamalarında meydana gelen hastalık şiddeti pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ) (Çizelge 4.8). Kantartopu çeşidin PGPR uygulamaları ISR 2000 uygulaması ile meydana gelen hastalık şiddeti ile istatistikî olarak karşılaştırıldığında on adet izolat, Banko çeşidi kullanılması ile de izolatların tamamı ISR 2000 ile benzer etki göstermiştir (Çizelge 4.8).



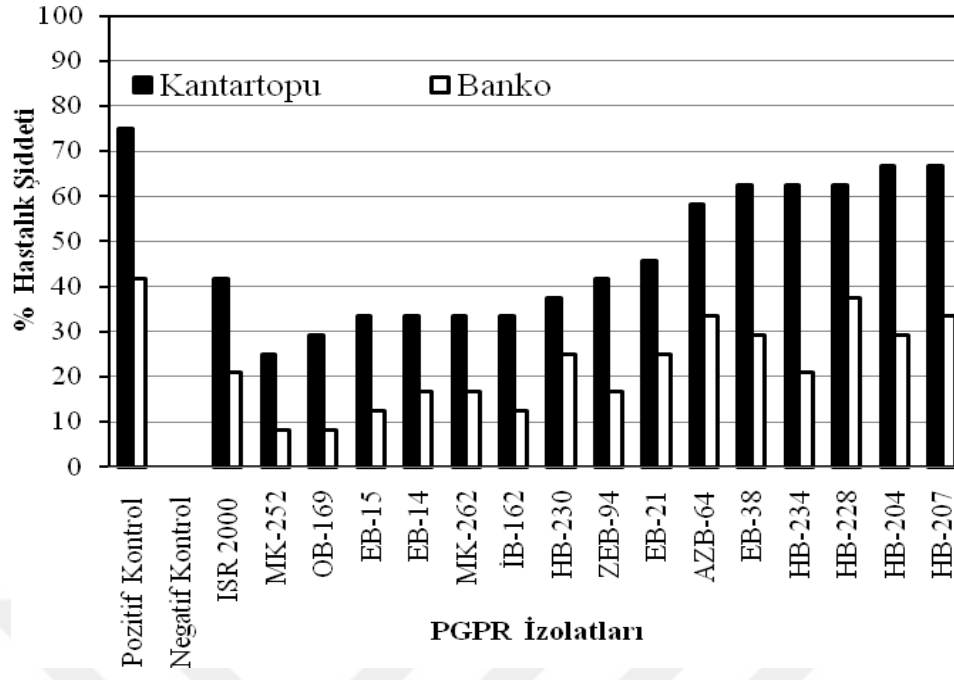
Şekil 4.27. Pozitif kontrolde Banko (a), Kantartopu (b) ve Negatif kontrolde (c) soğan kök gelişim



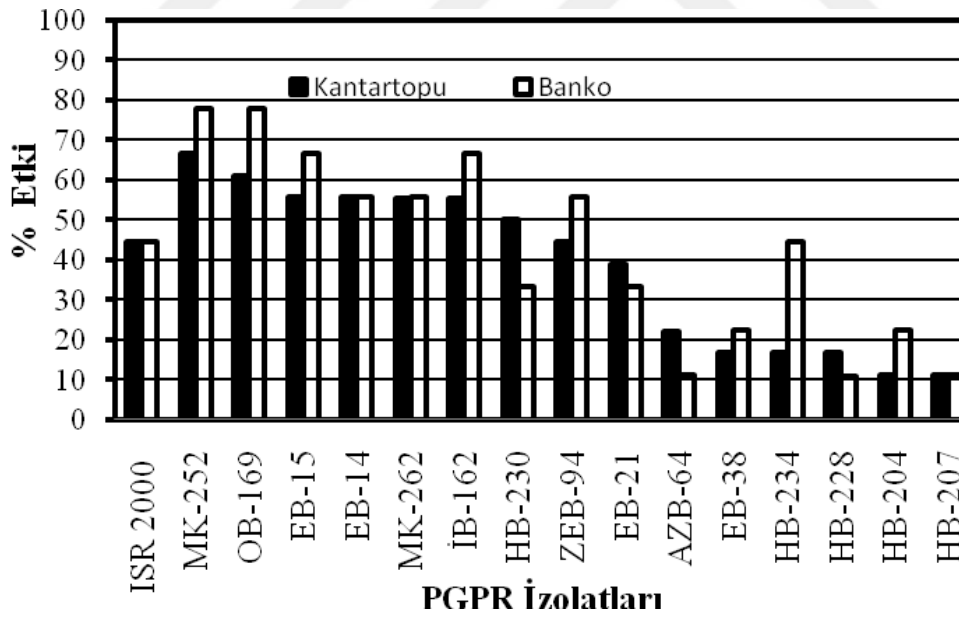
Şekil 4.28. MK-252 izolatının Banko (a) ve Kantartopu (b) soğan çeşitlerinde Soğan Dip Çürüklüğü hastalığına etkisi



Şekil 4.29. Pozitif kontrol uygulamasının (a) ve OB-169 izolatının (b) Kantartopu çeşidinde toprak üstü kısmı görünümü



Şekil 4.30. PGPR izolatlarının sera koşullarında ile meydana gelen Soğan Dip Çürüklüğü hastalık şiddetleri



Şekil 4.31. PGPR izolatlarının sera koşullarında Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı üzerine % etkisi

Soğan Dip Çürüklüğü hastalığı etmeninin PGPR'ler ile kontrolünü ikinci defa tekrarlamak için deneme açık alanda poşet saksılarda kurulmuştur. PGPR izolatların Soğan Dip Çürüklüğü hastalığına karşı Kantartopu ve Banko çeşitlerinde etkisini belirlemek için yapılan çalışmada soğanların dip kısımları ve yaprakları incelenmiştir. Kantartopu çeşidinde pozitif kontroldeki soğan dip çürüklüğü hastalık şiddeti % 83,3 saptanırken Banko çeşidinde bu oran % 45,83 saptanmıştır. Negatif kontrolde ise hastalık belirtisi gözlenmemiştir. Tüm uygulamaların soğan çeşitlerinde meydana getirdiği soğan dip çürüklüğü hastalık şiddetleri ve izolatların dip çürüklüğü hastalığını % engelleme oranları hesaplanmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. PGPR izolatlarının açık alanda kurulan saksı denemesinde hastalık şiddeti üzerine yüzde etkisi

| İzolatlar                                                    | Kantartopu                 |           | Banko                       |           |
|--------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------|-----------------------------|-----------|
|                                                              | Hastalık Şiddeti<br>±SS    | %<br>Etki | Hastalık Şiddeti<br>± SS    | %<br>Etki |
| Pozitif Kontrol (FOC)                                        | 83,3 ± 12,9 <sup>g</sup>   | -         | 45,8 ± 10,2 <sup>e</sup>    | -         |
| Negatif Kontrol                                              | 0,0±0,0 <sup>a</sup>       | 100       | 0,0±0,0 <sup>a</sup>        | 100       |
| ISR 2000 + FOC                                               | 50,0 ± 15,8 <sup>cde</sup> | 39,9      | 25,0± 15,8 <sup>bcde</sup>  | 45,4      |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> OB-169+FOC | 25,0±15,8 <sup>b</sup>     | 69,9      | 16,6 ± 12,9 <sup>abc</sup>  | 63,7      |
| <i>Bacillus subtilis</i> MK-252+FOC                          | 33,3±12,9 <sup>bc</sup>    | 60,0      | 16,6 ± 12,9 <sup>abc</sup>  | 63,7      |
| <i>Pantoea agglomerans</i> EB-15+FOC                         | 33,3±12,9 <sup>bc</sup>    | 60,0      | 20,8±10,2 <sup>abcd</sup>   | 54,5      |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB-14+FOC  | 37,5±26,2 <sup>bc</sup>    | 54,9      | 25,0 ± 15,8 <sup>bcde</sup> | 45,4      |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> İB-162+FOC      | 37,5±13,6 <sup>bc</sup>    | 54,9      | 12,5± 13,6 <sup>ab</sup>    | 72,7      |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> MK-262+FOC      | 41,6±20,4 <sup>bcd</sup>   | 50        | 12,5± 13,6 <sup>ab</sup>    | 72,7      |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-230+FOC | 45,8±18,8 <sup>bcd</sup>   | 45        | 29,1± 10,2 <sup>bcde</sup>  | 36,3      |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> ZEB-94+FOC | 50,0±22,3 <sup>cde</sup>   | 39,9      | 29,1± 10,2 <sup>bcde</sup>  | 36,3      |
| <i>Yersinia intermedia</i> EB-21+FOC                         | 54,1±18,8 <sup>cdef</sup>  | 35        | 33,3 ± 12,9 <sup>bcde</sup> | 27,3      |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-234+FOC | 62,5±20,9 <sup>defg</sup>  | 24,9      | 37,5±20,9 <sup>cde</sup>    | 18,1      |
| HB-204+FOC                                                   | 62,5±13,6 <sup>defg</sup>  | 24,9      | 37,5±20,9 <sup>cde</sup>    | 18,1      |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-207+FOC | 70,8±10,2 <sup>efg</sup>   | 15        | 41,6±12,9 <sup>de</sup>     | 9,2       |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB 38+FOC  | 70,8±18,8 <sup>efg</sup>   | 15        | 33,3±20,4 <sup>bcde</sup>   | 27,3      |
| AZB-64+FOC                                                   | 75,0±15,8 <sup>fg</sup>    | 9,9       | 41,6±12,9 <sup>de</sup>     | 9,2       |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-228+FOC | 75,0±15,8 <sup>fg</sup>    | 9,9       | 41,6±12,9 <sup>de</sup>     | 9,2       |

\*Aynı sütunda aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistikî açıdan fark yoktur ( p>0,05).

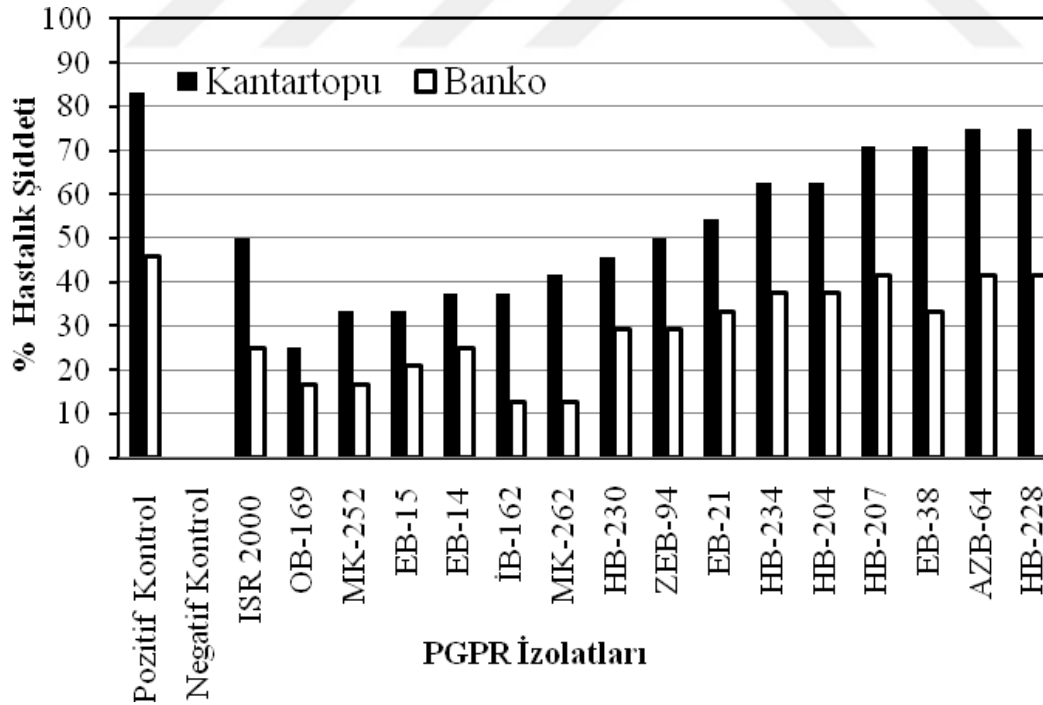
Kantartopu çeşidinde dokuz PGPR izolat (OB-169, MK-252, EB-15, EB-14, İB-162, MK-262, HB-230, ZEB-94, EB-21) hastalığın kontrolünde istatistiki olarak etkili olduğu belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ). İzolatlar arasındaki OB-169 PGPR izolatı % 69,9 etki ile Soğan Dip Çürüklüğü hastalığına karşı en iyi etki gösteren izolat olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.32). Bu izolatı sırası ile % 60,3 ile MK-252 ve EB-15 izolatları, % 54,9 ile EB-14 ve İB-162 izolatları, % 50 ile MK-262 izolatı, % 45 ile HB-230 izolatı, % 39,9 ile ZEB-94 izolatı, % 35 ile EB-21 izolatı takip etmiştir. Altı izolat ise hastalığı pozitif kontrole göre % 24,9 ile % 9,9 arasında engellemesine rağmen bu oran istatistiki olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3).

Banko çeşidinde ise altı PGPR izolatı (OB-169, MK-252, EB-15, EB-14, İB-162, MK-262) ile meydana gelen hastalık şiddeti pozitif kontrole göre istatistikî olarak hastalığa karşı etkili bulunmuştur ( $p \leq 0,05$ ). Soğanların dip kısımları ve yaprak sararmaları incelendiğinde hastalığı pozitif kontrole göre % 72,7 engelleme oranı ile MK-262 ve İB-162 PGPR izolatları dip çürüklüğü hastalığına karşı en etkili izolatlar olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ). PGPR izolatlarından MK-252 ve OB-169 izolatları % 63,7, EB-15 izolatı % 54,5, EB-14 izolatı % 45,4 oranında hastalığı engellediği görülmüştür (Şekil 4.34). Dokuz PGPR izolat ise hastalık şiddetini % 9,2 - 36,3 oranında azaltmasına rağmen istatistiki olarak hastalığa karşı etkisi önemsiz oldukları görülmüştür (Çizelge 4.9).

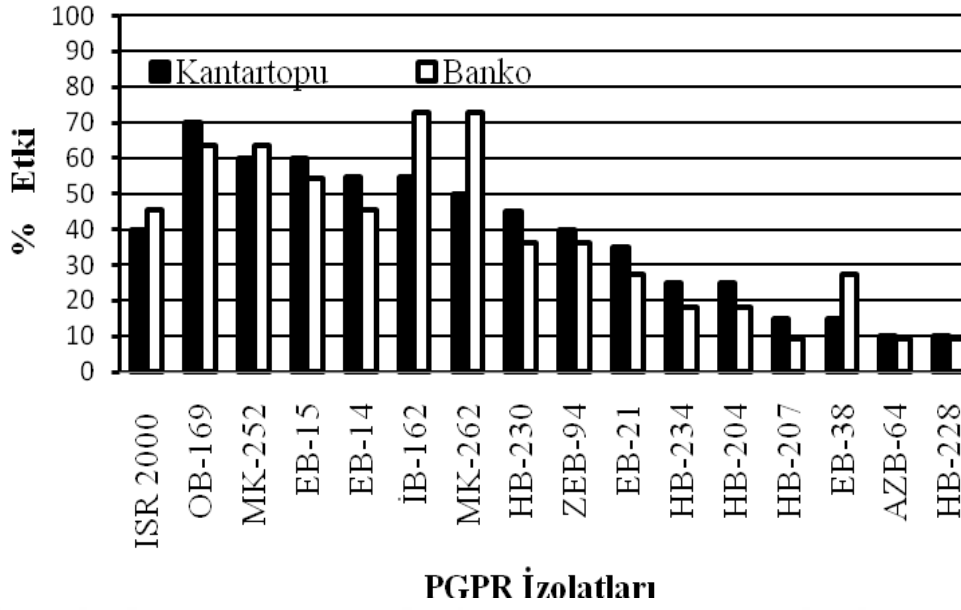
ISR 2000 uygulamasında ise Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığını pozitif kontrole göre Kantartopu çeşidine göre % 39,9 oranında, Banko çeşidinde % 45,4 oranında azalttığı saptanmıştır. Kantartopu ve Banko çeşidi Soğan Dip Çürüklüğü hastalığına karşı etkili bulunan izolatların hepsi ISR 2000 ile istatistiki olarak benzer etki gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.9).



Şekil 4.32. OB-169 bakteri izolatının Kantartopu soğan çeşidi üzerinde hastalık çıkışına etkisi  
(a) Kantartopu kontrol, (b,c) OB-169 izolatı uygulanmış Kantartopu soğan bitkisi üzerinde hastalık çıkışını engellemesi



Şekil 4.33. PGPR izolatlarının uygulandığı soğanlarda saksı denemesinde meydana gelen hastalık şiddetleri



Şekil 4.34. PGPR izolatlarının saksı denemesinde soğan bitkisinde ortaya çıkan hastalık şiddetini engellemesi üzerine % etkisi

Kantartopu ve Banko çeşidinde Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığına karşı gösterdiği duyarlılık reaksiyonunda farklı olduğu ve bu çeşitlerin duyarlı ve dayanıklı olmasından kaynaklanmaktadır. Çoşkuntuna ve Özer (2008), *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'nın biyolojik kontrolüne yönelik yaptıkları çalışmada hastalığa karşı hassas olduğunu belirttikleri Kantartopu çeşidini kullanmışlardır. Pozitif kontrolün hastalık şiddetini % 70 olarak saptamışlardır. Sera koşullarında kurduğumuz denemede Kantartopu çeşidinde pozitif kontroldeki hastalık şiddeti % 75 olarak saptanarak literatür çalışması ile uyum içinde olduğu görülmüştür. Açık alan koşullarında yapılan saksı çalışmalarında Kantartopu çeşidinde hastalık şiddeti % 83,3 olarak saptanmıştır. Dış ortamda hastalık dip çürüklüğü şiddetinin daha fazla olmasının nedeni olarak sera ortamına gündüz sıcaklığının çok fazla artması ve hastalık etmeni FOC'un bundan olumsuz etkilendiği söylenebilir.

Abawi ve Lorbeer (1972), FOC ekolojisi ve patolojisi üzerinde yaptıkları çalışmada ortam sıcaklığın fungusun gelişimini etkilediğini belirtmişlerdir. Yaptıkları *in vitro* çalışmada FOC için gelişim sıcaklığı en uygun 27 °C olarak saptamışlardır. Bizim çalışmamızda sera içlerinin sıcaklığı dış ortama bağlı olarak deneme boyunca ortalama 33,4 °C olarak hesaplanmıştır. Tarla koşullarının sıcaklığı ise ortalama 25,75 °C olmuştur. Bu sıcaklık farkına bağlı olarak aynı çeşitte kurulan denemelerde tarla koşullarındaki dip çürüklüğü hastalık şiddeti daha fazla olmuştur. Banko çeşidinde ise hastalık şiddeti ise her iki deneme alanında da Kantartopu çeşidine göre düşük olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda Banko

çeşidi soğan dip çürüklüğü hastalık etmeni FOC'a karşı Kantartopuna göre oldukça dayanıklı bir çeşit olduğu tespit edilmiştir.

Dünya üzerinde bitki hastalıklarına karşı kullanılan kimyasal ilaçların çevre ve insan sağlığı üzerine zararlı etkilerinin ortaya konulması ile beraber günümüzde bitki hastalıklarına karşı biyolojik mücadele önem kazanmıştır. Soğan dip çürüklüğü etmeni FOC'un biyolojik mücadelesi üzerine yapılan çalışmada topraktan izole ettiğimiz PGPR izolatlarının Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığı etmeni FOC'a karşı biyokontrol elemanı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Jaqtap ve Suryawanshi (2015), *in vitro* da yaptığı ikili kültür test çalışmasında *Bacillus subtilis* izolatının *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*'nin misel gelişimini % 23,7 oranında baskıladığını gözlemlemiştir. Çalışmamızda da topraktan izola ettiğimiz ve *Bacillus subtilis* olarak tanımladığımız MK-252, İB-162 ve MK-262 PGPR izolatları *in vitro*'da dip çürüklüğü hastalık etmeni FOC'un miselyum gelişimini % 72,5 - % 75,8 arasında engellediği tespit edilmiştir.

Orio ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada soğan kök kısımlarından izole ettikleri *B. subtilis* ALBA 01 izolatı soğanda pembe kök hastalık etmeni *Setophoma terrestris*'e karşı *in vitro*'da oldukça etkili olduğu saptarken FOC'a karşı herhangi bir etki göstermediğini belirtmişlerdir. Bu sonuç PGPR izolatlarının aynı tür içerisinde olmasına rağmen izolatlar arasında farklılıklar olduğunu göstermektedir.

Cavaglieri ve ark. (2005), topraktan izole ettikleri *B. subtilis* CE1 izolatının mısırdaki hastalık etmeni *Fusarium verticillioides*'a karşı etkisini *in vivo*'da sera koşullarında araştırmışlardır. Farklı yoğunluktaki bakteri uygulamaları ile yaptıkları denemede tüm yoğunlukların hastalığa karşı etkili olduğunu saptarken en etkili yoğunluğun  $10^8$  CFU/ml uygulaması olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda da *B. subtilis* izolatları hem sera koşullarında hem de tarlada koşullarında soğan dip çürüklüğü etmeni FOC karşı etkili olduğu saptanarak yukarıdaki çalışma ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Ashwini ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada *B. subtilis*'in biyolojik kontroldeki etki mekanizmasını araştırmışlardır. Biber bitkisi kök kısmından izole ettikleri *B. subtilis*'in özellikle hücre duvarını parçalayan enzimler olan glukanaaz ve sellülaaz enzimlerini salgıladığını ve bu enzimlerin patojen fungusların hücre duvarlarını parçaladığını belirtmişlerdir.

Wang ve ark. (2015), hasat edilmiş kirazlardaki çürüklük etmeni *Penicillium expansum* fungusuna karşı *Bacillus cereus* AR156 etki mekanizmasını araştırmışlardır. *Bacillus cereus* AR156 izolatının özellikle kitinaz ve glukanaz enzimleri ile *P. expansumun* hücre duvarını parçalayarak misel gelişimini engellediğini belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda topraktan izole ettiğimiz *Bacillus* spp. olarak tanımladığımız izolatların ile hem *in vitro* hem de *in vivo*'da soğan dip çürüklüğü etmeni FOC'a karşı etkili olduğunu ve bu etkinin benzer mekanizma ile olup olmadığı araştırılmalıdır. Çalışmamızda topraktan izole ettiğimiz ve *Enterobacter* spp. ve *Pantoea agglomerans* olarak tanımladığımız yüksek derece fosfor çözme özelliğine sahip PGPR izolatları *in vitro*'da antagonistik olmadığı, *in vivo* da hastalık gelişimini engellediği görülmüştür. Bu PGPR izolatlarının etki mekanizmasının araştırılması gerektiğini ortaya konulmuştur.

*Enterobacter cloacae* izolatlarının bitki hastalık etmenlerine karşı biyolojik mücadele amacı ile kullanılabileceğinin belirtildiği bir çalışmada Chen ve ark. (2016), narenciye ürünlerinde yeşil çürüklük etmeni *Penicillium digitatum* konidiaları ile *E. cloacae* izolatının hücrelerini su yardımıyla karıştırarak farklı yoğunlukta fungus+bakteri süspansiyonlar hazırlamışlardır. Süspansiyonların narenciyelere püskürtülmesi sonucu bakteri izolatlı süspansiyon pozitif kontrol olarak kullanılan uygulamaya göre fungus gelişimini bakteri yoğunluğuna göre % 100'e kadar engellediğini saptamışlardır. Etki mekanizması olarak GC/MS'de yaptıkları analizde *E. cloacae*'nın bütül asetat, feniletil alkol ve dimetil hekzan salgılayarak hastalık etmenlerine karşı antifungal etki gösterdiğini saptamışlardır. Chen ve ark. (2006), fosfor çözen PGPR bakterilerin etki mekanizmalarını araştırmışlardır. Yaptıkları HPLC'de organik asit analizinde bakterilerin sitrik asit, glukonik asit, laktik asit, sukkinik asit, propionik asit ve tespit edilemeyen üç organik asit'in fosfor çözmede rol aldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda fosfor çözme özelliğine sahip ve Soğan Dip Çürüklüğü hastalığına karşı etkili bulunan *E. cloacae* olarak tanımladığımız izolatların hastalık gelişimini önlemede ve fosfor çözünürlüğünde kullanıldığı etki mekanizmalarının araştırılması gerektiği görülmektedir.

Abdeljalil ve ark. (2016), domates (*Lycopersicon esculentum*) kök bölgesinden izole ettikleri 25 adet PGPR bakterisinin domates çökerten hastalık etmeni *Rhizoctonia solani*'ye karşı etkilerini *in vivo* ve *in vitro*'da araştırmışlardır. *In vivo*'da bakteri izolatları hastalık etmeni fungusun miselyum gelişimini önemli ölçüde baskıladığını saptamışlardır. Özellikle antagonist izolatlardan *B. thuringiensis* B2 (% 62,9), *B. subtilis* B10 (% 63,8 ) ve *E. cloacae*

B16 (% 67,2) domates çökerten hastalığını engellemede en etkili izolatlar oldukları bildirilmiştir.

Ramesh ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada topraktan izole ettikleri *Enterobacter* spp. (EB44, EB89) bakteri izolatının patlıcandaki *Ralstonia solanacearum* hastalık etmenine karşı etkisini sera koşullarında araştırmışlardır. Kontroldeki hastalık şiddetini % 100 olarak buldukları denemelerinde *Enterobacter* spp. (EB44, EB89) uygulamalarında hastalık şiddetleri % 30'a düşerek izolatların *R. solanacearum*'a karşı % 70 etki gösterdiklerini saptamışlardır. Çalışmamızda tanımladığımız *Enterobacter* spp. cinsi izolatların *in vivo*'da FOC'a karşı etkili olması literatürdeki *Enterobacter* spp. cinsi bakterilerin farklı hastalıklara karşı da biyolojik mücadelede kullanılabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda toraktan izole ettiğimiz ve *Pantoea agglomerans* türü olarak tanımladığımız EB-15 izolatıda farklı hastalıklara karşı biyolojik mücadelede kullanılabilmektedir. Yapılan bir çalışmada da Smail ve ark. (2016), *Pantoea agglomerans* P10C izolatının armut ateş yanıklığına neden olan *Erwinia amylovora* patojenine karşı etkinliğini tarla koşullarında araştırmıştır. Pozitif kontrol olarak tek başına uygulanan *E. amylovora*'nın armut meyveleri üzerinde hastalık şiddetini % 96 olarak belirlemişlerdir. *Pantoea agglomerans*'ın  $10^8$  CFU/ml yoğunlukta solüsyon hazırlanmasıyla yapılan meyve uygulamalarında ise meyve çürüklüğünün % 64,7 - 76,9 arasında azaldığını tespit ederek armut ateş yanıklığı etmeni *Erwinia amylovora*'ya karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Dastager ve ark. (2009), Hindistan'da fosfat çözme özelliğine sahip *Pantoea* spp. izolatının IAA, siderefor, HCN üretimi ile bitkiler üzerinde patojenik fungus olan *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* ve *Geotrichum candidum in vitro* koşullarda antagonistik özellik gösterdiğini saptamışlardır.

Li ve ark. (2010), farklı pamuk çeşitlerinin köklerinden izole ettikleri endofitik bakterilerden olan *Pantoea* spp. izolatlarının pamukta hastalık etmeni funguslardan *Verticillium dahliae* Kleb V107, V396 ve *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* (F108) izolatlarına karşı etkili olduklarını saptamışlardır. Çalışmamızda topraktan izole ettiğimiz ve Soğan Dip Çürüklüğü etmeni FOC'a karşı biyolojik mücadelesinde başarılı sonuç aldığımız EB-15 kodlu izolat *Pantoea agglomerans* olarak tanımlanmıştır. Bu izolatın literatürde farklı hastalık etmenlerine karşı biyolojik mücadelede kullanılabildiği saptanmıştır.

Yapılan literatür çalışmasında soğanda dip çürüklüğü hastalığına karşı yapılan biyolojik mücadele çalışmalarına oldukça az rastlanmıştır. Coşkuntuna ve Özer (2008), soğanda dip çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepea* nın biyolojik kontrolü üzerine yaptıkları çalışmada ticari preperat olan *Trichoderma harzianum* KUEN 1585 izolatının hastalık etmenine karşı etkisini *in vivo* ve *in vitro* çalışmaları ile araştırmışlardır. *In vitro*'da yaptıkları ikili karşılaştırmada *T. harzianum* soğan dip çürüklük etmeni FOC'un miselyum gelişimini % 73,3 oranına baskıladığını saptamışlardır. Bu sonuç topraktan izole ettiğimiz *B.subtilis* olarak tanımladığımız MK-262, İB-162 ve MK-252 izolatlarının yüzde engellemeleri ile yaklaşık olarak aynı oranda olduğu görülmektedir. Çalışmalarının ikinci aşamalarında ise tarla koşullarında yaptıkları denemelerinde *T. harzianum* uygulamalarının dip çürüklüğü hastalığına karşı etkisini bir fungusit olan prochloraz etkisi ile karşılaştırmışlardır. İki uygulamanın da hiçbir uygulama yapılmamış pozitif kontrole göre hastalığı önemli bir şekilde düşürdüğünü saptamışlardır. Kendi aralarındaki hastalığı azaltması bakımından karşılaştırıldığında ise aradaki farkın istatistikî olarak önemsiz olduğunu saptayarak *T. harzianum* un bir fungusit olan prochloraz ile benzer etki gösterdiğini saptamışlardır.

Rajendran ve Ranganathan (1996), FOC'un biyolojik kontrolüne yönelik saksı ve tarla koşullarında yaptıkları çalışmada *Trichoderma* spp. ve *Pseudomonas fluorescents* kombinasyonunun hastalığı azaltmada etkili olduğunu saptamışlardır.

Joon ve ark. (2000), soğanda tarla ve depoda hastalık etmenleri olan *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* spp. ve *Botrytis allii* 'nin biyokontrolü ile ilgili çalışma yapmışlardır. Soğanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarında soğan bitkilerinden kök kısımlarından izole ettikleri bazı epifitik mikroorganizmalardan olan *Bacillus* spp., *Paenibacillus* spp., *Pseudomonas putida* ve *Trichoderma harzianum*'un hastalık etmenlerinin gelişimini farklı oranlarda inhibe ettiklerini saptamışlardır. Bunlar arasındaki *Trichoderma harzianum* ve *Bacillus amyloliquefaciens* uygulamaları % 16 olan kontroldeki dip çürüklüğü hastalık şiddetini % 4'e indirerek en iyi etki gösterdiklerini saptamışlardır.

#### **4.10. PGPR İzolatlarının Soğan Bitkisinin Gelişimine Etkisi**

Amasya Üniversitesi Suluova MYO uygulama ve araştırma serasında % 5 oranında kaya fosfatı eklenmiş fosfor bakımından fakir toprak (5,58 ppm) ile kurulan saksı denemesinde Kantartopu ve Banko soğan çeşitleri kullanılmıştır. Deneme iki soğan çeşidinin tohumlarına PGPR izolatı olarak seçilen 15 adet izolat, bitki gelişimini artırıcı şahit ticari preperat (ISR 2000) uygulaması ve tohumlara su uygulanan negatif uygulama şeklinde kurulmuştur.

PGPR izolatlarının soğan yaprak boyu, soğan yaprak sayısına, soğan kök uzunluğuna, baş soğan çapına, baş soğan yaş ağırlığına ve kuru ağırlığına etkileri olduğu belirlenmiştir.

##### **4.10.1. PGPR izolatlarının soğan yaprak uzunluğu ve yaprak sayısına etkisi**

Kantartopu ve Banko soğan çeşitlerinde farklı PGPR izolat ve ISR 2000 uygulamaları sonucunda meydana gelen yaprak uzunluğu, yaprak sayısı, uygulamaların negatif kontrole göre etkilerinin farklı oldukları saptanmıştır (Çizelge 4.10). Farklı PGPR uygulamaları sonucunda her iki soğan çeşidinde meydana gelen yaprak uzunluklarının negatif kontrole göre kıyaslandığında dokuz PGPR izolatının (EB-14, OB-169, EB-15, İB-162, MK-252, HB-204, HB-234, MK-262, HB-228) yaprak uzunluğu istatistikî olarak önemli bir şekilde artırdığı saptanmıştır ( $p \leq 0,05$ ) (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. PGPR izolatlarının soğan çeşitlerinde yaprak uzunluğu ve yaprak sayısına etkisi

| İzolatlar                                                | Kantartopu               |        |                         |        | Banko                    |        |                         |        |
|----------------------------------------------------------|--------------------------|--------|-------------------------|--------|--------------------------|--------|-------------------------|--------|
|                                                          | Yaprak uzunluğu (cm)± SS | % Etki | Yaprak Sayısı ± SS      | % Etki | Yaprak uzunluğu (cm)± SS | % Etki | Yaprak Sayısı ± SS      | % Etki |
| Negatif Kontrol                                          | 18,8±2,1 <sup>de</sup>   | -      | 3±0,8 <sup>de</sup>     | -      | 20,6±0,8 <sup>efg</sup>  | -      | 4,5± 0,5 <sup>de</sup>  | -      |
| ISR 2000                                                 | 22,5±2,7 <sup>bc</sup>   | 19,6   | 4±0,6 <sup>abcd</sup>   | 33,3   | 24,1±0,7 <sup>bc</sup>   | 16,9   | 7,5± 1,87 <sup>ab</sup> | 77     |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvans</i> EB-14  | 26,1±2,4 <sup>a</sup>    | 38,8   | 4,8±0,4 <sup>ab</sup>   | 60     | 26,6±1,0 <sup>a</sup>    | 29,1   | 7,8± 1,6 <sup>ab</sup>  | 73,3   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvans</i> OB-169 | 26± 1,7 <sup>a</sup>     | 38,2   | 5,1±0,7 <sup>a</sup>    | 70     | 26,3±1,0 <sup>ab</sup>   | 27,6   | 8,5± 1,64 <sup>a</sup>  | 88,8   |
| <i>Pantoea agglomerans</i> EB-15                         | 25,5±2,1 <sup>a</sup>    | 35,6   | 4,5±0,8 <sup>abc</sup>  | 50     | 26,1±1,6 <sup>ab</sup>   | 26,6   | 7,3± 1,2 <sup>abc</sup> | 62,2   |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> İB-162      | 24,6±1,9 <sup>ab</sup>   | 25     | 4,3±1,3 <sup>abcd</sup> | 43,3   | 26,3±1,6 <sup>ab</sup>   | 27,6   | 7,5± 1,0 <sup>abc</sup> | 77     |
| <i>Bacillus subtilis</i> MK-252                          | 22,6±4,1 <sup>bc</sup>   | 20,2   | 4±1,09 <sup>abcd</sup>  | 33,3   | 24,5±3,6 <sup>abc</sup>  | 18,9   | 7,5± 1,2 <sup>abc</sup> | 77     |
| HB-204                                                   | 22,3±1,8 <sup>bc</sup>   | 18,6   | 3,5±1,0 <sup>bcde</sup> | 16,6   | 23,6±2,1 <sup>cd</sup>   | 14,5   | 6,6± 1,7 <sup>abc</sup> | 46,6   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvans</i> HB-234 | 22,1±2,4 <sup>bc</sup>   | 17,5   | 3,3±1,2 <sup>cde</sup>  | 10     | 24,1±1,3 <sup>bc</sup>   | 16,9   | 7,1± 1,9 <sup>abc</sup> | 57,7   |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> MK-262      | 21,8±1,7 <sup>bc</sup>   | 15,9   | 4,1±1,4 <sup>abcd</sup> | 36,6   | 24,8±0,7 <sup>abc</sup>  | 20,3   | 6,6±1,2 <sup>abc</sup>  | 46,6   |
| HB-228                                                   | 21,6±2,0 <sup>c</sup>    | 14,8   | 3,1±0,7 <sup>cde</sup>  | 3      | 23,6±2,3 <sup>cd</sup>   | 14,5   | 6,1± 1,7 <sup>bcd</sup> | 35,5   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvans</i> HB-230 | 21±1,7 <sup>de</sup>     | 11,7   | 4,1±1,8 <sup>abcd</sup> | 36,6   | 22,8±0,9 <sup>cde</sup>  | 10,6   | 6,1± 1,7 <sup>bcd</sup> | 35,5   |
| <i>Yersinia intermedia</i> EB-21                         | 18,6±1,7 <sup>de</sup>   | -1     | 3,5±0,5 <sup>bcde</sup> | 16,6   | 21,6±2,0 <sup>def</sup>  | 4,8    | 5,5± 2,4 <sup>cde</sup> | 22,2   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvans</i> EB-38  | 16,8±2,1 <sup>e</sup>    | -10,6  | 3,3±1,2 <sup>cde</sup>  | 10     | 18,5±1,7 <sup>g</sup>    | -10,1  | 5,5± 1,8 <sup>cde</sup> | 22,2   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvans</i> ZEB-94 | 16,8±1,8 <sup>e</sup>    | -10,6  | 3±0,8 <sup>de</sup>     | 0      | 19,6±1,6 <sup>fg</sup>   | -4,8   | 4,1± 1,1 <sup>de</sup>  | -8,8   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvans</i> HB-207 | 16,6±2,0 <sup>e</sup>    | -11,7  | 3,6±1,5 <sup>bcde</sup> | 20     | 20,8±2,7 <sup>efg</sup>  | 0,9    | 4± 1,2 <sup>e</sup>     | -11,1  |
| AZB-64                                                   | 16,3±1,8 <sup>e</sup>    | -13,2  | 2,3±0,5 <sup>e</sup>    | -23,3  | 18,8±2,4 <sup>g</sup>    | -8,7   | 4,8± 2,3 <sup>de</sup>  | 6,6    |

\*Aynı sütunda aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistikî açıdan fark yoktur ( p>0,05).

PGPR izolatlarından EB-14 izolatı Kantartopu çeşidinde negatif kontrole göre yaprak uzunluğunu % 38,8, OB-169 izolatı % 38,2, EB-15 izolatı % 35,6, İB-162 izolatı % 25 oranlarında artırdığı tespit edilmiştir. Bu dört izolat uygulamalarının yaprak uzunluğuna etkisi istatistikî olarak kendi arasında kıyaslandığında ise aradaki farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir. Soğan yaprak uzunluğuna etkisi bu izolatlardan farklı olarak MK-252 izolatı % 20,2, HB-204 izolatı % 18,6, HB-234 izolatı % 17,5, MK-262 izolatı % 15,9 ve HB-228 izolatı % 14,8 oranlarında artırması ile yaprak uzunluğuna etkisi önemli bulunmuştur

(Çizelge 4.10; Şekil 4.35). Kantartopu çeşidinde yaprak yaprak uzunluğu artışında önemli olan PGPR izolatları (OB-169, EB-14, EB-15, MK-252, İB-162, MK-262, HB-234, HB-204 ve HB-228) aynı şekilde Banko soğan çeşidinde de yaprak uzunluğu artışında (% 14,5 - 29,1) önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.10).



Şekil 4.35. PGPR izolatlarının Kantartopu soğan çeşidinde yaprak uzunluğuna olan etkisi; a) Kontrol, b) EB-14 izolatı

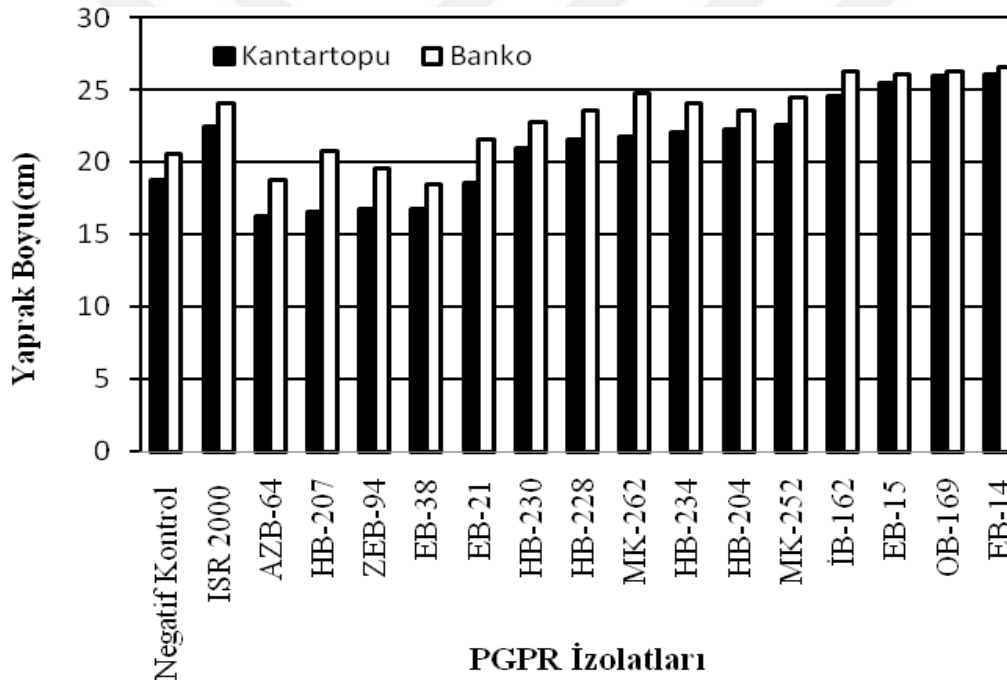
Kantartopu soğan çeşidinde AZB-64, HB-207, ZEB-94, EB-38 ve EB-21 PGPR izolatlarının yaprak uzunluğuna etkisi % 1 - 13,2 arasında ve Banko soğan çeşidinde ise EB-38, ZEB-94 ve AZB-64 PGPR izolatlarında ise % 4,8 - 10,1 arasında azalma olmasına rağmen bitki boyları negatif kontrole göre kıyaslandığında aradaki farkın önemli olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

Kantartopu soğan çeşidinde şahit ticari preperat (ISR 2000) uygulaması negatif kontrole göre yaprak uzunluğu % 19,6 oranında Banko çeşidinde ise % 16,9 artırmış ve bu artışın her iki soğan çeşidin de istatistikî olarak önemli olduğu görülmüştür (Şekil 4.36). PGPR izolatlarının Kantartopu soğan çeşidinde yaprak uzunluğuna etkisi ISR 2000 ile kıyaslandığında HB-234, HB-230, HB-204, HB-228, MK-252, İB-162 ve MK-262 izolatları

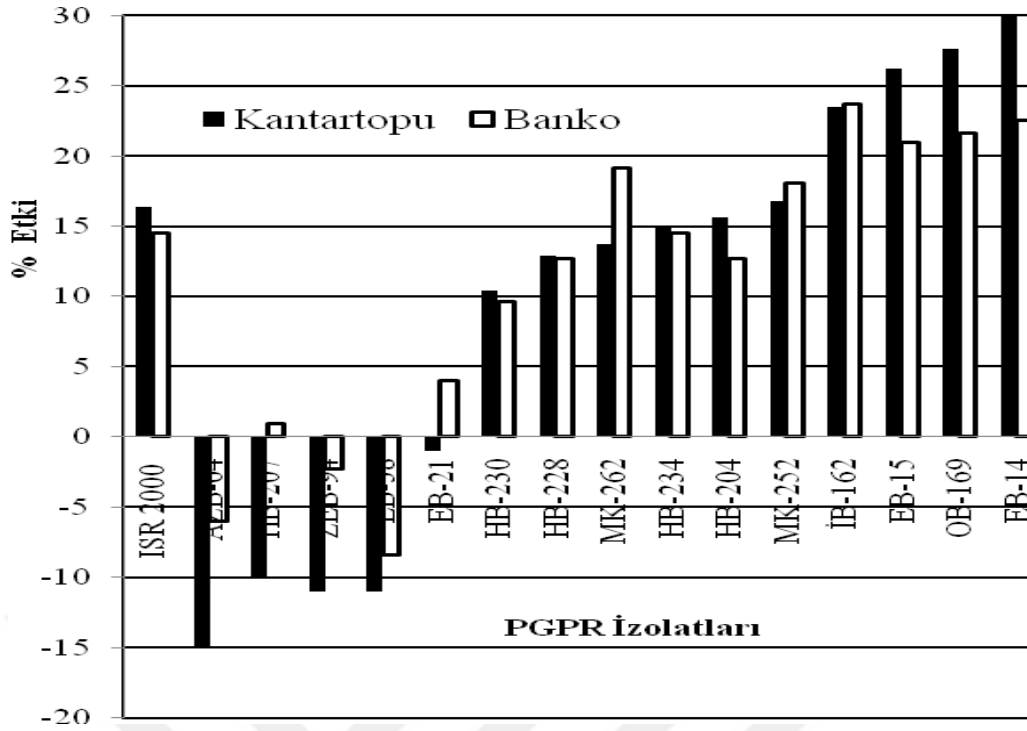
ISR 2000 ile istatistikî olarak benzer etki göstermiştir (Şekil 4.37). OB-169, EB-14 ve EB-15 PGPR izolatları ise ISR 2000’den istatistikî olarak daha iyi etki gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.10).

Banko soğan çeşidine PGPR izolatlarından dokuz izolat (HB-230, OB-169, MK-262, HB-234, HB-204, MK-252, İB-162, EB-15 ve HB-228) istatistikî olarak ISR 2000 ile benzer etki göstermiştir. EB-14 PGPR izolatı ise negatif kontrole göre yaprak uzunluğunu % 29,1 oranında artırarak ISR 2000’den daha iyi etki göstermiştir ( $p \leq 0,05$ ) (Çizelge 4.10).

PGPR izolatlarından EB-21, EB-38, ZEB-94, HB-207 ve AZB-64 izolatları Kantartopu soğan çeşidinde bitki yaprak uzunluğunu % 1 - 13,2 arasında, Banko çeşidinde ise EB-38, ZEB-94 ve AZB-64 izolatları % 4,8-10,1 arasında azaltmış bu azalmanın istatistikî olarak önemli olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.36. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının Soğan çeşitlerinin yaprak boyuna etkisi



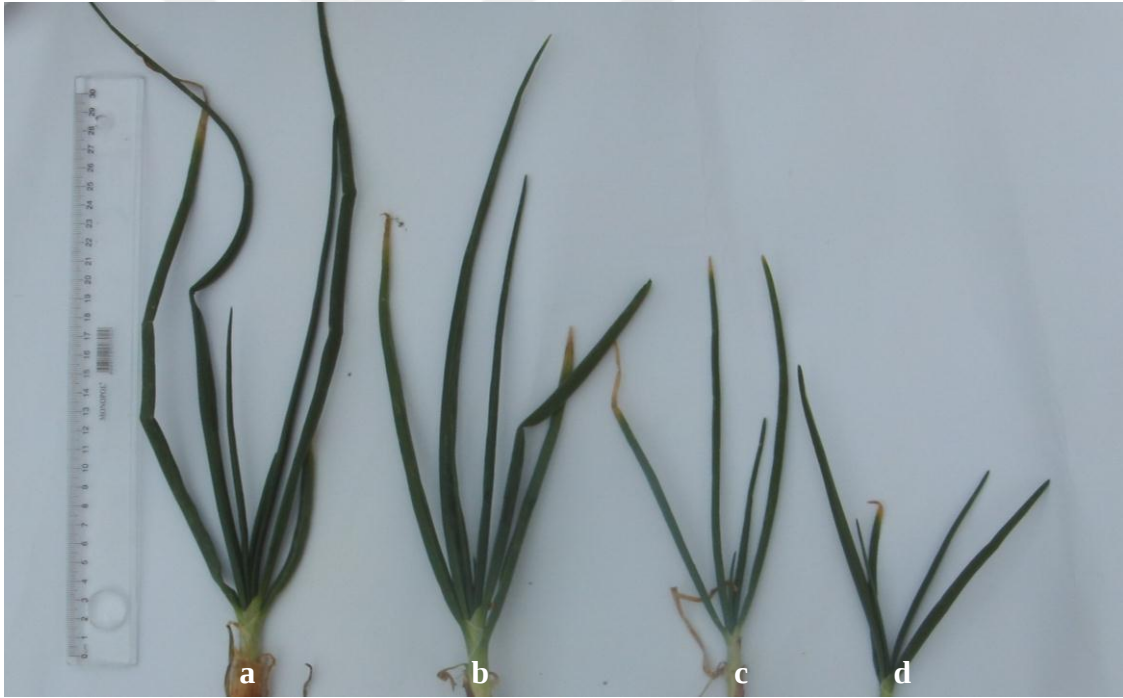
Şekil 4.37. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının farklı soğan çeşitlerinde soğan yaprak uzunluğuna % etkisi

PGPR izolatının Kantartopu ve Banko soğan çeşitlerinde yaprak sayısına etkileri araştırılmıştır (Şekil 4.38). Kantartopu çeşidinde PGPR izolatlarından OB-169, EB-14 ve EB-15 izolatları yaprak sayısı negatif kontrole göre istatistikî olarak önemli bir şekilde artırdığı saptanmıştır. Bu PGPR izolatlarından yaprak sayısı negatif kontrole göre % 70 oranında artış sağlayan OB-169 PGPR izolatı en etkili izolat olmuştur. Bu izolatı sırası ile % 60 ile EB-14 ve % 50 oranında yaprak sayısını artıran EB-15 PGPR izolatları takip etmiştir. Bu üç izolat arasındaki fark istatistikî olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,05$ ). Banko çeşidinde PGPR izolatlarından MK-262, HB-234, HB-204, MK-252, EB-14, EB-15, OB-169, İB-162 izolatları yaprak sayısını negatif kontrole göre % 46,6 - 88,8 oranında istatistiki olarak önemli düzeyde artırdığı saptanmıştır. Bu izolatlardan OB-169 PGPR izolatı yaprak sayısını % 88,8 oranında artırarak en etkili izolat olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

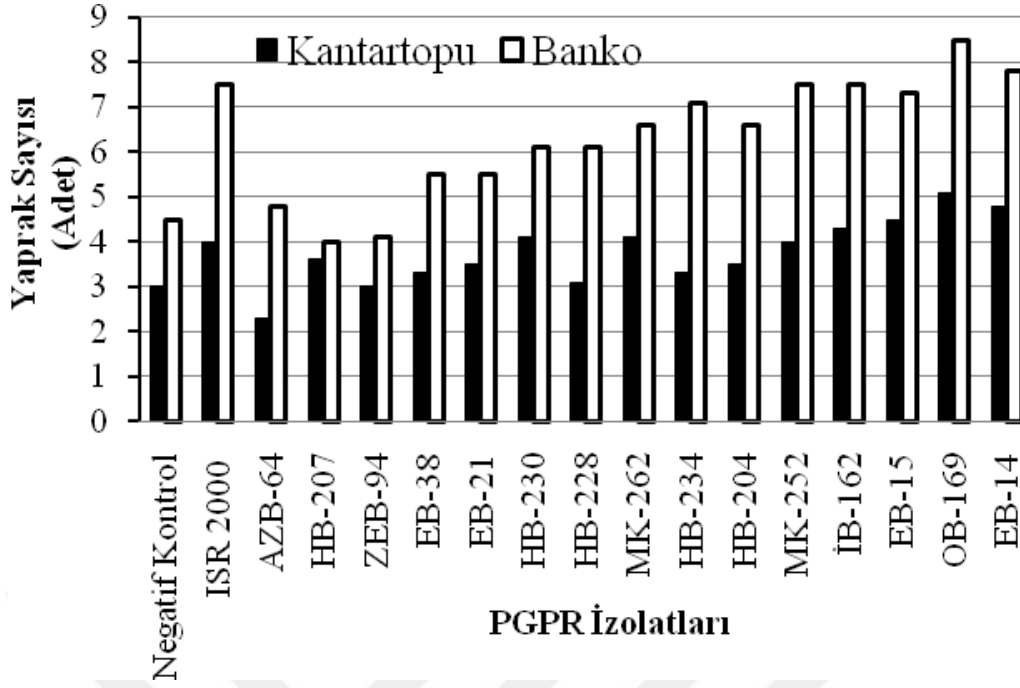
PGPR izolatlarından AZB-64 izolatı Kantartopu çeşidinde % 23,3, HB-207 ve ZEB-94 izolatları Banko çeşidinde % 11,1 - 8,8 oranında yaprak sayısını azaltmış fakat bu azalma her iki soğan çeşidinde istatistikî olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Kantartopu çeşidinde ZEB-94 izolatu ise yaprak sayısı üzerine herhangi bir etki göstermeyerek negatif kontrol ile aynı etkiyi göstermiştir. Diğer PGPR izolatları yaprak sayısını Kantartopu çeşidinde % 3 - 36,6 arasında, Banko çeşidinde ise % 6,6 - 35,5 oranında artırmasına rağmen yaprak sayıları negatif kontrole göre fark istatistikî olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.10).

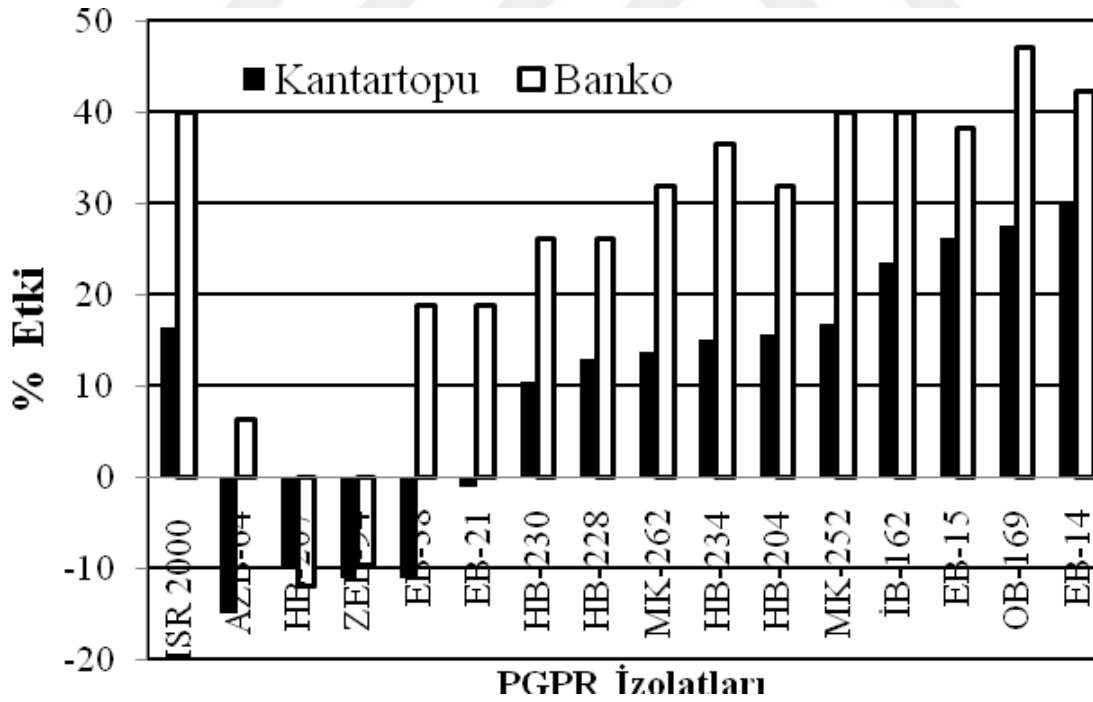
ISR 2000 Kantartopu soğan çeşidinde yaprak sayısını % 33,3 oranında artırmış fakat bu artış istatistikî olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Banko çeşidinde ise % 77,7 oranında artırmış ve bu artış istatistikî olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.39). PGPR izolatları ile ISR 2000'nin Kantartopu çeşidinde yaprak sayısını artırma bakımından istatistikî olarak fark olmadığı belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ) (Çizelge 4.10). Banko çeşidinde ise yaprak sayısı artışı bakımından HB-230, HB-228, MK-262, HB-234, HB-204, MK-252, İB-162, EB-15, OB-169 ve EB-14 PGPR izolatları ile ISR 2000'nin istatistikî olarak benzer etki gösterdiği saptanmıştır (Şekil 4.40).



Şekil 4.38. Farklı PGPR izolatlarının soğan yaprak sayısı ve yaprak uzunluğuna olan etkisi: a) OB-169 izolatı b) ISR 2000 c) ZEB-94 izolatı ve d) AZB-64 izolatı



Şekil 4.39. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının farklı soğan çeşitlerinde yaprak sayısına etkisi



Şekil 4.40. PGPR izolatlarının ve ISR 2000 uygulamasının farklı Soğan çeşitlerinde yaprak sayılarına % etkilerinin karşılaştırılması

#### 4.10.2. PGPR izolatlarının baş soğan çapı ve kök uzunluğuna etkisi

Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksek Okulu deneme serasında ISR 2000 ve PGPR izolatlarının Kantartopu ve Banko soğan çeşitlerinde baş soğan çapına ve soğan kök uzunluğuna etkisi istatistikî olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11).

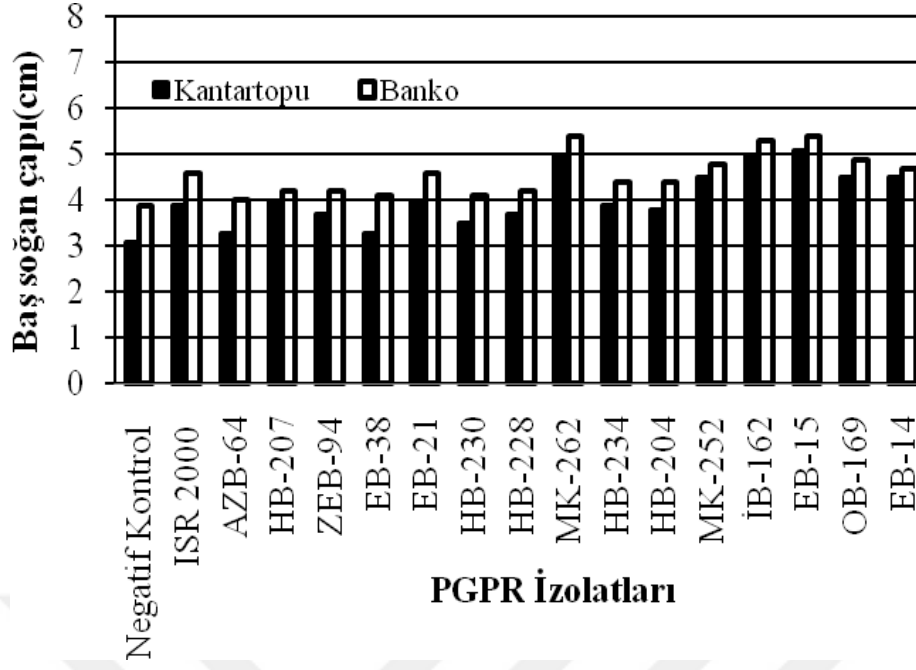
Çizelge 4.11. PGPR izolatlarının farklı soğan çeşitlerinde baş soğan çapı ve soğan kök uzunluğuna etkisi

| İzolatlar                                                | Kantartopu              |        |                            |        | Banko                   |        |                            |        |
|----------------------------------------------------------|-------------------------|--------|----------------------------|--------|-------------------------|--------|----------------------------|--------|
|                                                          | Baş soğan çapı(cm) ± SS | % Etki | Soğan kök uzunluk (cm) ±SS | % Etki | Baş soğan çapı(cm) ±SS  | % Etki | Soğan kök uzunluk (cm) ±SS | % Etki |
| Negatif Kontrol                                          | 3,1±0,14 <sup>g</sup>   | -      | 3,8±0,3 <sup>e</sup>       | -      | 3,9±0,1 <sup>g</sup>    | -      | 4,2±0,3 <sup>ef</sup>      | -      |
| ISR 2000                                                 | 3,9±0,3 <sup>e</sup>    | 25,8   | 4,5±0,4 <sup>cd</sup>      | 18,4   | 4,6±0,3 <sup>bcd</sup>  | 17,9   | 4,7±0,2 <sup>cd</sup>      | 11,9   |
| <i>Pantoea agglomerans</i> EB-15                         | 5,1±0,3 <sup>a</sup>    | 64,5   | 5,1±0,6 <sup>ab</sup>      | 34     | 5,4±0,1 <sup>a</sup>    | 38,4   | 5,6±0,3 <sup>a</sup>       | 33,3   |
| <i>Bacillus subtilis /atrophaeus</i> İB-162              | 5,0±0,8 <sup>abc</sup>  | 61,2   | 5,3±0,4 <sup>ab</sup>      | 39,4   | 5,3±0,2 <sup>a</sup>    | 35,8   | 5,4±0,3 <sup>ab</sup>      | 28,5   |
| <i>Bacillus subtilis /atrophaeus</i> MK-262              | 5,0±0,7 <sup>ab</sup>   | 61,2   | 5,5±0,4 <sup>a</sup>       | 44,7   | 5,4±0,5 <sup>a</sup>    | 38,4   | 5,7±0,5 <sup>a</sup>       | 35,7   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB-14  | 4,5±0,4 <sup>cd</sup>   | 45,1   | 4,9±0,4 <sup>bc</sup>      | 28,9   | 4,7±0,2 <sup>bc</sup>   | 20,5   | 5±0,2 <sup>c</sup>         | 19     |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> OB-169 | 4,5±0,4 <sup>cd</sup>   | 45,1   | 5,2±0,2 <sup>ab</sup>      | 36,8   | 4,9±0,3 <sup>b</sup>    | 25,6   | 5,4±0,4 <sup>ab</sup>      | 28,5   |
| <i>Bacillus subtilis</i> MK-252                          | 4,5±0,5 <sup>cd</sup>   | 45,1   | 4,8±0,5 <sup>bc</sup>      | 26,3   | 4,8±0,3 <sup>b</sup>    | 23     | 5,1±0,3 <sup>bc</sup>      | 21,4   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-207 | 4,0±0,3 <sup>de</sup>   | 29     | 4,2±0,2 <sup>de</sup>      | 10,5   | 4,2±0,3 <sup>defg</sup> | 7,6    | 4,5±0,2 <sup>de</sup>      | 7,1    |
| <i>Yersinia intermedia</i> EB-21                         | 4,0±0,4 <sup>de</sup>   | 29     | 4,4±0,4 <sup>cd</sup>      | 15,7   | 4,6±0,2 <sup>bcd</sup>  | 17,9   | 4,8±0,2 <sup>cd</sup>      | 14,2   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-234 | 3,9±0,3 <sup>e</sup>    | 25,8   | 4,2±0,5 <sup>de</sup>      | 10,5   | 4,4±0,4 <sup>cdef</sup> | 12,8   | 4,7±0,6 <sup>cd</sup>      | 11,9   |
| HB-204                                                   | 3,8±0,4 <sup>ef</sup>   | 22,5   | 4,2±0,4 <sup>de</sup>      | 10,5   | 4,4±0,2 <sup>cde</sup>  | 12,8   | 4,5±0,1 <sup>de</sup>      | 7,1    |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> ZEB-94 | 3,7±0,2 <sup>ef</sup>   | 19,3   | 4,1±0,4 <sup>de</sup>      | 7,8    | 4,2±0,2 <sup>defg</sup> | 7,6    | 4,2±0,2 <sup>ef</sup>      | 0      |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-228 | 3,7±0,4 <sup>efg</sup>  | 19,3   | 4,2±0,2 <sup>de</sup>      | 10,5   | 4,2±0,2 <sup>defg</sup> | 7,6    | 4,4±0,3 <sup>def</sup>     | 4,7    |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-230 | 3,5±0,2 <sup>efg</sup>  | 12,9   | 3,9±0,3 <sup>e</sup>       | 2,6    | 4,1±0,3 <sup>efg</sup>  | 5,1    | 4 ±0,3 <sup>f</sup>        | -4,7   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB-38  | 3,3±0,3 <sup>fg</sup>   | 6,4    | 4±0,2 <sup>de</sup>        | 5,2    | 4,1±0,2 <sup>efg</sup>  | 5,1    | 4,2±0,2 <sup>ef</sup>      | 0      |
| AZB-64                                                   | 3,3±0,3 <sup>fg</sup>   | 6,4    | 3,9±0,4 <sup>e</sup>       | 2,6    | 4,0±0,2 <sup>fg</sup>   | 2,5    | 4,2±0,1 <sup>ef</sup>      | 0      |

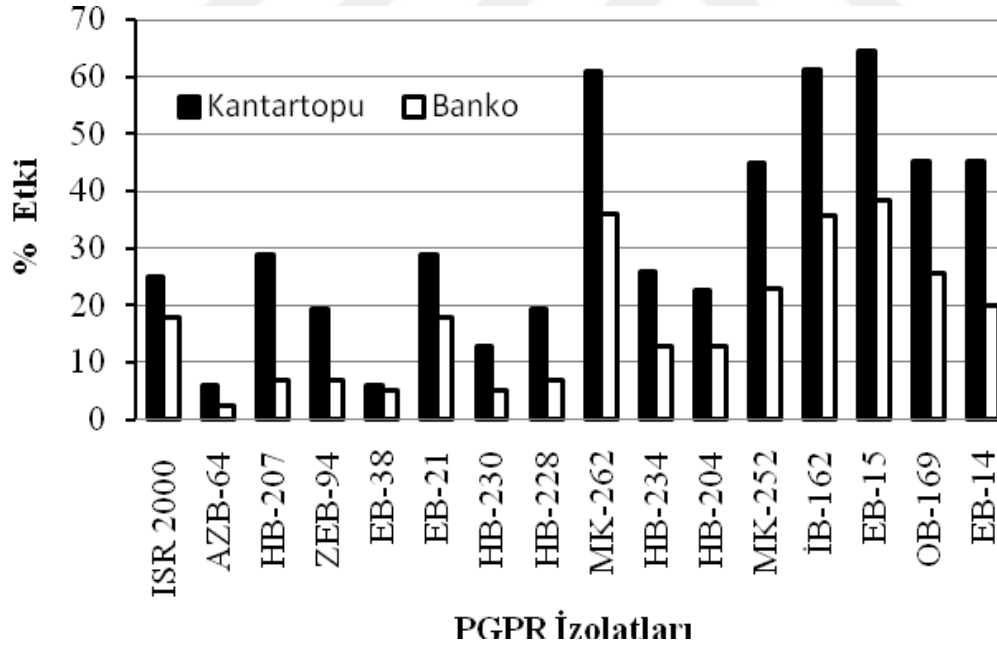
\*Aynı sütunda aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistikî açıdan fark yoktur (p>0,05).

PGPR izolatların Kantartopu çeşidinde baş soğan çapında % 6,4 - 64,5 oranında, Banko çeşitlerinde ise % 5,1- 38,4 oranında artış meydana geldiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.11). Kantartopu çeşidinde 11 izolatın (ZEB-94, HB-204, HB-234, EB-21, HB-207, MK-252, OB-169, EB-14, MK-262, İB-162, EB-15) ve Banko çeşidinde ise 9 adet izolatın (MK-252, OB-169, EB-14, MK-262, İB-162, EB-15, HB-204, HB-234, EB-21) baş soğan çapında meydana getirdiği artış istatistikî olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11; Şekil 4.41). Kantartopu soğan çeşidinde baş soğan çapını en fazla artıran izolatı EB-15 izolatı (% 64,5) olduğu tespit edilmiştir. Bu izolat ile İB-162 (% 61,2) ve MK-262 (% 61) PGPR izolatlarının baş soğan çapına etkisi bakımından istatistikî olarak fark bulunmamıştır. Bu izolatlar (İB-162 (% 35,8), MK-262 (% 38,4 ) ve EB-15 (% 38,4)) aynı zamanda Banko çeşidinde de baş soğan çapında istatistikî olarak önemli bir artış sağladığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.11; Şekil 4.42). Kantartopu soğan çeşidinde dört PGPR izolatı (AZB-64, EB-38, HB-230, HB-228) % 6 - 19,3 oranında, Banko çeşidinde ise altı PGPR izolatı (AZB-64, EB 38, HB-230, HB-228, ZEB-94, HB-207) % 5,1 - 7,6 oranında artış sağlanmış ve kontrol ile arasındaki fark istatistikî olarak önemsiz olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.11).

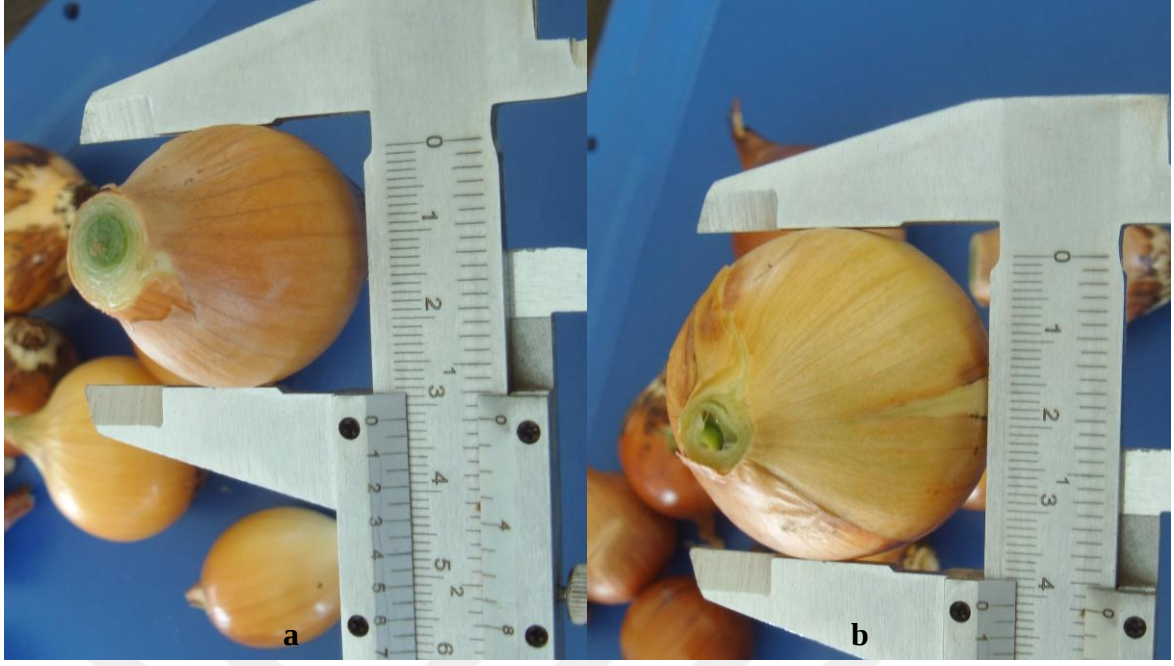
ISR 2000 Kantartopu çeşidinde baş soğan çapını % 25,8 oranında artırdığı saptanmıştır. HB-230, HB-228, ZEB-94, HB-204, HB-234, EB-21 ve HB-207 izolatları % 12,9 ile 29 arasındaki oranında baş soğan çapında artış sağlayarak şahit uygulama (ISR 2000) ile benzer etki gösterdikleri tespit edilmiştir. EB-15, İB-162, MK-262, EB-14, OB-169 ve MK-252 izolatları ise baş soğan çapını % 45,1 - 64,5 oranında arttırmış ve ISR 2000'den istatistikî olarak farklı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.11). Banko çeşidinde ise ISR 2000 baş soğan çapını % 17,9 oranında artırdığı saptanmıştır. HB-228, ZEB-94, HB-204, HB-234, EB-21, HB-207, MK-252, OB-169 ve EB-14 izolatları baş soğan çapında % 7,6 - 20,5 oranında artış sağlayarak ISR 2000 ile istatistikî olarak benzer etki göstermişlerdir. İB-162, MK-262 ve EB-15 izolatları ise baş soğan çapını % 35,8 - 38,4 oranında artırarak ISR 2000'den daha etkili olmuştur (Çizelge 4.11; Şekil 4.43).



Şekil 4.41. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'nin farklı soğan çeşitlerinde baş soğan çapına etkisi



Şekil 4.42. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'nin farklı Soğan çeşitlerinde baş soğan çapı artışına % etkisi



Şekil 4.43. Kantartopu çeşidinde baş soğan çapı; a) Negatif kontrol ve b) EB-15 izolatı

PGPR izolatlarının Kantartopu soğan çeşidinde kök uzunluklarına etkisi değerlendirildiğinde yedi izolat (EB-15, İB-162, MK-262, EB-14, OB-169, MK-252, EB-21) kök uzunluğunu % 15,7- 44,7 oranında artırmıştır (Şekil 4.44). Sekiz izolat ise (AZB-64, EB-38, HB-230, HB-228, ZEB-94, HB-204, HB-234, HB-207) ise kök uzunluğunu % 2,6 - 10,5 arasında artırmasına rağmen kontrole göre istatistikî olarak önemli olmadığı saptanmıştır. PGPR izolatlarının Banko soğan çeşidinde kök uzunluğuna etkisi değerlendirildiğinde ise sekiz izolat (HB-234, EB-21, MK-252, OB-169, EB-14, MK-262, İB-162, EB-15) kök uzunluğunu % 11,9 - 35,7 oranında artırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.45). Üç izolat (HB-204, HB-228 ve HB-207) ise kök uzunluğunu % 4,7 - 7,1 oranında artırmalarına rağmen bu artışın negatif kontrole göre istatistikî olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Üç izolatın (AZB-64, EB-38 ve ZEB-94) ise kök gelişim üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. HB-230 izolatı kök uzunluğunu % 4,7 oranında azaltmasına rağmen bu azalış negatif kontrole göre istatistikî olarak önemsiz olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.11).

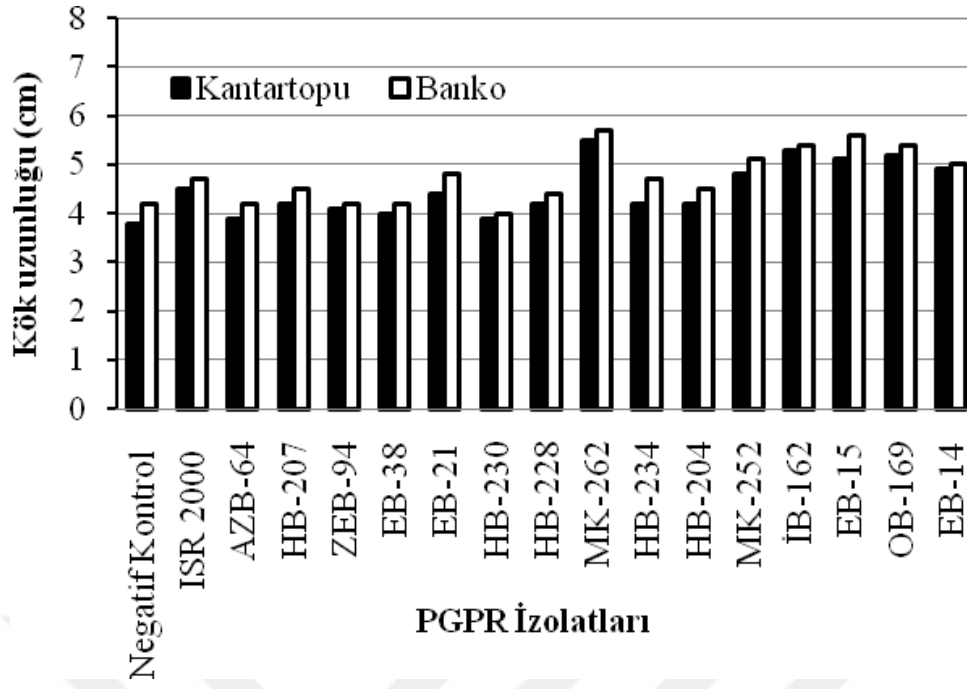
MK-262 izolatı soğan kök uzunluğunu Kantartopu soğan çeşidinde % 44,7 oranında Banko soğan çeşidinde ise % 35,7 oranında artırarak her iki çeşitte kök gelişiminde en fazla artış sağlayan izolat olarak belirlenmiştir (Şekil 4.45); (Şekil 4.46). Kantartopu çeşidinde bu izolatı sırası ile İB-162 (% 39,4), OB-169 (% 36,8), EB-15 (% 34), EB-14 (% 28,9), MK-252 (% 26,3) ve EB-21 (% 15,7) izolatları takip etmiştir. Banko çeşidinde ise bu izolatı EB-15 (% 11,9) ve EB-14 (% 10,5) izolatları takip etmiştir.

33,3), OB-169 ve İB-162 (% 28,5), MK-252 (% 21,4), EB-14 (% 19), EB-21 (% 14,2) ve HB-234 (% 11,9) izolatları izlemiştir (Çizelge 4.11).

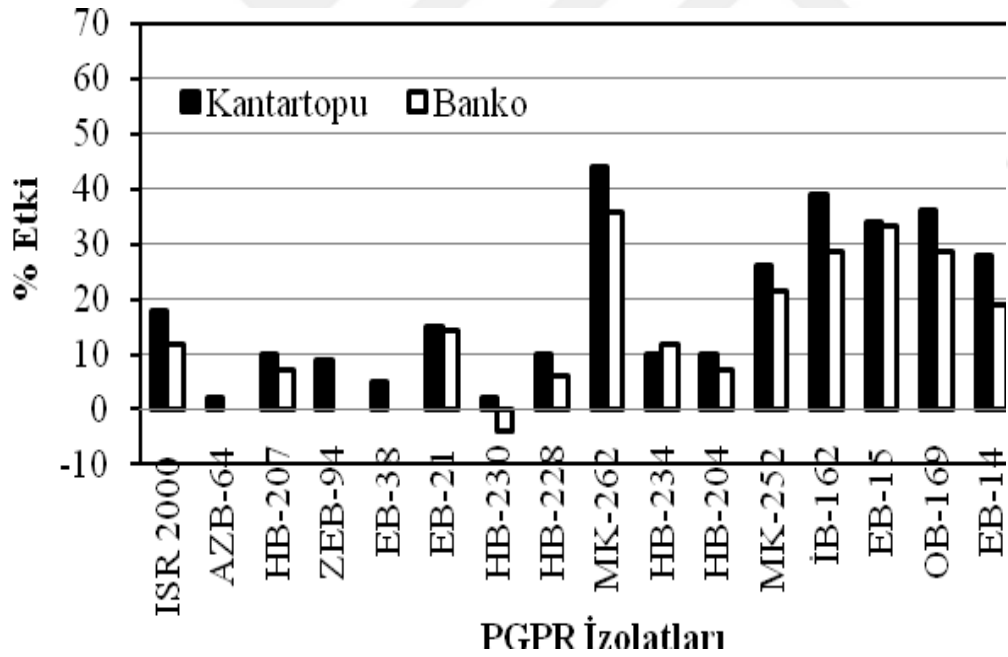
ISR 2000 Kantartopu soğan çeşidinde soğan kök uzunluğu % 18,4 oranında, Banko çeşidinde ise % 11,9 oranında artırdığı saptanmıştır. Her iki tohum çeşidine OB-169, EB-15, İB-162 ve MK-262 izolatları ISR 2000'den istatistikî olarak daha etkili olduğu saptanmıştır. Kantartopu çeşidinde EB-38, MK-252, ZEB 94, HB-228, HB-204, HB-207, HB-234, EB-21 ve EB-14 izolatları Banko çeşidinde ise EB-14, EB-15, EB-21, HB-234, HB-207, HB-204, HB-228 ve MK-252 izolatları ile ISR 2000 istatistikî olarak benzer etki göstermiştir (Çizelge 4.11).



Şekil 4.44. PGPR'ların Kantartopu soğan çeşidinde kök uzunluğu üzerine etkisi; a) Negatif kontrol, b) OB-169 izolat ve c) EB-15 izolat uygulamaları



Şekil 4.45. PGPR izolatları ve ISR 2000'nin farklı soğan çeşitlerinde kök uzunluğuna etkisi



Şekil 4.46. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'nin soğan çeşitlerinde kök uzunluğuna % etkisi

#### 4.10.3. PGPR izolatlarının baş soğan yaş ve kuru ağırlıklarına etkisi

PGPR izolatları ve şahit ISR 2000'in Kantartopu ve Banko soğan çeşidinde baş soğanların yaş ve kuru ağırlıklarına önemli düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir(Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. PGPR'lerin farklı soğan çeşitlerinde baş soğan yaş ve kuru ağırlığa etkisi

| İzolatlar                                                | Kantartopu                          |        |                                |        | Banko                         |        |                                |        |
|----------------------------------------------------------|-------------------------------------|--------|--------------------------------|--------|-------------------------------|--------|--------------------------------|--------|
|                                                          | Baş soğan yaş ağırlık(g) ± SS       | % Etki | Baş soğan kuru ağırlık(g) ± SS | % Etki | Baş soğan yaş ağırlık(g) ± SS | % Etki | Baş soğan kuru ağırlık(g) ± SS | % Etki |
| Negatif Kontrol                                          | 17±1,5 <sup>e</sup>                 | -      | 12,8±0,7 <sup>e</sup>          | -      | 26,8±1,7 <sup>f</sup>         | -      | 20,6±0,8 <sup>f</sup>          | -      |
| ISR 2000                                                 | 19,1±0,9 <sup>cd</sup>              | 12,3   | 15,1±0,7 <sup>cd</sup>         | 17,9   | 30,8±1,4 <sup>bcd</sup>       | 11,9   | 25,3±0,8 <sup>cd</sup>         | 22,8   |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> İB-162      | 22,8±1,4 <sup>a</sup>               | 34,1   | 17,6±1,3 <sup>ab</sup>         | 37,5   | 34,3±1,3 <sup>a</sup>         | 27,9   | 28,3±1,6 <sup>ab</sup>         | 37,3   |
| <i>Bacillus subtilis</i> / <i>atrophaeus</i> MK-262      | 22,3±2,5 <sup>a</sup>               | 31,1   | 18±1,6 <sup>a</sup>            | 40,6   | 34,6±1,0 <sup>a</sup>         | 29,1   | 29±0,8 <sup>a</sup>            | 40,7   |
| <i>Pantoea agglomerans</i> EB-15                         | 22,1±1,1 <sup>a</sup>               | 30     | 17,6±1,3 <sup>ab</sup>         | 37,5   | 31,5±2,8 <sup>bc</sup>        | 17,5   | 27,6±2,6 <sup>ab</sup>         | 33,9   |
| <i>Bacillus subtilis</i> MK-252                          | 21,1±1,6 <sup>ab</sup>              | 27     | 17±1,4 <sup>abc</sup>          | 32,8   | 33,3±2,0 <sup>ab</sup>        | 24,2   | 28,8±1,6 <sup>a</sup>          | 39,8   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB-14  | 21,3±1,2 <sup>ab</sup>              | 25,2   | 17±1,9 <sup>abc</sup>          | 32,8   | 33,1±1,9 <sup>ab</sup>        | 23,5   | 29,3±1,7 <sup>a</sup>          | 42,2   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> OB-169 | 21,3±1,0 <sup>ab</sup>              | 25,2   | 17,8±1,3 <sup>a</sup>          | 39     | 34,3±1,0 <sup>a</sup>         | 27,9   | 29,1±1,1 <sup>a</sup>          | 41,2   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-207 | 20±1,7 <sup>bc</sup>                | 17,6   | 15,6±2 <sup>bcd</sup>          | 21,8   | 29,8±1,7 <sup>cde</sup>       | 11,1   | 23,8±2,3 <sup>de</sup>         | 15,5   |
| <i>Yersinia intermedia</i> EB-21                         | 19,8±0,7 <sup>bc</sup>              | 16,4   | 15,5±1,6 <sup>cd</sup>         | 21     | 31±1,6 <sup>bcd</sup>         | 15,6   | 26,3±1,6 <sup>bc</sup>         | 27,6   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-230 | 18,6±1,5 <sup>cd</sup> <sub>e</sub> | 9,4    | 14,6±1,7 <sup>de</sup>         | 14     | 27,6±2,8 <sup>ef</sup>        | 2,9    | 23,1±2,9 <sup>de</sup>         | 12,1   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> EB-38  | 18,3±1,7 <sup>cd</sup> <sub>e</sub> | 7,6    | 13,5±2 <sup>de</sup>           | 5,4    | 28,8±0,7 <sup>def</sup>       | 8,2    | 23,3±1,8 <sup>de</sup>         | 13     |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> ZEB-94 | 18,1±1,1 <sup>cd</sup> <sub>e</sub> | 6,4    | 13,5±1,3 <sup>de</sup>         | 5,4    | 28,5±1,8 <sup>def</sup>       | 6,3    | 23,1±1,8 <sup>de</sup>         | 12     |
| HB-204                                                   | 18±1,7 <sup>cde</sup>               | 5,8    | 14,6±1 <sup>de</sup>           | 14     | 29,6±1,9 <sup>cde</sup>       | 10,4   | 24,3±2,2 <sup>cd</sup>         | 17,9   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-234 | 17,6±1,9 <sup>de</sup>              | 3,5    | 13±2 <sup>e</sup>              | 1,5    | 30,3±2,7 <sup>cd</sup>        | 11,9   | 25±2,3 <sup>cd</sup>           | 21,3   |
| AZB-64                                                   | 17,6±2,2 <sup>de</sup>              | 3,5    | 14,1±1,6 <sup>de</sup>         | 10,1   | 28,5±1,8 <sup>def</sup>       | 6,3    | 23,3±2,4 <sup>de</sup>         | 13,1   |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> HB-228 | 17,5±1,8 <sup>de</sup>              | 2,9    | 12,8±2,4 <sup>e</sup>          | 0      | 27,3±2,2 <sup>ef</sup>        | 1,8    | 21,5±1,7 <sup>ef</sup>         | 4,3    |

\*Aynı sütunda aynı harfle ifade edilen değerler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistikî açıdan fark yoktur ( p>0,05).

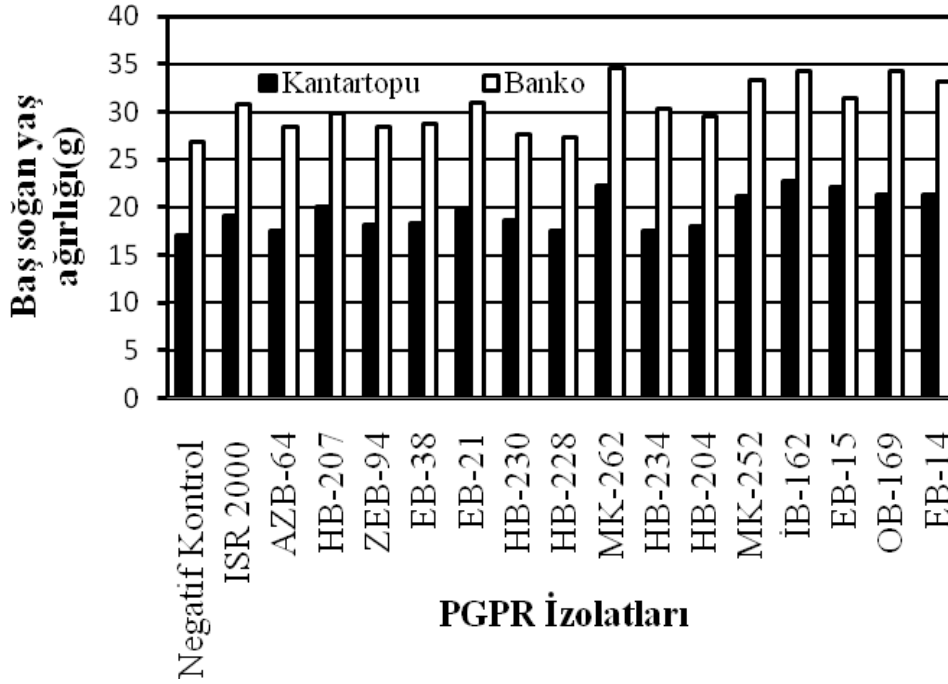
Kantartopu çeşidinde sekiz adet izolat (İB-162, MK-262, EB-15, MK-252, EB-14, OB-169, HB-207, EB-21) baş soğan yaş ağırlıklarını % 16,4 - 34,1 oranında artırdığı saptanmıştır. Banko çeşidinde ise bu izolatlara ek olarak HB-234 ve HB-204 izolatları baş soğan yaş ağırlıklarını % 10,4 - 29,1 oranında artırmıştır. Baş soğan yaş ağırlığı artışında Kantartopu çeşidinde İB-162 izolatı (% 34,1), Banko çeşidinde ise MK-262 izolatı (% 29,1) en etkili izolatlar olarak belirlenmiştir (Şekil 4.47). Kantartopu çeşidinde baş soğan yaş ağırlık artışına yedi izolat (HB-228, AZB-64, HB-234, HB-204, ZEB-94, EB-38, HB-230) % 2,9 - 9,4 oranında, Banko çeşidinde ise beş izolat (HB-228, AZB-64, ZEB-94, EB-38, HB-230) % 1,8-8,2 oranında neden olmasına rağmen bu artışın istatistikî olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.12).



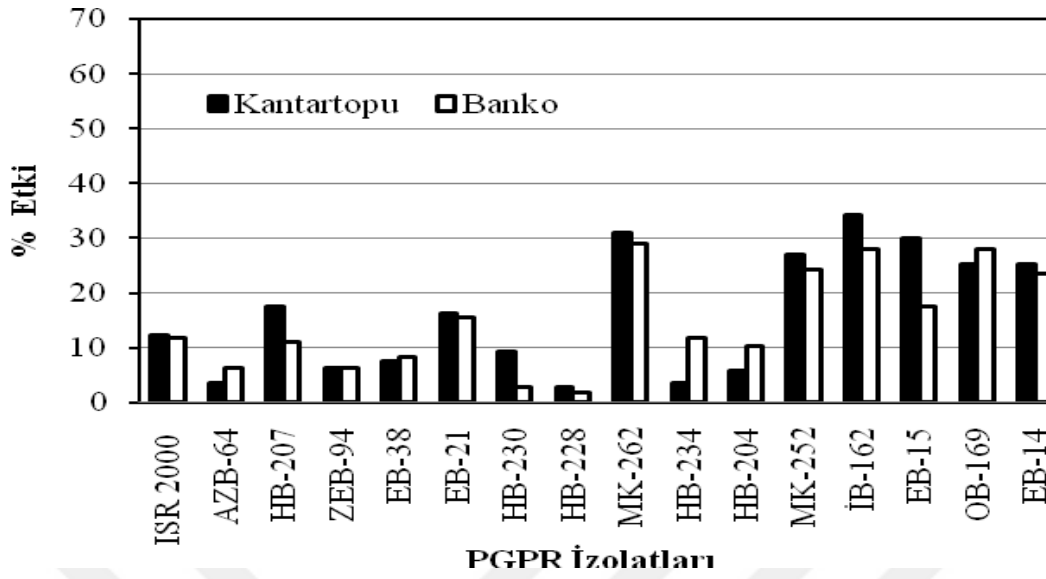
Şekil 4.47. Kantartopu çeşidinde baş soğan ağırlıkları; a) Negatif kontrol ve b) İB-162 izolat uygulaması

Kantartopu çeşidinde ISR 2000'in baş soğan yaş ağırlığını % 12,3 oranında, Banko çeşidinde ise % 11,9 oranında istatistikî olarak önemli bir düzeyde artırdığı saptanmıştır. (Çizelge 4.12). Kantartopu çeşidinde baş soğan yaş ağırlığını artırması bakımından dokuz izolat (HB-228, AZB-64, HB-234, HB-204, ZEB-94, EB-38, HB-230, EB-21, HB-207), ISR 2000 ile benzer etki göstermiştir (Şekil 4.48). İB-162 (% 34,1), MK-262 (% 31,1), MK-252

(% 27), EB-15 (% 30), OB-169 (% 25,2) ve EB-14 (% 25,2) izolatları ise ISR 2000 (% 12,3)’den istatistikî olarak önemli düzeyde daha yüksek etkili olduğu görülmüştür. Banko çeşidinde dokuz izolat (EB-15, MK-252, EB-14, HB-207, EB-21, EB-38, ZEB-94, HB-234, HB-204) ise ISR 2000 ile istatistikî olarak benzer etki göstermiştir (Şekil 4.49). MK-262, İB-162 ve OB-169 izolatları ise baş soğan yaş ağırlığı artışı üzerine etkisi ISR 2000’den istatistikî olarak daha etkili olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.12).



Şekil 4.48. PGPR izolatlarının ve ISR 2000’in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan yaş ağırlıklarına etkisi

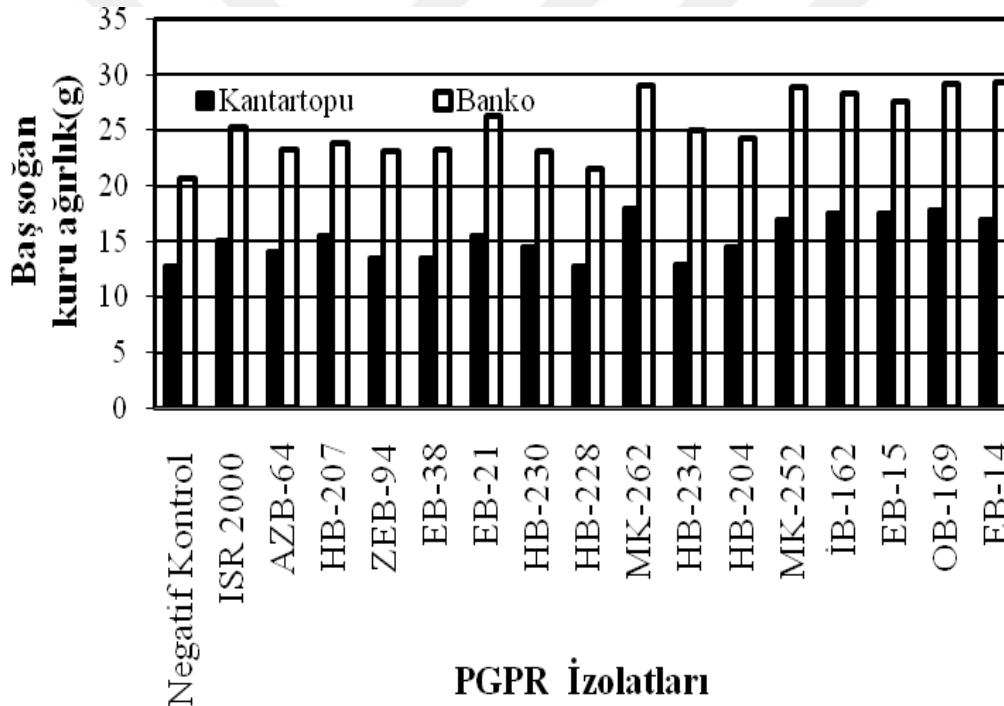


Şekil 4.49. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan yaş ağırlığına % etkisi

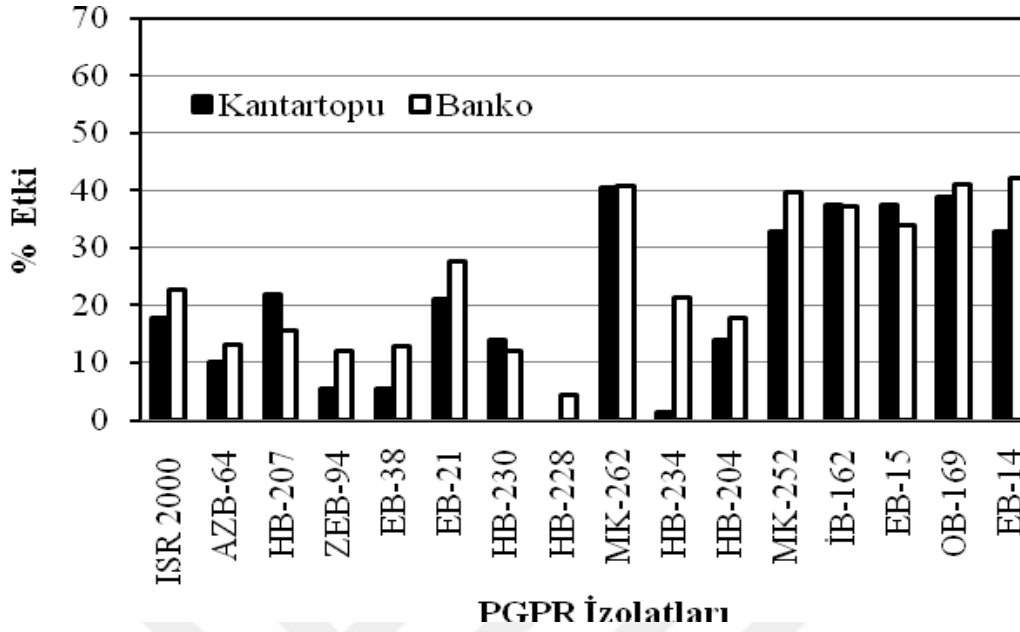
PGPR izolatları ve ISR 2000'in baş soğan kuru ağırlığına etkisi istatistikî, olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.12). Kantartopu çeşidinde sekiz izolat (İB-162, MK-262, EB-15, MK-252, EB-14, OB-169, HB-207, EB-21) baş soğan kuru ağırlığını istatistikî olarak önemli bir düzeyde artırmıştır. Bu izolatlardan MK-262 izolatı baş soğan kuru ağırlığını % 40,6 oranında artırarak en etkili izolat olmuştur. Baş soğan kuru ağırlığında yedi izolat (İB-162, MK-262, EB-15, MK-252, EB-14, OB-169, HB-207, EB-21) ise % 1,5 - 14 arasında artış sağlamasına rağmen bu artış istatistikî olarak önemsiz olduğu görülmüştür (Çizelge 4.12).

Banko çeşidinde ise izolatlarından on dördü (AZB-64, HB-234, HB-204, ZEB-94, EB-38, HB-230, EB-21, HB-207, OB-169, EB-14, MK-252, EB-15, MK-262 ve İB-162) baş soğan kuru ağırlığını istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış sağlamıştır (Şekil 4.50). HB-228 izolatı ise baş soğan kuru ağırlığı % 4,3 oranında artırmasına rağmen bu artışın önemli olmadığı saptanmıştır. Baş soğan kuru ağırlık üzerine etkisi en fazla olan izolatlar EB-14 (% 42,2), OB-169 (% 41,2), MK-262 (% 40,7), MK-252 (% 39,8) olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.12).

Kantartopu soğan çeşidinde ISR 2000'in baş soğan kuru ağırlığını % 17,9, Banko çeşidinde ise % 22,8 oranında istatistikî olarak önemli bir düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Kantartopu çeşidinde dokuz izolat (EB-14, EB-21, HB-230, HB-207, HB-204, AZB-64, MK-252, EB-38 ve ZEB-94) ISR 2000 ile istatistikî olarak benzer etki gösterdiği saptanmıştır. Dört izolat ise baş soğan kuru ağırlık artışı yönünden (MK-262 (% 40,6), OB-169 (% 39) , EB-15 (% 37,5)) ISR 2000'den istatistikî olarak daha iyi etki gösterdiği saptanmıştır. Banko çeşidinde yedi izolat (AZB-64, HB-234, HB-204, ZEB-94, HB-207, HB-230, EB-38) ISR 2000 ile istatistikî olarak benzer etki göstermiştir. İB-162, MK-262, EB-21, MK-252, EB-14, OB-169, EB-15 izolatları ise baş soğan kuru ağırlık artışında ISR 2000'den daha yüksek etki gösterdiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.12). HB-228 izolatu ise baş soğan kuru ağırlığını % 4,3 oranında artırmasına rağmen ISR 2000'den daha düşük bir artış göstermiştir (Şekil 4.51).



Şekil 4.50. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan kuru ağırlıklarına etkisi



Şekil 4.51. PGPR izolatlarının ve ISR 2000'in farklı soğan çeşitlerinde baş soğan kuru ağırlıklarına % etkisi

Soğan bitkisinde farklı PGPR izolatlarının bitki gelişimine etkisinin tarla koşullarında araştırıldığı bir çalışmada Malathi (2015), farklı bitkilerin köklerinden izole ettiği *Trichoderma* sp.(TF3), *T. harzianum* (TH3), *Pseudomonas* sp. (PF 12) izolatlarının bitki boyunu sırası ile % 36, % 31,9 ve % 36,8 oranında artırdığı saptamıştır. Çalışmamızda ise BİOLOG GEN III sisteminde *E. cloacae* ssp *dissolvens* olarak teşhis edilen OB-169 izolatu Kantartopu çeşidinde bitki boyunu % 30, Banko çeşidinde ise % 22,5'lik bir artış sağlamıştır. Aynı araştırmacı izolatların soğan kök uzunluğunu % 24,8 - 36,3 oranında artırdığını saptamıştır. Benzer şekilde çalışmamızda farklı PGPR izolatları farklı soğan çeşidinde kök uzunluğunu % 0-44 oranında arttırmış olup, PGPR izolatlarının bitki gelişimi üzerine olumlu etkisinin olduğunu belirten önceki çalışmalar ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

El-Gabry ve ark. (2015), *Bacillus subtilis*, izolatlatını sera koşullarında saksıda Giza çeşit soğan bitkisinin gelişimine etkisini araştırmışlardır. *Basillus subtilis* uygulaması yapılan toprakta 130 günlük deneme sonucunda bitkilerdeki yaprak sayıları negatif kontrole göre % 13,6 oranında ve soğan ağırlıkları yaklaşık % 15 artış meydana geldiğini saptamışlardır.

Çalışmamızda ise BİOLOG GEN III sisteminde *Bacillus subtilis* olarak tanımlanan MK-252, İB-162 ve MK-262 kodlu PGPR izolat uygulamaları soğan ağırlıklarını % 27 - 34,1 oranında, yaprak sayısını ise % 18,1 - 30 oranında artırdığı saptanarak araştırmacıların sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Čolo ve ark. (2014), *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Azotobacter chroococcum*'in Damascus hibrit soğan çeşidi gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Eşit boydaki soğan bitkileri izolat yoğunlukları  $10^8$  CFU/ml 'lik çözeltide 1,5 saat bekletilerek 28 C° iklim odasında gelişmeye bırakılmıştır. Beşinci, onuncu ve altmışıncı günde soğan bitkilerinin boyu ölçülmüştür. Beşinci günün sonunda en etkili izolat % 81'lik etki ile 8,9 cm boy uzunluğu ölçülen *Azotobacter chroococcum* olurken, bu izolatu % 71'lik etki ile 8,4 cm ölçülen *Bacillus subtilis* takip etmiştir. 10.günde ise % 29,6 etki ile 11,8 cm ölçülen *Azotobacter chroococcum* en etkili izolat belirlenirken, 60 günün sonunda bitkinin toprak üstü kısmı ölçüldüğünde *Bacillus subtilis* % 40,2 etki ile boy uzunluğu 46 cm olarak ölçülen izolat en etkili izolat olduğunu tespit etmişlerdir. Vejetasyon süresinin sonunda soğan çaplarının ölçülmesi ile *Pseudomonas fluorescens* % 23 etki ile 7,66 cm, *Azotobacter chroococcum* % 21 etki ile 7,33 cm ve *Bacillus subtilis* % 10,5 etki ile 7 cm çaplı yumruların elde edilmesini sağlamıştır. Soğan ağırlıkları değerlendirildiğinde *Azotobacter chroococcum* % 97'lik etki ile ortalama 173,6 gr olurken *Bacillus subtilis* % 63,6'lık etki ile 144 gr olmuştur. Çalışmamızda ise kullandığımız PGPR izolatları soğan çapını Kantartopu soğan çeşidinde % 6,4-64,5 oranlarında, Banko çeşitte ise % 5,1- 38,4 oranlarında artış sağlayarak literatür çalışması ile uyum içinde olduğu tespit edilmiştir.

*Enterobacter* spp. cinsi PGPR izolatlarının bitki gelişine katkı sağladığının belirlendiği bir çalışmada, Shankar ve ark. (2011), iyi gelişmiş pirinç bitkilerinin kök kısımlarından izole ettikleri *Enterobacter cloacae* GS1 izolatının pirinç bitkisinin gelişimi ve azot içeriği üzerine etkisini araştırmışlardır. Tohumların *E. cloacae* GS1 ile kaplanması sonucunda negatif kontrol ile kıyaslandığında bitki yaş ağırlığının % 122, kök uzunluğunun % 72,7, gövde uzunluğunun % 40 ve azot içeriğinin % 17,6 oranında arttığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda'da BİOLOG GEN III sisteminde *Enterobacter cloacae* olarak tanımlanan PGPR izolatlarının soğan yaş ağırlığını, kök uzunluğunu ve bitki boyunu negatif kontrole göre farklı oranlarda artırdığı tespit edilerek çalışmamızın literatürdeki çalışma ile uyum içinde olduğu saptanmıştır.

Saleh ve Glick (2001), araştırmalarında *Enterobacter cloacae* izolatını kullanarak *B. napus* (kanola) bitkisinin kök ve gövde uzunluğunun kontrole göre önemli bir şekilde arttığını saptamışlardır.

Dursun ve ark. (2010), *Pantoea agglomerans* FF izolatının diğer PGPR izolatlarına göre hıyar ve domates meyvelerinde N, P, Mg, Ca, Na, K ve Cu içeriği en yüksek olduğunu bulmuşlardır. Domates tohumlarına *Pantoea agglomerans* FF uygulaması sonucu yetişen bitkilerde ortalama meyve ağırlığı 124,5 g, bitki başına meyve verimi 6120,57 g ve bitki boyu 368.33cm olduğu tespit etmişlerdir. Hıyar bitkisinde ise bitki başına düşen meyve sayısı 68,7 adet, bitki başına verim 8857,4 g, bitki uzunluğu 246,8 cm, meyve genişliği 37,7 mm, meyve uzunluğu 17,3 cm olarak elde etmişlerdir. Çalışmamızda izole ettiğimiz ve BIOLOG GEN III sisteminde *Pantoea agglomerans* olarak tanımladığımız EB-15 kodlu izolat bitki gelişiminde etkin olması yapılan çalışma ile uyum içinde olduğunu göstermektedir.

Görüldüğü gibi uygulamalarda kullandığımız izolatlar literatürde farklı hastalıkların biyokontrolnde ve farklı bitkilerin gelişimde’de kullanıldığı belirlenerek çalışmamızın literatür çalışmaları ile uyum içinde olduğu sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda soğan Amasya bölgesinde ekimi yapılan (*Allium cepa* L.)’da önemli derecede ürün kayıplarına neden olan soğan dip çürüklüğü etmeni FOC moleküler yöntemler ile ITS1-5.8S-ITS2 gen bölgesine göre tanımlanmıştır.

Sera ve açık alan koşullarında farklı soğan çeşitleri kullanılarak kurulan saksı denemelerinde dip çürüklük hastalık etmenine karşı fosfor çözen PGPR izolatları ile biyolojik mücadele ve bu izolatların soğan gelişimine etkisi araştırılmıştır.

Sağlıklı soğan bitkilerinin rizosferinden fosfor çözme özelliğine sahip 269 PGPR izolatı elde edilmiştir. Aday PGPR izolatları arasından *in vitro*’da fosfor çözme özelliği, ikili kültür testi ile antagonistik özelliklerine göre 15 PGPR izolatı seçilerek tarla ve sera koşullarında saksıda yapılan çalışmalarda kullanılmıştır. Seçilen PGPR izolatları BIOLOG GEN III otomatik tanılama sistemi ile tanımlanmış ve bunlardan 13 tanesi BIOLOG GEN III kütüphanesindeki bakterilerle yakın benzerlik gösterirken 2 tanesi yakın benzerlik göstermemiştir.

Açık alan koşullarında hastalık şiddeti sera koşullarından daha fazla olduğu görülmüştür. Bu duru, deneme boyunca sera koşullarında ölçülen sıcaklık ortalamasının tarla koşullarına göre yüksek olmasının sonucu olarak, dip çürüklük etmeni FOC’un yeteri kadar gelişmemesi ile virülensliğinin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Amasya bölgesinde FOC’un neden olduğu dip çürüklüğü hastalığına karşı Fosfor çözen PGPR izolatlarının biyolojik mücadelede kullanımı ve izolatların bitki gelişimine etkilerine yönelik yapılan çalışmada ümitvar sonuçlar elde edilmiştir.

Özellikle *in vitro*’da yüksek derece fosfor çözme özelliğine sahip *Enterobacter cloacae ssp dissolvens*, *Pantoea agglomerans* olarak teşhis edilen *izolatları* hastalığı önemli derecede baskıladığı saptanmıştır. Bu izolatlar ile yapılan *in vitro* denemelerde FOC’a karşı herhangi bir antagonistik özellik göstermemesine rağmen sera ve tarla koşullarında hastalık gelişimini engellediği saptanmıştır. Bu izolatların doğal koşullar altında bitki ile yakın bir etkileşim içerisine girerek biyotik ve abiyotik streslere karşı bitkiyi korumakta, aynı zamanda bitkinin gelişmesini destekleyerek, patojenlere karşı bitkide inaktif olan savunma mekanizmalarını teşvik ettiği düşünülmektedir.

BIOLOG GEN III kütüphanesindeki bakterilerden *Bacillus subtilis*'e yakın benzerlik gösteren PGPR izolatları ise *in vitro* ortamda gösterdiği antagonistik özellikten dolayı sera ve tarla ortamında önemli derecede hastalığı baskıladığı saptanmıştır. Bazı uygulamalarda ise en başarılı izolatlar olarak saptanmıştır.

PGPR izolatlarının soğan bitki gelişimine etkisine bakıldığında *in vitro* ortamda yüksek oranda fosfat çözen mikroorganizmaların saksı denemelerinde bitki gelişimini % 47'ye varan oranda artırdığı saptanmıştır. *Bacillus* spp. olarak teşhis edilen izolatlar ise fosfat çözme özellikleri düşük olmasına rağmen bitki gelişimine etkisinin yüksek olması topraktaki diğer mikroorganizmalar ile rekabet gücünün daha yüksek veya bitki ile ortak yaşamaya daha iyi uyum sağlamış olabileceğinden dolayı aynı etkiyi göstermiş olabilir.

Bu çalışma, soğanda (*Allium cepa* L.) farklı fosfor çözen PGPR izolatların *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepa* 'nin sebep olduğu soğan dip çürüklüğüne ve bitki gelişimine olan etkilerinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Bu nedenle çalışmamızdan elde edilen sonuçlar bundan sonra yapılacak olan biyolojik mücadele çalışmalarına da ışık tutacaktır. Yapılan bu çalışma ile Soğan Dip Çürüklüğü Hastalığının kontrolünde PGPR'lerin kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Başarılı izolatların formülasyonu ve preparat haline getirilerek üretici koşullarında kullanım olanaklarının araştırılması gelecekte planlanan araştırmalarımız arasındadır. Bu araştırmanın devamında; denemenin tarla denemesi şeklinde kurulması, izolatların bitki gelişimi ve hastalık şiddetinin azaltılmasına sinergistik etkisi olup olmadığı ve başarılı bulunan olan izolatların etki mekanizması üzerine çalışmalar önerilebilir.

## KAYNAKLAR

- Abawi, G.S., Lorbeer, J.W. 1972. Several aspects of the ecology and pathology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Phytopathology*, 62:870-876.
- Abd-Alla, M.H., 1994. Phosphates and the utilization of organic phosphorus by *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae*. *Letters in Applied Microbiology*, 18, 294-296
- Abd-El Razik, A.A., Fahmy, F.G., Amein, A.M., El Amein, A.L., 1990. Role of onion seeds in transmission of damping-off causal fungi and chemical control of the disease. *Review of Plant Pathology*, 1992. 71:3456.
- Abdeljalil, N. O. B., Vallance, J., Gerbore, J., Bruez, E., Martins, G., Rey, P., Daami-Remadi, M. (2016). Biocontrol of Rhizoctonia Root Rot in Tomato and Enhancement of Plant Growth using Rhizobacteria Naturally associated to Tomato. *Journal of Plant Pathology Microbiology*, 7(6), 1-8.
- Abouzaid, M.I., Abdelkader, D.A., Tohamy, M.R.A., Honna, A.I., 1993. The combined effect of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* and *Trichoderma harzianum* on the histology of onion roots. *Review of Plant Pathology*, 1997, 76:7303.
- Alam, M.S., Cui, Z.J., Yamagishi, T., Ishii, R., 2001. Grain yield and related physiological characteristics of rice plants (*Oryza sativa* L.) inoculated with free-living rhizobacteria. *Plant Prod. Sci.* 4, 126-130.
- Alstrom, S., 1995. Evidence of disease resistance induced by rhizosphere *Pseudomonas* against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *J Gen Appl Microbiol.* 41 , 315-325.
- Anonim <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul>
- Anonymous, 2008. BIOLOG GEN III Microplate Instruction for Use. 8s.
- Antoun, H. and Prevost, D. (2006) Ecology of Plant Growth Promoting Rhizobacteria. In: Siddiqui, Z.A., Ed., *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, Springer, Dordrecht, 1-38.
- Asghar, H. N., Zahir, Z. A., Arshad, M., 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield and oil content for canola (*Brassica napus* L.). *Australian Journal of agricultural Research*, 55 (2):187-194.

- Ashwini, N., Srividya, S. (2014). Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1. *3 Biotech*, 4(2), 127-136.
- Backman, A. C., Bengtsson, M., and Witzgall, P., 1997. Pheromone release by individual females of codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 23:807-815.
- Baldani, V.L.D., Baldani, J.I., Döbereiner, J., 1987. Inoculation on field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum spp.* in Brazil. *Biol Fert Soils* 4, 37–40.
- Bayraktar, H., Türkkan, M., & Dolar, F. S. (2010). Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* from onion in Turkey based on vegetative compatibility and rDNA RFLP analysis. *Journal of phytopathology*, 158(10), 691-697.
- Bayraktar, K., 1981. Sebze Yetiştirme. Cilt: 2. Ders Kitabı. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 169, 479 s., İzmir.
- Bertrand, H., Nalin, R., Bally, R., Cleyet-Marel, J.C., 2001. Isolation and identification of the most efficient plant growth-promoting bacteria associated with canola (*Brassica napus*). *Biol Fertil Soil* 33, 152-156.
- Bochner, B.R., 1989a. Sleuthing out Bacterial Identities. *Nature*, 339:157-158.
- Bochner, B.R., 1989b. "Breathprints" at the Microbial Level. *ASM News*, 55: 536-539.
- Boff, P., Stadnik, M.J., Ferrari, R., Da Silva, T.O. 1995. Assessment of seed health of the onion seeds commercialized in the state of Santa Catarina. *Revista Brasileira de Sementes*, 17:165-170.
- Bora, T., Özaktan, H., 1998. Bitki hastalıkları ile biyolojik savaş. Prizma Matbaası, İzmir. 205s.
- Booth, C., 1971. The Genus *Fusarium*. Kew, England. Commonwealth Mycology Institute. 237p.
- Broadbent, P., Baker, K.F., Franks, N., Holland, J., 1977. Effect of *Bacillus spp.* on increased growth of seedlings in steamed and in nontreated soil. *Phytopathology*. 67,1027-1034.

- Burgess, L.W., Summerell, B.A., Bullock, S., Gott, K.P., and Backhouse, D., 1994. Laboratory Manual for Fusarium Research, 3rd Edition Dept of Crop Sciences, University of Sidney, 133p.
- Caceres, E.A.R., Anta, G.G., Lopez, J.R., DiCiocco, C.A., Basurco, J.P., Parade, J.L., 1996. Response of field-grown wheat to inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Bacillus polymyxa* in the semiarid region of Argentina. *Arid Soil Res Rehabil.* 10, 13-20.
- Cakmakçı, R., Kantar, F., and Sahin, F., 2001. Effect of N<sub>2</sub> fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164:527 – 531.
- Cavaglieri, L., Orlando, J. R. M. I., Rodriguez, M. I., Chulze, S., Etcheverry, M. (2005). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* *in vitro* and at the maize root level. *Research in Microbiology*, 156(5), 748-754.
- Chen, Y. P., Rekha, P. D., Arun, A. B., Shen, F. T., Lai, W. A., Young, C. C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied soil ecology*, 34(1), 33-41.
- Chen, P. S., Peng, Y. H., Chung, W. C., Chung, K. R., Huang, H. C., Huang, J. W. (2016). Inhibition of *Penicillium digitatum* and *Citrus* Green Mold by Volatile Compounds Produced by *Enterobacter cloacae*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 2016.
- Čolo, J. O. S. I. P., Ti, H. J., Đurić, S., Stamenov, D., Hamidović, S. A. U. D. (2014). Plant growth promotion rhizobacteria in onion production. *Polish Journal of Microbiology*, 63(1), 83-88.
- Corgan, J. (2002). Contributions of the NMSU Breeding Program to the New Mexico Onion Industry. In: Onion Production and Marketing in New Mexico. *New Mexico Cooperative Extension Service Circular* 577.
- Coskuntuna, A., Ozer, N., 2008. Biological control of onion basal rot disease using *Trichoderma harzianum* and induction of antifungal compounds in onion set following seed treatment. *Crop Protection*. 27 : 330–336

- Costa, R., Gomes, N.C.M, Krogerrecklenfort, E., Opelt, K., Berg, G., Smalla, K.2007. *Pseudomonas* community structure and antagonistic potential in the rhizosphere: insights gained by combining phylogenetic and functional gene-based analyses. *Environmental Microbiology* 9(9), 2260-2273.
- Cramer, C.S., 2000. Breeding and genetics of *Fusarium* basal rot resistance in onion. *Euphytica*, 115:159–166.
- Çakmakçı, R., 2006. Bitki Gelişme Promotörü Rizobakteri Kullanımındaki Son Gelişmeler: Organik Tarım Perspektif ve Uygulamaları. Organik Tarım Kong., Yalova.
- Çakmakçı, R., 2005. Bitki gelişiminde fosfat çözücü bakterilerin önemi. S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 19:93-108.
- Çakmakçı, R. (2005). Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakterilerin Tarımda Kullanımı/Use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Agriculture. *Journal of the Faculty of Agriculture*, 36(1).
- De Freitas, J.R., Germida, J.J., 1992a. Growth promotion of winter wheat by fluorescent *Pseudomonas* under growth chamber conditions. *Soil Biol Biochem.* 24, 1127-1135.
- De Silva, A., Patterson, K., Rothrock, C., Moore, J., 2000. Growth promotion of high bush blue berry by fungal and bacterial inoculants. *Hortscience.* 35 (7): 1228-1230.
- De Freitas, J.R., Banerjee, M.R., and Germida, J.J. 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). *Biol Fertil Soils* 24:358-364.
- De La Fuente, L., Bajsa, N., Bagnasco, P., Quagliotto, L., Thomashow, L., and Arias,A. 2000. Antibiotic production by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* isolated from forage legume rhizosphere. *Proceedings of the 5thInternational PGPR Workshop*. Córdoba, Argentina.
- Demir, G., Kotan, R.,2016. Bakteriyel biyokontrol etmenler ile bağ küllemesi (*Uncinula necator* (Schw.)) hastalığının kontrolü. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*.7(1):13-30.

- Di Ciocco, C.A., Caceres, E.A.R., 1994. Field inoculation of setaria italica with *Azospirillum* spp in argentine humid pampas. *Field Crop Res.* 37, 253-257.
- Dissanayake, M. L. M. C., Kashima, R., Tanaka, S., Ito, S. I. 2009. Pathogenic Variation And Molecular Characterization of *Fusarium* Species Isolated From Wilted Welsh Onion In Japan. *Journal of General Plant Pathology*, 75(1), 37-45.
- Dissanayake, M. L. M. C., Kashima, R., Tanaka, S., Ito, S. I. 2009. Genetic diversity and pathogenicity of *Fusarium oxysporum* isolated from wilted Welsh onion in Japan. *Journal of General Plant Pathology*, 75(2), 125-130.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Vanderleyden, J., Dutto, P., Labandera-Gonzalez, C., Caballero-Mellado, J., Aguirre, J.F., Kapulnik, Y., Brener, S., Burdman, S., Kadouri, D., Sarig, S., Okon, Y., 2001. Responses of agronomically important crops to inoculation with *Azospirillum*. *Aust J Plant Physiol* .28, 871-879.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11-15.
- Dursun, A., Ekinici, M., Donmez, M. F., 2010. Effects of foliar application of plant growth promoting bacterium on chemical contents, yield and growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* l.) and cucumber (*Cucumis sativus* l.). *Pak J Bot*, 42, 3349-3356.
- El Zawahry, A., El Aref, H.M., Ahmed, N.G., Aly, A.A., 2000. Protein patterns of certain isolates of *Fusarium oxysporum* and *F. moniliforme* and their relation to virulence. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*, 31:59-78.
- El Neshawy, S., Osman, N., Okasha, K.H., 1999. Biological control of neck rot and black mould of onion. *Egypt. J. Agric. Res.* 77, 125–137.
- El-Gabry, K. I., Sarabana, S. S., El-Khair, A. W. A., 2015. Effect of Some Microbial Activators on Onion Plantlets Growth Quality. *Middle East J*, 4(4), 932-937.
- El-Neshawy S, Osman N, Okash, K., 1999. Biological control of neck rot and black mould of onion. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 77:125-137.

- Erman, M., Kotan, R., Çakmakçı, R., Çiğ, F., Karagöz, K., Sezen, M., 2010. "Van gölü havzasında izole edilen azot fikseri ve fosfat çözücü bakterilerin buğday ve şeker pancarında büyüme ve verim özellikleri üzerine etkileri". Türkiye 4. Organik Tarım Sempozyumu, 325-329.
- Fages, J., Arsac, J.F., 1991. Sunflower inoculation with *Azospirillum* and other plant-growth promoting rhizobacteria. *Plant Soil* ., 137, 87-90.
- Fallik, E., Okon, Y., 1996. The response of maize (*Zea mays*) to *Azospirillum* inoculation in various types of soils in the field. *World J. Micro. Bio.* 12, 511-515.
- Fantino, N.G., Schiavi, M., 1987. Onion breeding for tolerance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* in Italy. *Phytopathologia Mediterranea*, 26:108-112.
- FAO, 2015. <http://www.fao.org>
- Frommel, M.I., Nowak, J., Lazarovitis, G., 1993. Treatment of potato tubers with a growth promoting *Pseudomonas* sp.: Plant growth responses and bacterium distribution in rhizosphere. *Plant Soil*. 150, 51-60.
- Gagne, S., Dehbi, L., Lequere, D., Cayer, F., Morin, J.L., Lemay, R., Fournier, N., 1993. Increase of greenhouse tomato fruit yields by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) inoculated into the peat-based growing media. *Soil Biol Biochem* . 25, 269-272.
- Gamliel, A., and Katan, J. 1993. Suppression of major and minor pathogens by fluorescent *Pseudomonads* in solarized and nonsolarized soils. *Phytopathology* 83: 68-75.
- Glick, B. R., and Bashan, Y., 1997. Genetic manipulation of plant growth promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*, 15:353-378.
- Grosch, R., Faltin, F., Lottmann, J., Kofoet, A., and Berg, G., 2006. Endophytes assource of efficient biological agents. *Bulletin OILB/SROP* 29 (2) : 31-36.
- Gupta, R.P, Srivastava, P.K., Pandey, W.B., 1987. Control of damping-off in kharif onion nursery. *Review of Plant Pathology*, 67:5298.
- Günay, A., 1992. Özel Sebze Yetiştiriciliği, Cilt II, A.Ü. Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara, 2. Baskı. 22-28

- Halder, A. K., Mishra, A. K., Bhattacharyya, P., Chakrabartty, P. K., 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. *Journal of General and Applied Microbiology*, 36:81-92.
- Hall, J. A., Pearson, D., Ghosh, S., and Glick, B. R., 1996. Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Isr. J. Plant Sci.*, 44:37-42.
- Hamaoui, B., Abadi, J.M., Burdman, S., Rashid, A., Sarig, S., Okon, Y., 2001. Effects inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agronomie*, 21, 553-560.
- Havey, M.J., 1995. *Fusarium* basal plate rot. In, "Compendium of onion and garlic diseases", (eds, Schwartz, H.F. and Mohan, S.K.), APS Press, St. Paul, Minnesota, U.S.A., pp. 10-11.
- Hernandez, Y., Sogo, J., Sarmiento, M., 1997. *Azospirillum* inoculation on *Zea mays*. *Cuban J. Agr. Sci.*, 31, 203-209.
- Hessenmuller, A., and Zeller, W., 1996. Biological control of soil-borne Phytophthora species in strawberry with bacterial antagonists. I. Antagonistic effect and colonization of rhizoplane. *Zeitschrift-fur-Pflanzenkrankheiten-und-Pflanzenschutz* 103: (6) 602-609.
- Hoffmann-Hergarten, S., Gulati, M.K., Sikora, R.A., 1998. Yield response and biological control of *Meloidogyne incognita* on lettuce and tomato with rhizobacteria. *J. Plant Dis. Protect.*, 105, 349-358.
- Iswandi, A., Bessie, P., Vandenbeeke, J., Verstraete, W., 1987. Effect of seed inoculation with the rhizopseudomonad strain 7NSK2 on root microbiota of maize (*Zea mays*) and barley (*Hordeum vulgare*). *Biol. Fert. Soils*. 3, 153-158.
- Jacoud, C., Faure, D., Wadoux, P., Bally, R., 1998. Development of a strain-specific probe to follow inoculated *Azospirillum lipoferum* CRT1 under field conditions and enhancement of maize root development by inoculation. *FEMS Microbiol. Ecol.* 27, 43-51.

- Jaqtab, J.D., Suryawanshi, N.S., 2015. Potential of biocontrol agents against basal rot of onion caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Int. J. of Life Sciences*. Special Issue, A5: 65-69.
- Johri, J. K., Surange, S., Narula, C. S., 1999. Occurrence of salt, pH, and temperature-tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils. *Current Microbiology*, 39:89-93.
- Jones, D. L., Darrah, P. R., 1994. Role Of Root Derived Organic Acids In The Mobilization Of Nutrients From The Rhizosphere. *Plant and Soil*, 166, 247-257.
- Joon, T. L., Dong, W. B., Seun, H. P., Chang, K. S., Youn, S. K. and Hee, K. K., 2000. Occurrence and Biological Control of Postharvest Decay in Onion Caused by Fungi, Korean Society of Plant Pathology, *Plant Pathology Journal* 17(3) : 141-148.
- Kapri, A., Tewari, L., 2010. Phosphate solubilization potential and phosphatase activity of rhizospheric *Trichoderma* spp. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41(3), 787-795.
- Karman, M., 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. 279s., Bornova-İzmir.
- Karthikeyan, M., Jayakumar, V., Radhika, K., Bhaskaran, R., Velazhahan, R., Alice, D., 2005. Induction of resistance in host against the infection of leaf blight pathogen (*Alternaria palandui*) in onion (*Allium cepa* var *aggregatum*). *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, 42(6), 371.
- Kehr, A.E., O'Brien, M.J., Davis, E.W., 1962. Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and its interaction with *Pyrenochaeta terrestris* on onion. *Euphytica*, 11, 197-208.
- Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z. A., 2004. Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3):473-480.
- Khatun, H. and Ashrafuzzaman, M., 2008. Fungi Causing Rots in Onions at Storage and Market. *Journal of Bangladesh Agricultural University*. 6(2): 245–251.
- Khedher, S. B., Kilani-Feki, O., Dammak, M., Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M., Tounsi, S., 2015. Efficacy of *Bacillus subtilis* V26 as a biological control agent against *Rhizoctonia solani* on potato. *Comptes rendus biologiques*, 338(12), 784-792.

- Kiewnik, S., Jacobsen, B.J., Braun-Kiewnik, A., Eckhoff, J.L.A., Bergman, J.W., 2001. Integrated control of *Rhizoctonia* Crown and Root rot of sugar beet with fungicides and antagonistic bacteria. *Plant Disease*. 85, 718-722.
- Klement, Z., 1963. Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonas*. *Nature*, 199: 299-300p.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, K., and Zablotowicz, R.M., 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7: 39-43.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, K., Zablotowicz, R.M., 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7, 39-43.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., Schroth, M. N., 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286, 885-886.
- Knudsen, I.M.B., Hockenhull, J. and Jensen, D.F., 1995. Biocontrol of seedling diseases of barley and wheat caused by *Fusarium culmorum* and *Bipolaris sorokiniana*: effects of selected fungal antagonists on growth and yield components. *Plant Pathology*, 44 (3): 467-477.
- Koch, E., Kempf, H.J., and Hessenmüller, A., 1998. Characterization of the biocontrol activity and evaluation of potential plant growth-promoting properties of selected rhizobacteria. *Journal of Plant Disease and Protection*, 105(6), 567-580p.
- Kodama, F., 1983. Studies on basal rot of onion caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and its control. *Review of Plant Pathology*, 62:4562
- Kokalis-Burella, N., Vavrina, E.N., Rosskopf, E.N., Shelby, R.A., 2002. Field evaluation of plant growth promoting rhizobacteria amended transplant mixes and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. *Plant Soil*, 238, 257-266.
- Kotan, R., 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde Yetiştirilen Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarından İzole Edilen Patojen ve Saprofitik Bakteriyel Organizmaların Klasik ve Moleküler Metodlar ile Tanısı ve Biyolojik Mücadele İmkanlarının Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü. Doktora Tezi.

- Kovaks, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature (London)* 178:703.
- Köycü, N.D., Özer, N., 1997. Determination of seed-borne fungi in onion and their transmission to onion sets. *Phytoparasitica*, 25:25-31.
- Kropp, B.R., Thomas, E., Pounder, J.I., Anderson, A.J., 1996. Increased emergence of spring wheat after inoculation with *Pseudomonas chlororaphis* isolate 2E3 under field and laboratory conditions. *Biol. Fert. Soils.*, 23, 200-206.
- Kuc, J., 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology*, 107:7-12.
- Kucey, R.M.N., Janzen, H.H., and Leggett, M.E., 1989. Microbially mediated increases in plant-available phosphorus. *Adv Agron.*, 42, 199-228.
- Kulkarni, S., Nautiyal, C. S., 2000. Effects of salt and pH stress on temperature-tolerant *Rhizobium* sp. NBRI330 nodulating *Prosopis juliflora*. *Current Microbiology*, 40:221-226.
- Kumar, V., and Narula, B., 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *A. chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils*, 28:301-305
- Kumar, A., Kumar, A., Devi, S., Patil, S., Payal, C., Negi, S., 2012. Isolation, screening and characterization of bacteria from Rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an in vitro study. *Recent Research in Science and Technology*, 4(1)
- Küsek, M., 2007. Asmada (*Vitis vinifera* L.) ura neden olan *Agrobacterium vitis*'in tanılanması ve mücadele olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Küsek, M., Çınar. Ö., 2007. Asma Kök Bölgesindeki Topraklardan Fosfor Çözen Bakterilerin İzolasyonu ve Seçimi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Cilt: 16:1
- Kyofa-Boamah, M., Blay E., Braum, M. and Kuehn A., 2000. Good Agricultural Practices and Crop Protection Recommendations for Selected Vegetables. *Handbook of Crop Protection in Ghana*, 5: 95-108.

- Lalande, R., Bissonnette, N., Coutlee, D., Antoun, H., 1989. Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. *Plant Soil*, 115, 7-11.
- Latorre B.A, Agosin E, San Martin R, Vasquez G.S., (1997). Effectiveness of conidia of *Trichoderma harzianum* produced by liquid fermentation against Botrytis bunch rot of table grape in Chile. *Crop Protection*, 16: 209-214.
- Lelliot, R.A., and Stead, D.E., 1987. Diagnostic procedures for bacterial plant diseases. In *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants* 58-59. *Blackwell Scientific Publications*, 216.
- Leyval, C., Barthelin, J., 1989. Interactions between *Laccaria laccata*, *Agrobacterium radiobacter* and beech roots: influence on P, K, Mg and Fe mobilization from mineral and plant growth. *Plant and Soil*, 17, 103-110.
- Li, C. H., Zhao, M. W., Tang, C. M., Li, S. P., 2010. Population dynamics and identification of endophytic bacteria antagonistic toward plant-pathogenic fungi in cotton root. *Microbial ecology*, 59(2), 344-356.
- Lucy, M., Reed, E., Glick, B.R., 2004. Application of Free Living Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Kluwer Academic Publishers. Printed in Netherlands*. 86:1-25.
- Malathi, S., Mohan, S., 2012. Analysis of genetic variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* the causal agent of basal rot on onion using RAPD markers. *Archives of Phytopathology And Plant Protection*, 45(13), 1519-1526.
- Malathi, S., Mohan, S., 2013. Induction of defence-related enzymes in onion by combined application of fungal and bacterial biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Archives of Phytopathology And Plant Protection*, 46(2), 243-252.
- Malathi, S., 2015. Biological control of onion basal rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*. *Asian J. Bio. Sci.*, 10 (1) : 21-26
- Mardad, I., Serrano, A., Soukri, A., 2013. Solubilization of Inorganic Phosphate and Production Of Organic Acids By Bacteria Isolated From a Moroccan Mineral Phosphate Deposit.

- Mayak, S., Tirosh, T., Glick, B.R., 2001. Stimulation of the growth of tomato, pepper and mung bean plants by the plant growth-promoting bacterium *Enterobacter cloacae* CAL3. *Biol Agric Hort* ., 19 (3): 261-274.
- Mc Cullagh, M., Utkhede, R., Menzies, J.G., Punja, Z.K., Paulitz, T.C., 1996. Evaluation of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of *Pythium* root rot of cucumbers grown in rockwool and effects on yield. *J. Plant Pathol.*, 102, 747-755.
- Mirik, M., 2005. Biberde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* 'nın tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanakları. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Mishra, P.K., Fox, R.T.V., Culham A., 2003. Development of a PCR-based assay for rapid and reliable identification of pathogenic *Fusaria*. *FEMS Microbiol Lett* 218:329–332.
- Montesinos, E., Bonaterra, A., Badosa, E., Frances, J., Alemany, J., Llorente, I., Moragrega, C., 2002. Plantmicrobe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control. *Int. Microbiology*, 5:169–175.
- Naik, D. M., Burden, O. L., 1981. Chemical control of basal rot of onion in Zambia. *Tropical Pest Management*, 27: 455-460.
- Nautiyal, C. S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R., Verma, D., 2000. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiology Letters*, 182:291-296.
- Nautiyal, C. S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170:265-270.
- Necola, S., 2007. *Allium cepa* variety evaluation for organic farming in the 5th international symposium on edible Allianceae. *Dronten The Netherlands*. ISHS. 45p
- Nejad, P., and Johnson, P. A., 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. *Biological Control*, 18:208-215.

- Nelson, P.E., Tousson, T.A., and Marasas, W.F.O., 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated Manual for Identification. 193 p. The Pennsylvania State University Press, University Park and London.
- Okon, Y., Labandera-Gonzalez, C.A., 1994. Agronomic applications of *Azospirillum* an evaluation of 20 years world wide field inoculation. *Soil Biol Biochem.*, 26,1591-1601.
- Omar, N., Heulin, T., Weinhard, P., Eldin, M.N.A., Balandreau, J., 1989. Field inoculation of rice with invitro selected plant-growth promoting-rhizobacteria. *Agronomie*. 9, 803-808.
- Orio, A. G. A., Tobares, R. A., Ducasse, D. A., Smania, A. M., 2016. Draft genome sequence of *Bacillus subtilis* ALBA01, a strain with antagonistic activity against the soilborne fungal pathogen of onion *Setophoma terrestris*. *Genome announcements*, 4(3), e00455-16.
- Özer, N., Köycü, N. D., 1998. Evaluation of seed treatments for controlling *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum* on onion seed. *Phytopathologia Mediterranea*, 37: 33-40.
- Özer, N., Köycü, N. D., 2004. Seed-borne fungal diseases of onion and their control. In, "Disease management of fruits and vegetables: Fruit and vegetable diseases. Vol. 1" (ed, Mukerji, K.G.), *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, Netherlands, pp. 281-306.
- Özer, N., Köycü, N. D., Chilosi, G., Pizzuolo, P. H., Coşkuntuna, A., Magro, P., 2003. Pectolytic isoenzymes by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and antifungal compounds in onion cultivars as a response to pathogen infection. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25: 249-257.
- Coşkuntuna, A., Özer, N., 2008. Biological control of onion basal rot disease using *Trichoderma harzianum* and induction of antifungal compounds in onion set following seed treatment. *Crop Protection*, 27(3), 330-336
- Pandey, A., Durgapal, A., Joshi, M., Palni, L.M.S., 1999. Influence of *Pseudomonas corrugata* inoculation on root colonization and growth promotion of two important hill crops. *Microbiol Res* .,154, 259-266.

- Paul E.A., Clark F.E., 1996. Soil Microbiology and Biochemistry, San Diego: *Academic Press*, 340 pp.
- Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Jurriaan, T., Parchmann, S., Mueller, M.J., Buchla, A.J., Metraux, J.P., van Loon, L.C., 2000. Rhizobacteria-Mediated Induced Systemic Resistance (ISR) in *Arabidopsis* requires Sensitivity to Jasmonate and Ethylene but is not Accompanied by an Increase in their Production. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 57: 123-134.
- Polyanskaya, L.M., Vedina, O.T., Lysek, L.V., Zvyagintev, D.G., 2000. The growth promoting effect of *Beijerinckia mobilis* and *Clostridium* sp. cultures on some agricultural crops. *Microbiol.* 71, 109-115.
- Rafika, S.B., Mejda, D.R., Mohamed, BK., Hatem, C., 2006. Onion storage ability and an inventory of onion post-harvest fungi in Tunisia. *Tropical Science*, 46: 105-112.
- Rajendran, K., Ranganathan, K., 1996. Biological control of onion basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*) by combined application of fungal and bacterial antagonists. *Journal of Biological Control*, 10:97-102.
- Ramamoorthy, V., Raguchander, T. and Samiyappan, R., 2002. Enhancing resistance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with fluorescent *Pseudomonas*. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 429-441.
- Ramesh, R., Joshi, A. A., & Ghanekar, M. P., 2009. Pseudomonads: major antagonistic endophytic bacteria to suppress bacterial wilt pathogen, *Ralstonia solanacearum* in the eggplant (*Solanum melongena* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(1), 47-55.
- Rauf, S., Javaid, A., 2013. Antifungal Activity Of Different Extracts Of *Chenopodium album* Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* The Cause Of Onion Basal Rot. *Int. J. Agric. Biol*, 15(2), 367-371.
- Reddy, M.S., Rahe, J.E., 1989. Growth effects associated with seed bacterization not correlated with populations of *Bacillus subtilis* inoculant in onion seedling rhizospheres. *Soil Biol Biochem*, 21 (3): 373-378.

- Reddy, M.S., Kumar, S., Babita, K., Reddy, M.S., 2002, Biosolubilization of poorly soluble rock phosphates by *Aspergillus tubingensis* and *Aspergillus niger*, *Bioresource Technology*, 84: 187-189.
- Ribaudo, C.M., Rondanini, D.P., Cura, J.A., Frascina, A.A., 2001. Response of *Zea mays* to the inoculation with *Azospirillum* on nitrogen metabolism under greenhouse conditions. *Biol Plantarum*.44, 631-634.
- Roberti, R., Flori, P., Brandolini, V., Ghisselini, L., 1989. Dressing of onion seeds and bulbs against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* Sn. Et Hans. *La difesa delle piante*,12:11-22.
- Rodriguez H., R. Fraga., 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances*, 17: 319–333.
- Royse, D.J. and Ries, S.M., 1978. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology*, 68, 603-607.
- Saber, M.S.M., 2001. Clean Biotechnology for sustainable farming. *Eng. Life Sci.*,1, 217-223.
- Saleh S.S., Glick B.R., 2001. Involvement of *gacS* and *rpoS* in enhancement of the plant growth-promoting capabilities of *Enterobacter cloacae* CAL2 and *Pseudomonas putida* UW4. *Can J Microbiol* 47:698–705. doi:10.1139/w01-072
- Sarig, S., Blum, A., Okon, Y., 1998. Improvement of the water status and yield of field-grown grain-sorghum (*Sorghum bicolor*) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *J Agr Sci* , 110, 271-277.
- Sarig, S., Okon, Y., Blum, A., 1992. Effect of *Azospirillum-brasilense* inoculation on growth dynamics and hydraulic conductivity of *Sorghum bicolor* roots. *J Plant Nutr.* 15, 805-819.
- Sasaki, K., Nakahara, K., Tanaka, S., Shigyo, M., Ito, S. I. 2015. Genetic and pathogenic variability of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* isolated from onion and Welsh onion in Japan. *Phytopathology*, 105(4), 525-532.
- Saubidet, M.I., Fatta, N., Barneix, A.J., 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant Soil.* 245, 215-222.

- Schwartz, H.F., Mohan, S.K., 1995. Compendium of Onion and Garlic Diseases. *The American Phytopathological Society*. APS Press. Minnesota. USA. 54pp.
- Sepetoğlu, H., 1996. Yemeklik Tane Baklagiller. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Ders Notları: 24/3, Bornova, İzmir.
- Seifert, K., 1996. Fuskey, Fusarium Interactive Key, Electronic Production. pp:65, <http://res.agr.ca/brd/fusarium/home1.htm>
- Shankar, M., Ponraj, P., Ilakkiam, D., Gunasekaran, P., 2011. Root colonization of a rice growth promoting strain of *Enterobacter cloacae*. *Journal of basic microbiology*, 51(5), 523-530.
- Siddiqui, Z.A., 2006. Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, The Netherlands. 111-142.
- Singh, S., Kapoor, K. K., 1999. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol Fertil Soils*, 28:139-144.
- Sintayehu, A., Sakhuja, P.K., Fininsa, C., Ahmed S., 2011. Management of fusarium basal rot (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*) on shallot through fungicidal bulb treatment. *Crop Protection*, 30 : 560-565
- Smail, A. B., Abderrahman, O., Abdessalem,. 2016. Evaluation of biological control agent *Pantoea agglomerans* P10c against fire blight in Morocco. *African Journal of Agricultural Research*, 11(18), 1661-1667.
- Smith, R.L., Schank, S.C., Milam, J.R., Baltensperger, A.A., 1984. Responses of *Sorghum* and *Pennisetum* species to the N<sub>2</sub> -fixing bacterium *Azospirillum-brasilense*. *Appl Env. Microb.* 47, 1331-1336.
- Southwood, M. J., Viljoen, A., Mostert, L., Rose, L. J., McLeod, A., 2012. Phylogenetic And Biological Characterization of *Fusarium oxysporum* Isolates Associated With Onion In South Africa. *Plant Disease*, 96(9), 1250-1261.
- Srivastava, K.J., Qadri, S.M.H., 1984. Some studies of damping-off disease of onion (*Allium cepa* L.). *Indian Botanical Reporter*, 3: 147-148.

- Stadnik, M.J., Dehingra, O.D., 1995. Reaction of onion seed and seedlings to *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and its relation to bulb basal rot. *Fitopatologia Brasileira*, 20: 429-433.
- Suslow, T.V., Schroth, M.N., 1982. Rhizobacteria of sugar-beets -effects of seed application and root colonization on yield. *Phytopathology*. 72, 199-206.
- Sülü, S. M., İ. A. Bozkurt, S.Soylu., 2016. Bitki Büyüme Düzenleyici ve Biyolojik Mücadele Etmeni Olarak Bakteriyel Endofitler.*Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 21.1.
- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N<sub>2</sub> -fixing and phosphate solubilizing bacteria. *Plant and Soil*, 265, 123-129.
- Taylor, A., Vagany, V., Barbara, D. J., Thomas, B., Pink, D. A. C., Jones, J. E., Clarkson, J. P., 2013. Identification of differential resistance to six *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* isolates in commercial onion cultivars through the development of a rapid seedling assay. *Plant pathology*, 62(1), 103-111.
- Tehrani AS,Ramezani M.,2003. Biological control of *Fusarium oxysporum*,the causal agent of onion wilt by antagonistic bacteria.*Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 68,543-547.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*, 22: 4673-4680.
- Tran Van V., Berge, O., Ngo, K.S., Balandreau, Heulin, T., 2000. Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid soils of Vietnam. *Plant Soil*, 281, 273-284.
- Turner, J.T., Backman, P.A., 1991. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. *Plant Dis.* 75, 347-353.

- Türkkan, M., Karaca, G., (2006). Amasya İli Soğan Ekiliş Alanlarında Bulunan Fungal Kök Çürüklüğü Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(4), 357-363.
- Türkkan, M., 2013. Antifungal Effect of Various Salts Against *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae*, the Causal Agent of Fusarium Basal Rot of Onion. *Tarım Bilimleri Dergisi-Journal of Agricultural Sciences* 19:178-187.
- Tüzüner A., Toprak ve Su Analiz Laboratuvarları El Kitabı, Tarım Orman ve Köyşleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara 1990.
- Uthede, G.S., Koch, C.A., Menzies, J.G., 1999. Rhizobacterial growth and yield promotion of cucumber plants inoculated with *Pythium aphanidermatum*. *Can. J. Plant athol.* 21, 265-271.
- Utkhede, R., Koch, C., 2004. Biological treatments to control bacterial canser of greenhouse tomatoes. *Biocontrol*, 49:305-313
- Ünlü, S., Aysan,Y., 2011. Sardunya (Pelargonium spp.) Bakteriyel Yanıklık Etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *pelargonii*'nin Biyolojik Mücadelesi Üzerine Araştırmalar.*Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*. 2(1):25-38.
- Valenzuela, N. L., Angel, D. N., Ortiz, D. T., Rosas, R. A., García, C. F. O., Santos, M. O. ,2015. Biological control of anthracnose by post harvest application of *Trichoderma* spp. on maradol papaya fruit. *Biological Control*, 91, 88-93.
- Van Loon, L.C, Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., 1998. Systemic Resistance Induced by Rhizosphere Bacteria. *Annual Review of Phytopathology*. 36: 453-483.
- Vassilev N., Vassileva M., Nikolaeva I., 2006. Simultaneous P-solubilizing and biocontrol activity of microorganisms: potentials and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71: 137-144.
- Vedder-Weiss, D., Jurkevitch, E., Burdman, S., Weiss, D., Okon, Y., 1999. Root growth, respiration and beta-glucosidase activity in maize (*Zea mays*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Symbiosis* 26, 363-377.

- Walker, S., Natalie, G., Christopher, C., 2009. Onion Diseases in New Mexico, Department of Plant and Environmental Science New Mexico State University. Circular 538.
- Wang, L., Jin, P., Wang, J., Jiang, L., Zhang, S., Gong, H., Zheng, Y., 2015. In vitro inhibition and in vivo induction of defense response against *Penicillium expansum* in sweet cherry fruit by postharvest applications of *Bacillus cereus* AR156. *Postharvest Biology and Technology*, 101, 15-17.
- Wei, G., Kloepper, J. W., and Tuzun, S., 1996. Induction of systemic resistance to cucumber diseases and increases plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*, 86:221-224.
- Weller, D. M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 379-407.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : İdris BEKTAŞ  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 01.06. 1981 / Trabzon  
Medeni hali : Evli  
Telefon : 0 (536) 961 80 47  
e-posta : [i\\_bektas@hotmail.com](mailto:i_bektas@hotmail.com)  
ÜDS Puanı : 63,75



### Eğitim

| Derece        | Eğitim Birimi         | Başlama- Mezuniyet tarihi |
|---------------|-----------------------|---------------------------|
| Doktora       | KSÜ/ Biyomühendislik  | 2011-2017                 |
| Yüksek lisans | KSÜ / Biyoloji Bölümü | 2008-2011                 |
| Lisans        | KSÜ/ Biyoloji bölümü  | 2004-2008                 |

## EKLER

### EK-1 (Kullanılan Besi Ortamları ve Çözeltiler)

#### -Potates Dextrose Agar (PDA) besi ortamı

|                             |         |
|-----------------------------|---------|
| Potates Dextrose Agar (PDA) | 39,0 gr |
| Saf su                      | 1000 ml |

#### -Potates Dextrose Broth (PDB) Besi Ortamı

|                              |         |
|------------------------------|---------|
| Potates Dextrose Broth (PDB) | 24,0 gr |
| Saf su                       | 1000 ml |

#### -Nutrient Agar (NA) Besi Ortamı

|               |         |
|---------------|---------|
| Nutrient Agar | 13,0 gr |
| Saf su        | 1000 ml |

#### -Nutrient Broth (NB) Besi Ortamı

|                |         |
|----------------|---------|
| Nutrient Broth | 8,0 gr  |
| Saf su         | 1000 ml |

#### -King B Besi Ortamı

|                                     |         |
|-------------------------------------|---------|
| Proteose Peptone                    | 20,0 g  |
| Gliserin                            | 10,0 ml |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>     | 1,5 g   |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O | 1,5 g   |
| Agar                                | 15,0 g  |
| Saf Su                              | 1000 ml |

#### -NBRIP Sıvı Besi Ortamı

|                                                 |         |
|-------------------------------------------------|---------|
| Glukoz                                          | 20,0 g  |
| Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 10,0 g  |
| (NH <sub>4</sub> )SO <sub>4</sub>               | 0,1 g   |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O             | 0,25 g  |
| KCl                                             | 0,2 g   |
| Saf Su                                          | 1000 ml |
| MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O             | 5,0 g   |

**-NBRIP Katı Besi Ortamı**

|                                                 |         |
|-------------------------------------------------|---------|
| Glukoz                                          | 20,0 g  |
| Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 10,0 g  |
| (NH <sub>4</sub> )SO <sub>4</sub>               | 0,1 g   |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O            | 0,25 g  |
| KCl                                             | 0,2 g   |
| Distile Su                                      | 1000 ml |
| MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O            | 5,0 g   |
| Agar                                            | 15 g    |

**-Sentetik Nutrient Agar SNA Besi Ortamı**

|                                      |         |
|--------------------------------------|---------|
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>      | 1,0 g   |
| KNO <sub>3</sub>                     | 1,0 g   |
| MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O | 0,5 g   |
| KCl                                  | 0,5 g   |
| Glikoz                               | 0,2 g   |
| Sakkaroz                             | 0,2     |
| Agar                                 | 15,0 g  |
| Distile Su                           | 1000 ml |

**-Su Agar Besi Ortamı**

|        |         |
|--------|---------|
| Agar   | 15,0 g  |
| Saf Su | 1000 ml |

**-Barton Çözeltisi**

|                                                                                    |          |
|------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O | 25,0 g*  |
| NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>                                                    | 1,25 g** |

\*25,0 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O 400 ml saf su içerisinde eritilir. Erimeyi kolaylaştırmak için 50 °C'ye kadar ısıtılır ve gerekirse süzülür.

\*\*1,25 g NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> 1000 ml'lik ölçü balonu içerisinde 300 ml kaynar saf suda eritilmiştir. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra üzerine 250 ml konsantrik nitrik asit sp. (1,41 g) ilave edilmiş ve çalkalanmıştır.

Asit ilavesinden sonra oda sıcaklığına kadar soğutulan NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> çözeltisi üzerine çalkalanarak (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O çözeltisi ilave edilmiştir.

**-Standart Fosfor Çözeltisi**

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2196 g\*

Saf su 1000 ml

\*40 °C’de kurutulmuş  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1000.0 ml’lik ölçü balonu içerisinde eritilmiştir. Bu çözelti 50 ppm Fosfor ihtiva etmektedir.



## EK-2 (Hastalıklı Soğanlardan İzole Edilen Fungusların Hastalık Şiddetleri)

| İzolat No | Hastalık Şiddeti $\pm$ SS | İzolat No | Hastalık Şiddeti $\pm$ SS | İzolat No | Hastalık Şiddeti $\pm$ SH | İzolat No | Hastalık Şiddeti $\pm$ SS |
|-----------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|---------------------------|
| (K-)      | 0,0 $\pm$ 0,0             | İB-1      | 71,6 $\pm$ 7,6            | İB-26     | 60,0 $\pm$ 5,0            | İB-6      | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-107    | 78,3 $\pm$ 5,7            | İB-50     | 71,6 $\pm$ 7,6            | İB-134    | 58,3 $\pm$ 2,8            | İB-7      | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-57     | 78,3 $\pm$ 2,8            | İB-47     | 71,6 $\pm$ 2,8            | İB-139    | 58,3 $\pm$ 2,8            | İB-11     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-66     | 78,3 $\pm$ 2,8            | İB-110    | 71,6 $\pm$ 2,8            | İB-127    | 56,6 $\pm$ 2,8            | İB-14     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-87     | 78,3 $\pm$ 2,8            | İB-33     | 71,6 $\pm$ 7,6            | İB-149    | 56,6 $\pm$ 2,8            | İB-18     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-109    | 78,3 $\pm$ 2,8            | İB-29     | 70,0 $\pm$ 5,0            | İB-83     | 53,7 $\pm$ 4,3            | İB-22     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-114    | 78,3 $\pm$ 2,8            | İB-52     | 70,0 $\pm$ 5,0            | İB-100    | 53,7 $\pm$ 4,3            | İB-24     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-49     | 77,6 $\pm$ 6,4            | İB-55     | 70,0 $\pm$ 5,0            | İB-148    | 53,3 $\pm$ 7,6            | İB-27     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-10     | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-58     | 70,0 $\pm$ 5,0            | İB-17     | 51,6 $\pm$ 7,6            | İB-37     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-61     | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-68     | 70,0 $\pm$ 5,0            | İB-97     | 51,6 $\pm$ 5,7            | İB-40     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-67     | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-20     | 68,3 $\pm$ 7,6            | İB-126    | 51,6 $\pm$ 2,8            | İB-41     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-89     | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-30     | 68,3 $\pm$ 7,6            | İB-45     | 50,0 $\pm$ 5,0            | İB-42     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-101    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-79     | 68,3 $\pm$ 5,7            | İB-5      | 50,0 $\pm$ 8,6            | İB-43     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-113    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-54     | 68,3 $\pm$ 2,8            | İB-46     | 48,6 $\pm$ 5,5            | İB-51     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-115    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-16     | 66,6 $\pm$ 2,8            | İB-8      | 46,6 $\pm$ 2,8            | İB-59     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-121    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-23     | 66,6 $\pm$ 2,8            | İB-116    | 46,6 $\pm$ 2,8            | İB-62     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-124    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-35     | 66,6 $\pm$ 2,8            | İB-133    | 46,6 $\pm$ 2,8            | İB-64     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-125    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-63     | 66,6 $\pm$ 2,8            | İB-142    | 46,6 $\pm$ 2,8            | İB-65     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-130    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-82     | 66,6 $\pm$ 2,8            | İB-34     | 43,6 $\pm$ 3,2            | İB-69     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-146    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-135    | 66,6 $\pm$ 2,8            | İB-104    | 43,3 $\pm$ 2,8            | İB-71     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-147    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-12     | 65,0 $\pm$ 5,0            | İB-9      | 43,3 $\pm$ 15,2           | İB-73     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-150    | 76,6 $\pm$ 2,8            | İB-117    | 65,0 $\pm$ 8,6            | İB-28     | 41,6 $\pm$ 5,7            | İB-75     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-94     | 76,0 $\pm$ 3,0            | İB-119    | 65,0 $\pm$ 8,6            | İB-128    | 41,6 $\pm$ 2,8            | İB-76     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-25     | 75,3 $\pm$ 4,0            | İB-95     | 65,0 $\pm$ 5,0            | İB-131    | 41,6 $\pm$ 2,8            | İB-77     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-32     | 75,0 $\pm$ 5,0            | İB-85     | 65,0 $\pm$ 5,0            | İB-140    | 41,6 $\pm$ 2,8            | İB-78     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-48     | 75,0 $\pm$ 5,0            | İB-36     | 63,6 $\pm$ 3,2            | İB-15     | 40,0 $\pm$ 5,0            | İB-80     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-53     | 75,0 $\pm$ 5,0            | İB-31     | 63,3 $\pm$ 5,7            | İB-93     | 39,3 $\pm$ 6,0            | İB-81     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-92     | 75,0 $\pm$ 5,0            | İB-74     | 63,3 $\pm$ 5,7            | İB-91     | 36,0 $\pm$ 3,6            | İB-90     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-129    | 75,0 $\pm$ 0,0            | İB-108    | 61,6 $\pm$ 7,6            | İB-122    | 35,3 $\pm$ 4,04           | İB-98     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-3      | 75,0 $\pm$ 5,0            | İB-13     | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-88     | 35,0 $\pm$ 5,0            | İB-99     | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-39     | 73,3 $\pm$ 7,6            | İB-86     | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-111    | 35,0 $\pm$ 13,2           | İB-102    | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-56     | 73,3 $\pm$ 7,6            | İB-96     | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-72     | 34,3 $\pm$ 1,1            | İB-103    | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-123    | 73,3 $\pm$ 7,3            | İB-118    | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-70     | 32,0 $\pm$ 1,7            | İB-106    | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-19     | 73,3 $\pm$ 5,7            | İB-132    | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-44     | 31,6 $\pm$ 5,7            | İB-112    | 0,0 $\pm$ 0,0             |
| İB-38     | 73,3 $\pm$ 5,7            | İB-137    | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-138    | 28,3 $\pm$ 14,4           |           |                           |
| İB-84     | 73,3 $\pm$ 5,7            | İB-141    | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-145    | 22,0 $\pm$ 3,4            |           |                           |
| İB-21     | 73,3 $\pm$ 2,8            | İB-143    | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-144    | 21,6 $\pm$ 6,0            |           |                           |
| İB-60     | 73,3 $\pm$ 2,8            | İB-2      | 61,6 $\pm$ 2,8            | İB-120    | 0,0 $\pm$ 0,0             |           |                           |
| İB-136    | 73,3 $\pm$ 2,8            | İB-105    | 60,0 $\pm$ 8,6            | İB-4      | 0,0 $\pm$ 0,0             |           |                           |

### EK-3 (Yüksek Derece Virülens FOC İzolatlarının Sekans Dizi Analizleri)

>F1

CYSGGAKCTACCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMGAGGCAACAAGTG  
GTATRT

>F3

CYGGAARGCTACCCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCC  
AGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCRATGATTCACTGAATTCTGCAATT  
CACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTG  
TTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAG  
GGGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAG  
TGGTATGTAACACCGACCATTTCCTTGAACAACCTCTTGTWTACAGTGTTTTTAATGTGT  
TGTTTGAGGTCKTTTCGGCTTATGGGTGCGTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCARGAAAAA  
GCTACAGCATGGSTGGAGGCATGCACCGAGGCAACAAGTGGTATGTA

>F10

CYGGGAKCTACCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCA  
GAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
ACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
GGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCAACAAGT  
GGTATRT

>F19

CYCGGAKCCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCRATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCAACAAGTG  
GTATRT

>F21

CCYKAAGCTTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTAGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
ACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
GGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGYMRAGGCAACAAGT  
GGTATRTCAGACCGACCATTTCCTTGAACAACCTCTTGTTTACAGTGTTTTTAATGTGTT  
GTTTGAGGTCGTTTCGGCKTRTGGGKGCCTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCAGGAAAAAG  
CTACAGCATGGCTGGAGGCATGCACCGAGGCAACAAGTGGTATGTAWRAAA

>F25

CSYYSAKCCTCCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCA  
GAATACTGGCGGGCGCAACCAGSGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGMMRAGGCAACAAGTG  
GTATGT

>F32

CYYSGRAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCAACAAGTG  
GTATRT

>F33  
CYCAWASCTACCCAGRCTSWGCTTGAGKRTKKAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCA  
GAATACTRGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
ACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGT  
TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
GGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMGAGGCAACAAGT  
GGTATRT

>F38  
GGCCCCAGACCTCTCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCC  
AGAATACTGGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
CACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTG  
TTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAG  
GGGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMGAGGCAACAAG  
TGGTATGTAAGACCGACCATTTCCTTGAACAACCTCTTGTTTACAGTGTTTTAATGTGT  
TGTTTGAGGTCGTTTCGGCTTATGGGTGCGTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCAGGAAAAA  
GCTACAGCATGGCTGGAGGCATGCACCGAGGCAACARGTGGTATGTATA

>F39  
CYYYGRARKCCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCC  
AGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
CACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTG  
TTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAG  
GGGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCAACAAG  
TGGTATRT

>F47  
GATGGGAAGCTACCCCAGCTSWGCTTGAGKRTKGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGC  
CAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
TCACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTT  
GTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTA  
GGGGTCCTCTGGCGGGCCGYCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCRMMRAGGCAACAA  
GTGGTATRT

>F48  
CGAAAKCTCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGAAT  
ACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACAT  
TACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAA  
AGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGGTC  
CTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCAACAAGTGGTA  
TRTA

>F49  
CYTKGAGGCTCTCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCA  
GAATACTGGCGGGCGCAATGTGSGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
ACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGT  
TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
GGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGT  
GGTATGT

>F50  
CYCRAAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGA  
ATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCAC  
ATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTG  
AAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGG  
TCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGTGG  
TATRT

>F53  
CYGRAAKWCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGAA  
TACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACA  
TTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGA  
AAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGGT  
CCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCSRAGGCAACAAGTGGT  
ATRT

>F56  
CYGGATCAACCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGAA  
TACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
TTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGA  
AAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGG  
CCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGTGGT  
ATRT

>F57  
GGGGTGAACCTCGCWGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCSAACAGGCATGCCCCGCCWG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAGTG  
GTATRT

>F60  
CYSGAAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGA  
ATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
ATTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTG  
AAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGG  
TCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGTGG  
TATRT

>F61  
CYYGAAGSCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGTG  
GTATGT

>F66  
CCKGGGAAKCTCCCCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCG  
CAGAATACTGGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAAT  
TCACATTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTT  
GTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTA  
GGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAA  
GTGGTATGT

>F67  
CYCGGAKCTACCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGTG  
GTATGT

>F84  
CSGGGAKCTACCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGA  
ATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
ATTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTG  
AAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGG  
TCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAGTGG  
TATGTA

>F87  
CYCGGAKCTCCCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAGTG  
GTATGT

>F89  
CYGGRAKCTACCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGTG  
GTATRT

>F94  
CGSGGAARGCTSGCCWAGCTGTGCTTGAGGGTTGAAGTGACGCTCGAACAGGCATGCCC  
GCCAGAATACTGGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCRATGATTCACTGAATTCTGCA  
ATTACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCG  
TTGTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTT  
TAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAAC  
AAGTGGTATGTCTGACCGACCATTTCTTGAACAACCTCTTGTTTACAGTGTTTTTAATG  
TGTTGTTTGTAGGTCGTTTCGGCTTATGGGTGCGTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCAGGAA  
AAAGCTACAGCATGGCTGGAGGCATGCACCGAGGCAACAAGTGGTATGT

>F101  
CSSMAKCTSGCYTAGCATGWGCTWSAGGGTTGATGTGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGC  
CAGAATACTGGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAAT  
TCACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTT  
GTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTA  
GGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAA  
GTGGTATGT

>F107  
CYSGRAKCTASCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCMWTGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAGTG  
GTATGT

>F109  
CTTGATCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGYATCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCA  
CATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRARGCAACAAGTG  
GTATGT

>F113  
CCSCYGAAGCCTCSCTAGCTGTRCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCG  
CCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAA  
TTCACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGT  
TGTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTT  
AGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACA  
AGTGGTATRT

>F114  
CCTCTCGGAGCTCCCAGCTGTRCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCC  
AGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATT  
CACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTG  
TTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAG  
GGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAG  
TGGTATGT

>F115  
CYCGGRATCWACACCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCC  
AGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATT  
CACATTACTTATCGCATTTTGTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTG  
TTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAG  
GGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAG  
TGGTATGT

>F121  
 CYKGGAAKCTCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGA  
 ATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCAC  
 ATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTG  
 AAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGG  
 TCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGTGG  
 TATRT

>F123  
 CYSGGAAKCTACCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCA  
 GAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
 ACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGT  
 TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
 GGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAGT  
 GGTATRT

>F124  
 CYTKGGAACCTACCCAGCTGTRCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCC  
 AGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
 CACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTG  
 TTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAG  
 GGGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAG  
 TGGTATRT

>F125  
 CYSSGAAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
 AATACTGGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
 CATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTT  
 GAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGG  
 GTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGT  
 GTATG

>F129  
 CSSGTGAGSCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCA  
 GAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
 ACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGT  
 TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
 GGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGSYRAGGCAACAAGT  
 GGTATRT

>F130  
 CYYYSRRAKSTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCA  
 GAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
 ACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGT  
 TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
 GGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGMMRAGGCAACAAGT  
 GGTATG

>F136  
 CSGGGAAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAGA  
 ATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCAC  
 ATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTG  
 AAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGG  
 TCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAGTGG  
 TATGT

>F146  
 CSTCGYKAKCTCSGCCTAGCATGTRCTTSAGGGTTGATGTGACGCTCGAACAGGCATGCC  
 CGCCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCA  
 AATTCACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCC  
 GTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGT  
 TTAGGGGTCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAA  
 CAAGTGGTATGT

>F147  
CYYWRARRCTCCCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCA  
GAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
ACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGT  
TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
GGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGT  
GGTATRT  
>F150  
CTTYTGAAGCTCCCARCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCA  
GAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTC  
ACATTACTTATCGCATTTTGTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGT  
TGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGG  
GGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCAACAAGT  
GGTATRT



## EK-4 (Yüksek Derece Virülens olan FOC İzolatlarının Homolojisi)

```

F101    ---CSSCMAKCTSGCYTAGCATGWGCTWSAGGGTTGATGTGACGCTCGAACAGGCATGCC
F146    CSTCGYKAKCTCSGCCTAGCATGTRCTTSAGGGTTGATGTGACGCTCGAACAGGCATGCC
F25     ----CSYYSAAKCCTCCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F47     ---GATGGGAAGCTACCCAGCTSWGCTTGAGKRTKKAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F33     -----CYCAWASCTACCCAGCTSWGCTTGAGKRTKKAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F109    -----CTTGATCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGTTGAATGACGYATCGAACAGGCATGCC
F57     -----GGGGTGAAGCTCGCWGCTGTGCT-TGAGGGTTGAATGACGCTCSAACAGGCATGCC
F113    -CCSCYGGGAAGCCTCSCTAGCTGTRCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F114    ---CCTCTCGGAGCTCCCAGCTGTRCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F84     -----CSGGGAKCTACCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F136    -----CSGGGAKCTCCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F38     ---GGCCCAGACCTCTCAAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F107    -----CYSGRAKCTASCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F67     -----CYCGGAKCTACCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F87     -----CYCGGAKCTCCCAAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F124    ---CYTKGGAKCCTACCCAGCTGTRCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F19     -----CYCGGAKCCTCCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F1      -----CYSGGAKCTACCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F10     -----CYGGGAKCTACCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F89     -----CYGGRKCTACCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F123    ----CYSGGAAKCTACCCAGCTGTGCTTG-AGGGTTGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F94     -CGGSGGAARGCTSGCCWAGCTGTGCTTGAGGGTTGAAGTGACGCTCGAACAGGCATGCC
F21     ----CCYKAAGCTTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F115    ---CYCGGRATCWACACCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F49     ----CYTKGAGGCTCTCAAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F56     -----CYGATCAACCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F48     -----CGAAAKCTCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F53     -----CYGRAAKCWCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F121    -----CYKGAAKCTCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F3      ---CYGGAARGCTACCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F66     --CCKGGGAAKCTCCCCAAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F129    ----CSSGTGAGSCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F130    ----CYYYRRAKSTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F147    ----CYYWRARRCTCCCAAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F150    ----CTTYTGAAAGCTCCCARCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F39     ---CYYYGRARKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F32     ----CYYSGRAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F50     -----CYCRAAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F60     -----CYSGAAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F61     ----CYYGAAGSCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC
F125    ----CYSSGAAKCTCCCAGCTGTGCTTGAGGGT-TGAATGACGCTCGAACAGGCATGCC

```

\*

\*\* \*\*\*\*\*

```

F101    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F146    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F25     CGCCAGAATACTGGC--GGGCGAACCAGSGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F47     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F33     CGCCAGAATACT-RGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F109    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F57     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F113    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F114    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F84     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F136    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F38     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F107    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCMWTGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F67     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F87     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F124    CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F19     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCRATGATTCACCTGAATTCTG
F1      CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F10     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG
F89     CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACCTGAATTCTG

```

|      |                                                               |
|------|---------------------------------------------------------------|
| F123 | CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F94  | CGCCAGAATACT-GGCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCRATGATTCACTGAATTCTG |
| F21  | CGCCAGAATACTAGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F115 | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F49  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGSGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F56  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F48  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F53  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F121 | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F3   | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCRATGATTCACTGAATTCTG |
| F66  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F129 | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F130 | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F147 | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F150 | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F39  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F32  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F50  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F60  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F61  | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
| F125 | CGCCAGAATACTG-GCGGGCGCMATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTG |
|      | * * * * *                                                     |

[illegible]

|      |                                                                |
|------|----------------------------------------------------------------|
| F101 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA  |
| F146 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F25  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGMMRAGGCA  |
| F47  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCRM MRAGGCA |
| F33  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMGAGGCA  |
| F109 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRARGCA  |
| F57  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F113 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA  |
| F114 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F84  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F136 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F38  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMGAGGCA  |
| F107 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F67  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA  |
| F87  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F124 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA  |
| F19  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA  |
| F1   | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMGAGGCA  |
| F10  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCA  |
| F89  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA  |
| F123 | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA  |
| F94  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA  |
| F21  | TTTAGGGGTCCCTCTGGCGGGCCGTCCCCTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGYMRAGGCA  |

|      |                                                              |
|------|--------------------------------------------------------------|
| F115 | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F49  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F56  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F48  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCA |
| F53  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCSRAGGCA |
| F121 | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F3   | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCA |
| F66  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F129 | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGSYRAGGCA |
| F130 | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGMMRAGGCA |
| F147 | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F150 | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F39  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCA |
| F32  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCMRAGGCA |
| F50  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F60  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F61  | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |
| F125 | TTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCRAGGCA |

\*\*\*\*\* \* \*\*

|      |                                                             |
|------|-------------------------------------------------------------|
| F101 | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F146 | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F25  | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F47  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F33  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F109 | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F57  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F113 | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F114 | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F84  | ACAAGTGGTATGTA-----                                         |
| F136 | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F38  | ACAAGTGGTATGTAAGACCGACCATTTCCTTGAACAACCTCTGTGTACAGTGTTTTTAA |
| F107 | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F67  | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F87  | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F124 | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F19  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F1   | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F10  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F89  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F123 | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F94  | ACAAGTGGTATGTCTGACCGACCATTTCCTTGAACAACCTCTGTGTACAGTGTTTTTAA |
| F21  | ACAAGTGGTATRTCAGACCGACCATTTCCTTGAACAACCTCTGTGTACAGTGTTTTTAA |
| F115 | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F49  | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F56  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F48  | ACAAGTGGTATRTA-----                                         |
| F53  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F121 | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F3   | ACAAGTGGTATGTAAACCGACCATTTCCTTGAACAACCTCTGTWTACAGTGTTTTTAA  |
| F66  | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F129 | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F130 | ACAAGTGGTATG-----                                           |
| F147 | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F150 | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F39  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F32  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F50  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F60  | ACAAGTGGTATRT-----                                          |
| F61  | ACAAGTGGTATGT-----                                          |
| F125 | ACAAGTGGTATG-----                                           |

\*\*\*\*\*

|      |       |
|------|-------|
| F101 | ----- |
| F146 | ----- |
| F25  | ----- |

|      |                                                              |
|------|--------------------------------------------------------------|
| F47  | -----                                                        |
| F33  | -----                                                        |
| F109 | -----                                                        |
| F57  | -----                                                        |
| F113 | -----                                                        |
| F114 | -----                                                        |
| F84  | -----                                                        |
| F136 | -----                                                        |
| F38  | TGTGTTGTTTGAGGTCGTTTCGGCTTATGGGTGCGTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCAGG |
| F107 | -----                                                        |
| F67  | -----                                                        |
| F87  | -----                                                        |
| F124 | -----                                                        |
| F19  | -----                                                        |
| F1   | -----                                                        |
| F10  | -----                                                        |
| F89  | -----                                                        |
| F123 | -----                                                        |
| F94  | TGTGTTGTTTGAGGTCGTTTCGGCTTATGGGTGCGTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCAGG |
| F21  | TGTGTTGTTTGAGGTCGTTTCGGCKTRTGGGKCGTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCAGG  |
| F115 | -----                                                        |
| F49  | -----                                                        |
| F56  | -----                                                        |
| F48  | -----                                                        |
| F53  | -----                                                        |
| F121 | -----                                                        |
| F3   | TGTGTTGTTTGAGGTCGTTTCGGCTTATGGGTGCGTTGGTCTGTCCATGGGCTTACCAGG |
| F66  | -----                                                        |
| F129 | -----                                                        |
| F130 | -----                                                        |
| F147 | -----                                                        |
| F150 | -----                                                        |
| F39  | -----                                                        |
| F32  | -----                                                        |
| F50  | -----                                                        |
| F60  | -----                                                        |
| F61  | -----                                                        |
| F125 | -----                                                        |
|      |                                                              |
| F101 | -----                                                        |
| F146 | -----                                                        |
| F25  | -----                                                        |

**EK-5 ( PGPR izolatlarının Fosfor Çözme Değerleri ve Fosfor Çözme İndeksleri)**

| İzolatlar      | Fosfor Çözme miktarı (ppm)± SS | Fosfor Çözme İndeksi | İzolatlar | Fosfor Çözme miktarı (ppm)± SS | Fosfor Çözme İndeksi |
|----------------|--------------------------------|----------------------|-----------|--------------------------------|----------------------|
| K <sup>-</sup> | 11,7±1,6                       | -                    | OB-165    | 246,0±3,2                      | 1,1                  |
| OB-169         | 382,5±2,1                      | 1,2                  | MK-250    | 245,7±4,7                      | 1,5                  |
| EB-14          | 337,6±0,7                      | 1,0                  | OB-183    | 245,2±5,1                      | 1,1                  |
| EB-15          | 321,9±4,3                      | 1,9                  | HB-238    | 245,2±4,9                      | 1,6                  |
| EB-21          | 316,9±3,3                      | 2,7                  | AZB-43    | 245,0±5,2                      | 3,3                  |
| HB-234         | 304,4±2,5                      | 1,3                  | MK-252    | 243,8±3,0                      | 3,9                  |
| HB-230         | 298,7±2,3                      | 2,1                  | HB-214    | 242,6±3,2                      | 2,1                  |
| HB-207         | 295,8±3,7                      | 1,7                  | ZEB-87    | 241,4±1,3                      | 1,9                  |
| HB-204         | 282,1±3,2                      | 1,7                  | AZB-75    | 240,7±4,4                      | 1,6                  |
| HB-228         | 281,3±2,8                      | 1,6                  | İB-131    | 239,0±3,0                      | 1,4                  |
| AZB-64         | 278,8±7,3                      | 1,9                  | İB-159    | 238,7±2,8                      | 1,9                  |
| MK-257         | 274,8±4,0                      | 2,3                  | EB-23     | 236,8±4,3                      | 1,4                  |
| HB-228         | 274,2±2,2                      | 1,9                  | ZEB-88    | 233,6±2,6                      | 2,0                  |
| EB-16          | 271,8±2,0                      | 1,5                  | MK-266    | 233,0±2,4                      | 1,1                  |
| HB-229         | 268,0±2,6                      | 1,8                  | İB-141    | 232,6±2,8                      | 1,2                  |
| AZB-79         | 265,9±2,7                      | 1,6                  | ZEB122    | 228,6±3,2                      | 1,6                  |
| EB-38          | 265,5±4,9                      | 4,8                  | İB-148    | 227,8±2,5                      | 1,4                  |
| OB-219         | 265,4±3,4                      | 1,2                  | EB-36     | 226,4±4,9                      | 2,8                  |
| HB-218         | 264,9±6,0                      | 1,5                  | İB-150    | 226,4±2,1                      | 1,2                  |
| EB-22          | 264,5±3,7                      | 1,1                  | İB-157    | 225,8±5,1                      | 1,7                  |
| EB-6           | 264,4±1,6                      | 3,5                  | OB-168    | 225,5±5,0                      | 1,1                  |
| MK-264         | 261,4±6,4                      | 1,7                  | EB-9      | 221,1±4,4                      | 1,3                  |
| HB-212         | 261,1±4,0                      | 3,0                  | EB-4      | 220,8±0,7                      | 1,2                  |
| OB-194         | 260,3±5,1                      | 2,4                  | ZEB108    | 220,3±4,6                      | 3,0                  |
| ZEB-94         | 259,4±7,9                      | 5,0                  | İB-138    | 219,3±3,1                      | 1,4                  |
| HB-244         | 259,4±3,8                      | 1,6                  | EB-18     | 218,8±1,7                      | 1,7                  |
| İB-162         | 258,8±4,7                      | 1,1                  | AZB-60    | 218,7±2,4                      | 1,3                  |
| OB-173         | 257,9±2,5                      | 1,5                  | EB-8      | 218,1±2,0                      | 1,5                  |
| EB-1           | 257,3±1,5                      | 1,5                  | ZEB-82    | 218,1±2,5                      | 1,8                  |
| AZB-80         | 256,9±1,2                      | 1,8                  | OB-180    | 213,6±2,1                      | 1,3                  |
| MK-249         | 255,5±5,1                      | 1,5                  | EB-28     | 213,3±2,1                      | 3,1                  |
| OB-188         | 254,6±1,3                      | 1,2                  | EB-19     | 212,5±1,9                      | 2,0                  |
| İB-127         | 253,7±4,4                      | 2,0                  | MK-267    | 212,4±2,9                      | 1,7                  |
| OB-197         | 253,6±2,3                      | 2,1                  | İB-142    | 212,3±3,9                      | 1,1                  |
| HB-232         | 253,3±2,4                      | 1,1                  | AZB-78    | 208,6±2,5                      | 1,7                  |
| OB-170         | 250,7±5,1                      | 1,1                  | AZB-59    | 208,5±2,1                      | 1,2                  |
| EB-10          | 250,6±1,0                      | 3,1                  | ZEB116    | 208,2±3,0                      | 1,2                  |
| OB-189         | 250,0±5,1                      | 1,1                  | EB-20     | 208,2±1,9                      | 2,1                  |
| MK-258         | 249,7±3,3                      | 1,7                  | AZB-42    | 208,0±2,5                      | 3,7                  |
| HB-239         | 249,4±4,3                      | 2,2                  | İB-125    | 208,0±2,8                      | 1,1                  |
| MK-248         | 249,0±7,7                      | 1,6                  | OB-164    | 205,3±4,0                      | 1,1                  |
| MK-262         | 247,8±2,5                      | 1,9                  | AZB-81    | 204,0±3,0                      | 2                    |

| İzolatlar | Fosfor<br>Çözme<br>miktarı<br>(ppm)± SS | Fosfor<br>Çözme<br>İndeksi |
|-----------|-----------------------------------------|----------------------------|
| İB-156    | 203,8±2,6                               | 1,5                        |
| ZEB-115   | 203,2±1,7                               | 1,0                        |
| MK-246    | 201,6±5,0                               | 1,2                        |
| HB-223    | 201,0±3,8                               | 1,2                        |
| İB-153    | 200,9±2,6                               | 1,5                        |
| İB-139    | 200,7±1,2                               | 1,5                        |
| ZEB-119   | 200,6±2,3                               | 1,8                        |
| ZEB-99    | 198,3±2,4                               | 4,0                        |
| ZEB-102   | 197,6±2,4                               | 1,0                        |
| İB-161    | 197,5±3,0                               | 1,4                        |
| ZEB-100   | 197,4±2,5                               | 1,8                        |
| OB-179    | 196,5±3,5                               | 1,4                        |
| OB-191    | 194,3±4,1                               | 2,1                        |
| ZEB-93    | 192,8±2,0                               | 3                          |
| HB-227    | 192,7±2,7                               | 1,7                        |
| İB-158    | 192,7±2,5                               | 1,9                        |
| İB-134    | 190,2±3,1                               | 1,9                        |
| İB-128    | 189,5±3,5                               | 1,9                        |
| İB-123    | 189,1±3,3                               | 1,7                        |
| MK-263    | 185,4±4,7                               | 1,9                        |
| ZEB-105   | 183,8±5,9                               | 1,7                        |
| HB-226    | 183,0±2,4                               | 1,6                        |
| ZEB-107   | 181,2±3,3                               | 1,6                        |
| ZEB-101   | 178,5±2,3                               | 1,5                        |
| HB-233    | 178,3±2,3                               | 1,2                        |
| OB-167    | 177,9±2,4                               | 1,2                        |
| ZEB-117   | 175,6±4,9                               | 1,5                        |
| HB-217    | 174,8±3,6                               | 1,4                        |
| OB-166    | 174,4±4,4                               | 2,3                        |
| İB-135    | 172,8±2,9                               | 1,1                        |
| ZEB-96    | 172,5±1,6                               | 1,2                        |
| ZEB-91    | 172,1±3,6                               | 3,0                        |
| OB-198    | 171,5±3,0                               | 1,9                        |
| ZEB-89    | 169,4±3,4                               | 1,8                        |
| MK-260    | 169,0±3,5                               | 2,17                       |
| AZB-68    | 167,7±3,6                               | 2,2                        |
| MK-255    | 164,0±2,8                               | 1,6                        |
| HB-241    | 163,2±2,2                               | 1,8                        |
| AZB-50    | 162,3±1,9                               | 1,1                        |
| HB-236    | 153,8±1,2                               | 1,6                        |

| İzolatlar | Fosfor<br>Çözme<br>miktarı<br>(ppm)± SS | Fosfor<br>Çözme<br>İndeksi |
|-----------|-----------------------------------------|----------------------------|
| ZEB-84    | 152,9±2,5                               | 1,5                        |
| İB-140    | 152,8±3,2                               | 3,2                        |
| ZEB-111   | 151,2±2,4                               | 2,5                        |
| ZEB-110   | 150,9±2,7                               | 2,2                        |
| ZEB-98    | 150,2±1,2                               | 1,6                        |
| HB-235    | 147,4±3,1                               | 2,2                        |
| EB-13     | 146,7±4,4                               | 1,9                        |
| ZEB-112   | 146,7±3,5                               | 2,5                        |
| İB-151    | 146,5±3,7                               | 1,1                        |
| AZB-44    | 145,3±3,9                               | 1,0                        |
| EB-2      | 143,0±2,6                               | 2,4                        |
| EB-24     | 142,6±5,8                               | 3,4                        |
| HB-245    | 142,3±7,2                               | 1,1                        |
| OB-193    | 138,9±3,1                               | 2,5                        |
| ZEB-104   | 138,6±2,5                               | 1,1                        |
| EB-12     | 137,1±1,5                               | 2,8                        |
| OB-184    | 135,6±5,0                               | 1,1                        |
| HB-237    | 135,5±5,0                               | 1,7                        |
| İB-154    | 134,8±3,9                               | 1,7                        |
| AZB-73    | 133,9±2,8                               | 2,0                        |
| İB-126    | 133,2±2,5                               | 1,1                        |
| AZB-70    | 132,6±2,3                               | 1,8                        |
| İB-133    | 132,3±1,2                               | 1,8                        |
| EB-29     | 132,2±2,6                               | 1,9                        |
| ZEB-97    | 127,9±2,0                               | 1,7                        |
| İB-132    | 126,9±3,2                               | 1,5                        |
| AZB-74    | 126,8±3,6                               | 1,5                        |
| HB-242    | 126,7±3,6                               | 1,7                        |
| OB-177    | 126,6±6,2                               | 1,8                        |
| MK-269    | 125,1±5,0                               | 1,2                        |
| ZEB-95    | 124,5±3,3                               | 1,8                        |
| EB-34     | 124,3±5,5                               | 1,1                        |
| EB-32     | 123,3±2,5                               | 2,7                        |
| İB-124    | 122,4±2,2                               | 1,8                        |
| AZB-48    | 121,8±3,6                               | 1,7                        |
| ZEB-86    | 119,6±3,4                               | 2,2                        |
| HB-240    | 117,9±2,7                               | 2,1                        |
| EB-17     | 116,9±1,6                               | 2,1                        |
| HB-243    | 115,0±5,2                               | 1,6                        |
| AZB-63    | 114,2±2,9                               | 1,3                        |

| İzolatlar | Fosfor<br>Çözme<br>miktarı<br>(ppm)± SS | Fosfor<br>Çözme<br>İndeksi |
|-----------|-----------------------------------------|----------------------------|
| EB-40     | 113,9±3,5                               | 1,8                        |
| ZEB-90    | 113,4±3,2                               | 3,5                        |
| AZB-71    | 112,9±2,2                               | 1,2                        |
| İB-163    | 112,6±2,5                               | 1,5                        |
| OB-182    | 112,2±1,4                               | 1,2                        |
| OB-176    | 109,4±1,3                               | 2,5                        |
| OB-181    | 109,0±3,3                               | 1,2                        |
| OB-195    | 108,8±2,6                               | 2,4                        |
| EB-39     | 108,0±2,5                               | 2,2                        |
| MK-256    | 105,1±2,5                               | 2,1                        |
| HB-221    | 104,3±2,7                               | 1,2                        |
| HB-216    | 104,9±1,6                               | 2,1                        |
| HB-219    | 103,3±2,6                               | 1,2                        |
| HB-224    | 98,9±1,7                                | 1,5                        |
| ZEB-85    | 98,3±2,6                                | 1,8                        |
| AZB-54    | 98,1±2,3                                | 1,5                        |
| AZB-72    | 96,5±3,5                                | 2,1                        |
| AZB-76    | 94,1±2,8                                | 1,2                        |
| İB-136    | 93,6±2,5                                | 1,7                        |
| AZB-61    | 92,7±1,9                                | 1,9                        |
| OB-190    | 92,0±2,0                                | 2,8                        |
| EB-25     | 90,7±4,1                                | 2,5                        |
| İB-147    | 90,6±2,1                                | 1,6                        |
| EB-27     | 90,5±2,3                                | 1,5                        |
| OB-175    | 90,4±2,0                                | 1,9                        |
| AZB-47    | 90,1±1,4                                | 1,1                        |
| ZEB-103   | 88,7±3,0                                | 1,2                        |
| İB-152    | 88,4±2,5                                | 1,7                        |
| AZB-65    | 88,3±2,6                                | 1,1                        |
| ZEB-92    | 88,7±2,3                                | 2,1                        |
| EB-30     | 87,8±1,8                                | 1,1                        |
| EB-5      | 87,5±2,1                                | 1,3                        |
| AZB-57    | 87,0±2,4                                | 1,7                        |
| AZB-67    | 85,1±2,0                                | 1,9                        |
| MK-261    | 84,7±5,8                                | 1,2                        |
| AZB-69    | 83,7±4,2                                | 1,5                        |
| İB-143    | 83,5±2,2                                | 1,9                        |
| AZB-62    | 82,3±1,5                                | 1,2                        |
| ZEB-109   | 81,7±3,6                                | 2,1                        |
| HB-231    | 80,2±1,8                                | 2,2                        |
| AZB-46    | 78,6±3,3                                | 1,9                        |

| İzolatlar | Fosfor<br>Çözme<br>miktarı<br>(ppm)± SS | Fosfor<br>Çözme<br>İndeksi |
|-----------|-----------------------------------------|----------------------------|
| İB-144    | 77,9±2,5                                | 1,8                        |
| HB-220    | 77,9±2,5                                | 1,9                        |
| AZB-49    | 75,5±5,1                                | 1,8                        |
| ZEB-120   | 74,5±3,5                                | 1,9                        |
| AZB-51    | 74,0±4,4                                | 1,9                        |
| İB-155    | 73,4±2,0                                | 2,0                        |
| İB-160    | 72,8±2,3                                | 1,5                        |
| AZB-77    | 71,7±0,9                                | 1,9                        |
| OB-199    | 69,4±3,8                                | 1,9                        |
| EB-31     | 69,3±3,0                                | 1,2                        |
| ZEB-118   | 67,8±2,5                                | 1,7                        |
| EB-3      | 67,8±2,3                                | 1,0                        |
| MK-265    | 66,0±5,3                                | 1,5                        |
| İB-130    | 65,9±1,2                                | 3,5                        |
| MK-253    | 65,8±4,8                                | 1,5                        |
| HB-222    | 65,7±2,6                                | 1,1                        |
| AZB-55    | 65,3±1,3                                | 1,6                        |
| EB-35     | 64,0±2,9                                | 1,2                        |
| MK-251    | 63,6±3,8                                | 1,4                        |
| OB-174    | 63,2±2,4                                | 1,9                        |
| ZEB-106   | 62,9±2,4                                | 1,8                        |
| MK-268    | 62,4±2,7                                | 1,9                        |
| AZB-41    | 62,2±4,2                                | 1,6                        |
| AZB-45    | 61,9±1,2                                | 1,1                        |
| AZB-52    | 61,3±1,0                                | 1,8                        |
| MK-247    | 60,7±5,0                                | 1,8                        |
| AZB-53    | 59,9±3,9                                | 1,1                        |
| İB-137    | 59,8±4,1                                | 1,5                        |
| EB-11     | 57,8±2,7                                | 1,5                        |
| ZEB-83    | 57,3±1,5                                | 1,5                        |
| MK-259    | 57,2±1,6                                | 1,6                        |
| İB-149    | 56,6±1,6                                | 1,3                        |
| OB-187    | 55,8±5,1                                | 1,1                        |
| HB-225    | 55,8±2,3                                | 1,5                        |
| ZEB-114   | 54,3±2,6                                | 1,4                        |
| OB-185    | 54,2±1,5                                | 1,2                        |
| İB-146    | 53,3±2,6                                | 1,8                        |
| ZEB-113   | 52,0±2,0                                | 2,5                        |
| EB-37     | 51,9±1,6                                | 3,1                        |
| OB-201    | 51,5±3,7                                | 1,5                        |
| HB-211    | 48,7±5,3                                | 1,5                        |

| İzolatlar | Fosfor Çözme miktarı (ppm)± SS | Fosfor Çözme İndeksi |
|-----------|--------------------------------|----------------------|
| HB-210    | 48,2±2,4                       | 2,1                  |
| İB-145    | 45,7±2,6                       | 1,6                  |
| HB-206    | 44,8±4,2                       | 2,1                  |
| HB-215    | 44,0±2,4                       | 3,1                  |
| OB-171    | 43,3±2,4                       | 1,2                  |
| OB-200    | 42,5±2,9                       | 1,9                  |
| HB-205    | 42,2±1,5                       | 2,1                  |
| OB-172    | 40,0±1,9                       | 1,1                  |
| OB-202    | 40,1±2,7                       | 1,6                  |
| MK-254    | 40,3±4,3                       | 1,5                  |
| EB-26     | 40,4±4,7                       | 1,2                  |
| EB-7      | 40,4±2,1                       | 3,6                  |

| İzolatlar | Fosfor Çözme miktarı (ppm)± SS | Fosfor Çözme İndeksi |
|-----------|--------------------------------|----------------------|
| AZB-66    | 40,7±1,6                       | 1,0                  |
| AZB-58    | 41,2±2,4                       | 1,6                  |
| AZB-56    | 38,9±3,3                       | 1,7                  |
| İB-129    | 37,9±2,7                       | 3,0                  |
| OB-192    | 31,6±4,6                       | 2,1                  |
| OB-196    | 31,8±1,7                       | 2,2                  |
| OB-178    | 29,1±1,8                       | 1,7                  |
| HB-213    | 28,1±2,3                       | 2,1                  |
| ZEB-121   | 27,8±1,8                       | 1,5                  |
| OB-186    | 23,2±2,3                       | 1,1                  |
| OB-203    | 19,3±1,3                       | 1,7                  |
| EB-33     | 15,7±0,9                       | 1,0                  |

## EK-6 (PGPR İzolatlarının BİOLOG GEN III Sisteminde Tanımlama Sonuçları)

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB6-1  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:14 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

Result Species ID: Enterobacter cloacae ss dissolvens  
 Comment  
 Notice

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|-------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | 0.767 | 0.546 | 4.076 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | 0.079 | 0.045 | 6.266 | GN-Ent        | Yersinia intermedia                |
| 3    | 0.079 | 0.045 | 6.268 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |
| 4    | 0.076 | 0.043 | 6.304 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 7          |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

### Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A     | 81    | { 156 | < 203   | < 203 | < 207 | < 207 | < 203   | 121   | { 156 | < 234 | < 231 | { 205 |
| B     | < 200 | 114   | < 202   | < 204 | < 212 | < 230 | < 219   | < 231 | 86 +  | < 234 | < 225 | { 177 |
| C     | < 203 | < 208 | < 204   | < 205 | { 127 | 108   | { 184 - | < 198 | < 209 | < 239 | { 221 | 74    |
| D     | < 208 | < 209 | { 124   | < 213 | < 198 | < 217 | < 217   | 88    | < 233 | < 238 | < 245 | 69    |
| E     | 75    | < 206 | < 229   | 113   | { 183 | { 182 | { 142 + | 112   | < 212 | < 227 | < 239 | < 257 |
| F     | { 184 | < 227 | < 232 - | < 228 | < 225 | { 175 | < 228   | 85    | < 226 | < 240 | < 360 | < 363 |
| G     | < 212 | { 190 | 96      | < 217 | < 209 | 95    | 86      | < 229 | { 190 | 76    | { 200 | 77    |
| H     | 98    | 81    | 42      | < 195 | 53    | 112   | 57      | < 198 | { 154 | { 154 | < 225 | { 126 |

Report Date Şub 03 2016 4:23 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB6-37  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:15 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                                |
|---------|------------------------------------------------|
| Result  | Species ID: Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| Comment |                                                |
| Notice  |                                                |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|-------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | 0.930 | 0.669 | 3.993 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | 0.039 | 0.023 | 6.024 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |
| 3    | 0.019 | 0.011 | 6.482 | GN-Ent        | Enterobacter asburiae              |
| 4    | 0.011 | 0.006 | 6.812 | GN-Ent        | Enterobacter kobei                 |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A     | 82    | { 161 | < 197   | < 196 | < 197 | < 203 | < 205   | 111   | { 177 | < 234 | < 234 | { 211 |
| B     | < 191 | 116   | < 192   | < 197 | < 205 | < 228 | < 217   | < 227 | 82 +  | < 233 | { 219 | { 190 |
| C     | < 195 | < 192 | < 202   | < 200 | 115   | 101   | { 181 - | < 193 | < 207 | < 232 | { 222 | 94    |
| D     | < 201 | < 201 | 80      | < 212 | < 193 | < 223 | < 211   | 86    | < 235 | < 243 | < 246 | 72    |
| E     | 74    | < 202 | < 229   | 117   | { 184 | { 185 | { 138 + | 119   | < 219 | < 246 | < 238 | < 254 |
| F     | { 178 | < 231 | < 228 - | < 235 | < 227 | { 172 | < 227   | 88    | < 228 | < 238 | < 390 | < 358 |
| G     | < 208 | < 210 | 96      | < 217 | < 209 | 92    | 81      | < 226 | < 191 | 70    | { 184 | 68    |
| H     | 106   | 85    | { 131   | < 203 | 79    | { 135 | 94      | < 197 | { 156 | { 176 | { 223 | 81    |

Report Date Şub 03 2016 4:23 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB8-6  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:17 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.15G

Result Species ID: *Bacillus subtilis* ss *subtilis*  
 Comment  
 Notice

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                                       |
|------|-------|-------|-------|---------------|-----------------------------------------------|
| 1    | 0.589 | 0.589 | 6.051 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus subtilis</i> ss <i>subtilis</i>   |
| 2    | 0.153 | 0.153 | 6.443 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus subtilis/atrophæus</i>            |
| 3    | 0.107 | 0.107 | 6.751 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus subtilis</i> ss <i>spizizenii</i> |
| 4    | 0.062 | 0.062 | 7.227 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus licheniformis</i>                 |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

| Plate | 1     | 2       | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9       | 10    | 11      | 12    |
|-------|-------|---------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
| A     | 145   | { 179   | { 176   | { 180 | { 177 | { 178 | { 175   | { 178 | { 164   | < 214 | < 217   | { 186 |
| B     | { 170 | { 182 - | { 164   | < 184 | { 181 | { 183 | 148     | 148   | 121     | < 210 | < 207   | { 196 |
| C     | { 176 | { 176   | { 178   | { 154 | 138   | 141   | 150     | 148   | 151     | < 231 | 52      | 61    |
| D     | { 178 | { 176   | 133     | { 179 | { 177 | 151   | { 161   | { 166 | 61      | 48    | 71      | 64    |
| E     | { 176 | { 174   | < 184   | < 184 | < 187 | < 200 | { 181   | { 167 | { 181   | 67    | < 212 - | 69    |
| F     | { 170 | { 175   | < 186 - | < 185 | { 161 | 145   | { 158 + | { 172 | { 166 + | 51    | 102     | 71    |
| G     | 133   | { 166   | 151     | < 186 | < 187 | { 153 | 106     | < 203 | { 183 - | 69    | < 208   | < 234 |
| H     | { 167 | { 153   | 130     | 149   | 79    | { 173 | 132     | { 173 | { 174   | { 188 | 58      | 70    |

Report Date Şub 03 2016 4:23 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB7-15  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:18 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

Result Species ID: Enterobacter cloacae ss dissolvens  
 Comment  
 Notice

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|-------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | 0.811 | 0.565 | 4.291 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | 0.142 | 0.089 | 5.408 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |
| 3    | 0.026 | 0.014 | 6.509 | GN-Ent        | Enterobacter asburiae              |
| 4    | 0.021 | 0.011 | 6.636 | GN-Ent        | Enterobacter kobei                 |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A     | 91    | { 168 | < 196   | { 188 | < 191 | < 199 | < 202   | 118   | < 200 | < 234 | < 236 | { 209 |
| B     | { 185 | { 140 | { 183   | < 195 | { 180 | < 225 | < 218   | < 219 | 81 +  | < 237 | { 222 | { 194 |
| C     | < 196 | < 195 | < 195   | < 200 | 121   | 104   | { 188 - | < 192 | < 203 | < 233 | { 188 | { 162 |
| D     | < 201 | < 199 | 86      | < 207 | < 191 | < 215 | < 208   | 94    | < 224 | < 249 | < 246 | 76    |
| E     | 82    | < 202 | < 219   | 126   | < 204 | { 186 | { 159 - | 114   | < 210 | < 239 | < 237 | < 253 |
| F     | { 182 | < 213 | < 222 - | < 219 | < 217 | { 176 | < 213   | 95    | < 221 | < 245 | < 371 | < 356 |
| G     | < 207 | < 200 | 97      | < 219 | < 203 | 92    | 95      | < 228 | < 197 | 54    | { 186 | 57    |
| H     | 116   | 92    | { 142   | < 194 | 85    | { 140 | 97      | < 193 | { 165 | { 173 | { 223 | 107   |

Report Date Şub 03 2016 4:23 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB7-17  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:18 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                  |
|---------|----------------------------------|
| Result  | Species ID: Enterobacter cloacae |
| Comment |                                  |
| Notice  |                                  |

| Rank | PROB | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | ---  | 0.528 | 4.765 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | ---  | 0.069 | 6.419 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |
| 3    | ---  | 0.053 | 6.645 | GN-Ent        | Yersinia intermedia                |
| 4    | ---  | 0.050 | 6.701 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 7          |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9     | 10      | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|---------|-------|-------|
| A     | 77    | { 162 | { 183   | { 185 | < 190 | < 198 | < 198   | 106   | < 190 | < 240   | < 232 | { 206 |
| B     | { 179 | 103   | { 183   | < 191 | < 196 | < 230 | < 219   | < 225 | 71 +  | < 232   | { 208 | { 175 |
| C     | < 188 | { 181 | < 195   | < 198 | 101   | 94    | { 175 - | < 191 | < 212 | < 232   | { 213 | 37    |
| D     | < 205 | < 195 | 70      | < 216 | < 188 | < 222 | < 218   | 80    | < 235 | < 250   | < 246 | 54    |
| E     | 73    | < 207 | < 237   | 112   | { 178 | { 174 | { 125 + | 105   | < 218 | < 240   | < 238 | < 250 |
| F     | { 183 | < 227 | < 233 - | < 231 | < 227 | { 160 | < 227   | 79    | < 226 | < 239   | < 363 | < 369 |
| G     | < 209 | { 187 | 91      | < 220 | < 207 | 81    | 74      | < 223 | { 179 | 52      | { 178 | 55    |
| H     | 99    | 78    | { 120   | < 201 | 63    | { 125 | 84      | < 196 | { 151 | { 149 + | { 220 | 63    |

Report Date Şub 03 2016 4:24 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB7-21  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:19 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                                |
|---------|------------------------------------------------|
| Result  | Species ID: Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| Comment |                                                |
| Notice  |                                                |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|-------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | 0.903 | 0.656 | 3.848 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | 0.065 | 0.040 | 5.531 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |
| 3    | 0.023 | 0.013 | 6.202 | GN-Ent        | Enterobacter asburiae              |
| 4    | 0.008 | 0.005 | 6.841 | GN-Ent        | Enterobacter kobei                 |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A     | 77    | { 165 | < 200   | < 201 | < 208 | < 204 | < 203   | { 123 | { 160 | < 236 | < 224 | { 207 |
| B     | { 186 | 120   | < 203   | < 207 | < 212 | < 224 | < 215   | < 225 | 84 +  | < 231 | < 223 | { 160 |
| C     | < 201 | < 203 | < 207   | < 204 | { 135 | 112   | { 179 - | < 191 | < 205 | < 235 | { 221 | { 155 |
| D     | < 195 | < 207 | 86      | < 215 | < 196 | < 220 | < 210   | 90    | < 229 | < 242 | < 246 | 67    |
| E     | 78    | < 199 | < 237   | 118   | < 189 | { 188 | { 157 - | 121   | < 211 | < 229 | < 236 | < 243 |
| F     | { 180 | < 221 | < 227 - | < 225 | < 220 | { 177 | < 227   | 89    | < 228 | < 234 | < 381 | < 349 |
| G     | < 209 | < 193 | 106     | < 222 | < 209 | 90    | 91      | < 227 | < 192 | 66    | { 196 | 63    |
| H     | 88    | 80    | 51      | < 197 | 77    | { 126 | 67      | < 197 | { 147 | { 167 | < 227 | { 130 |

Report Date Şub 03 2016 4:24 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB4-14  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:20 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.15G

|         |                                                |
|---------|------------------------------------------------|
| Result  | Species ID: Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| Comment |                                                |
| Notice  |                                                |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|-------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | 0.906 | 0.644 | 4.101 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | 0.049 | 0.029 | 5.968 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |
| 3    | 0.025 | 0.014 | 6.411 | GN-Ent        | Enterobacter asburiae              |
| 4    | 0.020 | 0.011 | 6.541 | GN-Ent        | Enterobacter kobei                 |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3     | 4       | 5     | 6     | 7     | 8       | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|
| A     | 79    | { 168 | { 184 | < 186   | { 185 | < 186 | < 204 | 116     | < 188 | < 237 | < 232 | { 205 |
| B     | { 174 | 120   | { 177 | < 198   | < 197 | < 228 | < 209 | < 222   | 75 +  | < 226 | { 208 | { 183 |
| C     | < 187 | { 182 | < 196 | < 199   | 108   | 99    | { 176 | - < 186 | < 205 | < 236 | { 223 | 43    |
| D     | < 191 | < 196 | 73    | < 207   | < 198 | < 215 | < 205 | 88      | < 225 | < 241 | < 240 | 62    |
| E     | 80    | < 199 | < 228 | { 123   | < 187 | < 186 | { 152 | 117     | < 210 | < 234 | < 237 | < 240 |
| F     | < 186 | < 218 | < 219 | - < 218 | < 218 | { 171 | < 219 | 87      | < 222 | < 241 | < 393 | < 368 |
| G     | < 203 | < 194 | 103   | < 220   | < 206 | 87    | 82    | < 220   | < 196 | - 47  | { 185 | 46    |
| H     | 97    | 80    | { 131 | < 199   | 70    | { 125 | 83    | < 195   | { 149 | { 171 | { 177 | 68    |

Report Date Şub 03 2016 4:24 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB2-15  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:22 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                                |
|---------|------------------------------------------------|
| Result  | Species ID: Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| Comment |                                                |
| Notice  |                                                |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|-------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | 0.549 | 0.549 | 6.669 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | 0.120 | 0.120 | 7.293 | GN-Ent        | Yersinia intermedia                |
| 3    | 0.119 | 0.119 | 7.304 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 7          |
| 4    | 0.081 | 0.081 | 7.796 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9       | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|---------|-------|-------|-------|
| A     | 76    | { 150 | { 182   | < 187 | < 187 | < 190 | < 200   | 106   | { 181   | < 239 | < 234 | { 200 |
| B     | { 173 | 97    | { 181   | < 191 | < 197 | < 226 | < 213   | < 227 | 68 +    | < 239 | { 214 | { 166 |
| C     | { 181 | { 183 | < 197   | < 205 | 108   | 93    | { 171 - | < 195 | < 209   | < 234 | { 217 | 32    |
| D     | < 202 | < 201 | 68      | < 201 | < 190 | < 220 | < 219   | 80    | < 235   | < 247 | < 240 | 46    |
| E     | 75    | < 205 | < 239   | 95    | { 168 | { 174 | { 121 + | 99    | < 223   | < 235 | < 237 | < 236 |
| F     | { 182 | < 223 | < 235 - | -2 +  | < 223 | { 163 | < 225   | 78    | < 231   | < 240 | < 378 | < 372 |
| G     | < 206 | < 196 | 87      | { 181 | < 208 | 78    | 72      | < 222 | { 175 - | 41    | { 181 | 48    |
| H     | 85    | 77    | { 117   | { 166 | 58    | { 125 | 80      | < 194 | { 141   | 49 +  | { 216 | 63    |

Report Date Şub 03 2016 4:24 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB1-21  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:23 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                 |
|---------|---------------------------------|
| Result  | Species ID: Yersinia intermedia |
| Comment |                                 |
| Notice  |                                 |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                   |
|------|-------|-------|-------|---------------|---------------------------|
| 1    | 0.555 | 0.555 | 6.608 | GN-Ent        | Yersinia intermedia       |
| 2    | 0.154 | 0.154 | 6.801 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 7 |
| 3    | 0.102 | 0.102 | 7.310 | GN-Ent        | Yersinia frederiksenii    |
| 4    | 0.097 | 0.097 | 7.385 | GN-Ent        | Enterobacter asburiae     |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1       | 2     | 3       | 4       | 5     | 6     | 7     | 8       | 9       | 10    | 11      | 12    |
|-------|---------|-------|---------|---------|-------|-------|-------|---------|---------|-------|---------|-------|
| A     | 81      | { 171 | { 179   | { 160   | { 178 | < 185 | < 189 | { 131   | 76      | < 237 | < 227   | 23    |
| B     | 71      | { 124 | 73      | { 176   | { 171 | < 225 | < 219 | < 218   | 78      | < 228 | { 202   | { 140 |
| C     | { 157   | { 177 | < 185   | < 198   | 119   | 100   | < 185 | < 190 - | < 203   | < 229 | { 216 - | 35    |
| D     | < 193   | { 181 | 79      | < 197   | < 191 | < 209 | < 207 | 92      | < 226   | < 238 | < 237   | 57    |
| E     | 79      | < 200 | < 210   | 116     | < 208 | < 189 | { 139 | 118     | < 201   | < 236 | < 238   | < 235 |
| F     | { 181   | < 217 | < 217 - | < 221   | < 217 | { 170 | < 219 | 92      | < 221 - | < 238 | < 376   | < 323 |
| G     | < 208 - | < 196 | 102     | < 219 - | < 206 | 88    | 84    | < 228   | < 200   | 53    | { 178   | 47    |
| H     | 101     | 87    | 117     | < 196 - | 71    | 115   | 82    | < 193   | { 141   | { 170 | < 222   | 53    |

Report Date Şub 03 2016 4:24 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB1-14  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:24 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                                |
|---------|------------------------------------------------|
| Result  | Species ID: Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| Comment |                                                |
| Notice  |                                                |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                            |
|------|-------|-------|-------|---------------|------------------------------------|
| 1    | 0.729 | 0.503 | 4.423 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens |
| 2    | 0.108 | 0.062 | 6.261 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss cloacae    |
| 3    | 0.085 | 0.048 | 6.488 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 7          |
| 4    | 0.077 | 0.043 | 6.580 | GN-Ent        | Yersinia intermedia                |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3       | 4     | 5     | 6     | 7       | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A     | 80    | { 152 | { 188   | < 192 | < 192 | < 194 | < 203   | 106   | < 189 | < 236 | < 233 | { 202 |
| B     | { 183 | 106   | { 184   | < 196 | < 197 | < 230 | < 216   | < 227 | 77 +  | < 230 | { 207 | { 153 |
| C     | < 190 | { 184 | < 196   | < 198 | 102   | 93    | { 175 - | < 195 | < 208 | < 229 | { 214 | 50    |
| D     | < 203 | < 200 | 71      | < 216 | < 191 | < 223 | < 223   | 76    | < 230 | < 243 | < 248 | 59    |
| E     | 75    | < 208 | < 232   | 110   | { 179 | { 181 | { 129 + | 99    | < 211 | < 239 | < 236 | < 254 |
| F     | { 185 | < 228 | < 236 - | < 232 | < 229 | { 170 | < 224   | 80    | < 226 | < 240 | < 385 | < 353 |
| G     | < 211 | < 198 | 89      | < 223 | < 210 | 85    | 75      | < 221 | { 181 | 59    | { 180 | 61    |
| H     | 102   | 80    | 113     | < 204 | 52    | 113   | 71      | < 195 | { 139 | { 146 | { 220 | 77    |

Report Date Şub 03 2016 4:24 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A

İzolat No İB1-15  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015

Date & Time of Read Ara 18 2015 8:25 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                 |
|---------|---------------------------------|
| Result  | Species ID: Pantoea agglomerans |
| Comment |                                 |
| Notice  |                                 |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                   |
|------|-------|-------|-------|---------------|---------------------------|
| 1    | 0.962 | 0.772 | 2.747 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans       |
| 2    | 0.036 | 0.024 | 4.859 | GN-Ent        | Pantoea dispersa          |
| 3    | 0.002 | 0.001 | 6.588 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 3 |
| 4    | 0.000 | 0.000 | 8.577 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 5 |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1     | 2       | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     | 9     | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| A     | 96    | { 143   | < 180 | { 156 | 97    | 101   | { 163 | 113   | 82    | < 235 | < 229 | { 205 |
| B     | 81    | 83      | 106   | { 156 | { 164 | < 191 | 104   | 114   | 80    | < 228 | { 191 | { 134 |
| C     | { 154 | - { 176 | { 171 | { 177 | 82    | { 166 | - 109 | < 202 | < 205 | < 235 | 56    | 33    |
| D     | 105   | { 170   | < 198 | < 199 | < 187 | < 213 | < 205 | 101   | 33    | < 224 | < 234 | 44    |
| E     | 89    | < 200   | < 195 | { 138 | < 213 | < 213 | < 189 | - 89  | < 182 | { 210 | { 201 | < 227 |
| F     | { 174 | < 206   | < 206 | < 226 | < 226 | { 172 | < 221 | { 155 | < 222 | < 231 | < 413 | < 371 |
| G     | 66    | { 162   | 84    | < 203 | 98    | 94    | < 196 | < 210 | < 216 | 43    | 37    | 45    |
| H     | 112   | { 151   | 63    | 71    | 31    | { 140 | 38    | { 158 | { 147 | { 100 | { 113 | 41    |

Report Date Şub 03 2016 4:24 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 24.12.2015-2.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 20.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB8-3  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 24/12/2015  
  
 Date & Time of Read Ara 24 2015 10:37 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                          |
|---------|------------------------------------------|
| Result  | Species ID: Bacillus subtilis/atrophaeus |
| Comment |                                          |
| Notice  |                                          |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                       |
|------|-------|-------|-------|---------------|-------------------------------|
| 1    | 0.575 | 0.575 | 6.277 | GP-Rod-SB     | Bacillus subtilis/atrophaeus  |
| 2    | 0.111 | 0.111 | 7.251 | GP-Rod-SB     | Bacillus subtilis ss subtilis |
| 3    | 0.095 | 0.095 | 7.440 | GP-Rod-SB     | Bacillus megaterium           |
| 4    | 0.086 | 0.086 | 7.562 | GP-Rod-SB     | Bacillus subtilis/mojavensis  |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1     | 2     | 3     | 4       | 5     | 6     | 7     | 8       | 9       | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|---------|---------|-------|-------|-------|
| A     | 137   | { 174 | { 173 | { 177   | { 179 | { 175 | { 178 | { 175   | { 143   | < 210 | < 211 | < 195 |
| B     | { 155 | { 173 | { 158 | < 184   | { 172 | { 178 | { 145 | 122     | 118     | < 206 | { 177 | { 182 |
| C     | { 175 | { 174 | { 178 | { 144   | 118   | 131   | 126   | 139     | 141     | < 223 | 52    | 53    |
| D     | { 156 | { 167 | 135   | { 156   | { 173 | { 148 | { 152 | { 156   | 46      | 43    | 65    | 58    |
| E     | { 167 | { 169 | < 183 | { 169   | < 189 | < 187 | { 172 | { 163   | 40      | 60    | { 187 | 61    |
| F     | { 176 | { 177 | < 184 | - { 178 | { 151 | 128   | { 145 | + { 175 | - { 145 | 44    | 95    | 62    |
| G     | 128   | { 172 | { 148 | < 181   | { 177 | { 156 | 55    | < 197   | < 183   | - 53  | < 193 | < 220 |
| H     | { 157 | 110   | 90    | 130     | 79    | { 149 | 84    | { 173   | - { 176 | - 47  | 45    | 69    |

Report Date Şub 03 2016 4:26 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 24.12.2015-2.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 20.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB8-1  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 24/12/2015  
  
 Date & Time of Read Ara 24 2015 10:36 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

|         |                                                 |
|---------|-------------------------------------------------|
| Result  | Species ID: <i>Bacillus subtilis/atrophaeus</i> |
| Comment |                                                 |
| Notice  |                                                 |

| Rank | PROB  | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                              |
|------|-------|-------|-------|---------------|--------------------------------------|
| 1    | 0.569 | 0.569 | 6.336 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus subtilis/atrophaeus</i>  |
| 2    | 0.136 | 0.136 | 6.793 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus subtilis ss subtilis</i> |
| 3    | 0.107 | 0.107 | 7.079 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus megaterium</i>           |
| 4    | 0.104 | 0.104 | 7.127 | GP-Rod-SB     | <i>Bacillus subtilis/mojavensis</i>  |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1         | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       | 7        | 8        | 9        | 10       | 11    | 12  |
|-------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|-------|-----|
| A     | 157 {     | 180 {   | 179 {   | 178 {   | 183 {   | 180 {   | 183 {    | 175 {    | 171 <    | 206 <    | 214 < | 200 |
| B     | { 168 {   | 183 - { | 173 {   | 178 {   | 182 {   | 182 {   | 169 152  | 121 <    | 214 {    | 191 {    | 196   |     |
| C     | { 178 {   | 180 {   | 182 {   | 168 150 | 155 {   | 158 149 | { 164 <  | 225 45   | 35       |          |       |     |
| D     | { 182 {   | 179 {   | 161 {   | 182 {   | 181 {   | 162 {   | 161 {    | 175 - 37 | 39 48    | 50       |       |     |
| E     | { 177 {   | 180 <   | 190 {   | 187 <   | 192 <   | 195 {   | 181 {    | 158 {    | 179 - 46 | { 187 43 |       |     |
| F     | { 177 {   | 183 {   | 181 - { | 186 {   | 160 147 | 153 + { | 173 153  | 41 87    | 53       |          |       |     |
| G     | 137 {     | 174 {   | 171 <   | 192 {   | 185 {   | 161 83  | < 196 {  | 178 - 44 | < 206 <  | 227      |       |     |
| H     | { 162 151 | 101 143 | 69 {    | 171 140 | { 175 { | 172 68  | { 151 77 |          |          |          |       |     |

Report Date Şub 03 2016 4:26 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A  
  
 İzolat No İB6-39  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015  
  
 Date & Time of Read Ara 18 2015 8:16 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

Result No ID  
 Comment  
 Notice

| Rank | PROB | SIM   | DIST   | Organism Type | Species                                |
|------|------|-------|--------|---------------|----------------------------------------|
| 1    | ---  | 0.112 | 9.749  | GN-Ent        | Serratia proteamaculans                |
| 2    | ---  | 0.102 | 9.870  | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 7              |
| 3    | ---  | 0.083 | 10.129 | GN-Ent        | Enterobacter aerogenes (Kleb. mobilis) |
| 4    | ---  | 0.072 | 10.292 | GN-Ent        | Enterobacter cloacae ss dissolvens     |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

Well Color Values

| Plate | 1     | 2    | 3     | 4     | 5     | 6     | 7       | 8       | 9       | 10    | 11    | 12    |
|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|---------|---------|---------|-------|-------|-------|
| A     | 77    | 22 + | < 192 | < 197 | < 199 | < 194 | < 205   | 106     | { 182 - | < 243 | < 229 | { 208 |
| B     | < 187 | 17   | < 193 | < 198 | < 205 | < 225 | < 211   | < 222   | 80      | < 235 | { 212 | { 176 |
| C     | { 157 | 23 + | < 199 | < 197 | { 115 | 97    | { 167   | < 187 - | < 205   | < 237 | { 197 | 54 +  |
| D     | < 197 | 22 + | 73    | < 200 | < 192 | < 212 | < 215   | 88      | < 225   | < 266 | < 228 | 64    |
| E     | 75    | 25   | < 230 | { 114 | { 177 | < 187 | { 143   | { 113   | < 210   | < 241 | < 238 | < 241 |
| F     | { 184 | 5    | < 227 | < 226 | < 221 | { 159 | < 227 - | 85      | < 230 - | < 240 | < 369 | < 332 |
| G     | < 210 | -2   | 87    | < 214 | < 205 | 87 +  | 76      | < 222   | < 185 - | 52    | { 180 | 57    |
| H     | 93    | 84   | { 122 | < 200 | 65    | { 109 | 83      | < 196   | { 133   | 10    | { 216 | 80    |

Report Date Şub 03 2016 4:26 PM

Program MicroLog 3/5.2.01 33  
 Project ML5  
 File Name 18.12.2015.D5E  
 User biolog  
 Instrument MicroStation 2 Reader  
 Instrument S/N 0  
 Incubation Hours 23.00  
 Plate Number 1  
 Plate Type GEN III  
 Protocol A

İzolat No İB3-20  
 İzole Edilen Yer TOPRAK  
 İzole Eden İDRİS BEKTAŞ  
 Tanımlayan MUSTAFA KÜSEK  
 Tarih 18.12.2015

Date & Time of Read Ara 18 2015 8:21 AM  
 Biolog ID DB Biolog GEN III 2\_6\_1\_08.I5G

Result No ID  
 Comment  
 Notice

| Rank | PROB | SIM   | DIST  | Organism Type | Species                      |
|------|------|-------|-------|---------------|------------------------------|
| 1    | ---  | 0.137 | 7.926 | GN-Ent        | Yersinia intermedia          |
| 2    | ---  | 0.133 | 7.946 | GN-Ent        | Enterobacter nimipressuralis |
| 3    | ---  | 0.109 | 8.203 | GN-Ent        | Pantoea agglomerans bgp 7    |
| 4    | ---  | 0.086 | 8.497 | GN-Ent        | Kluyvera ascorbata           |

Key: <x: positive, x: negative, <x-: mismatched positive, x+: mismatched negative, {x: borderline, -x: less than A1 well

#### Well Color Values

| Plate | 1       | 2     | 3       | 4       | 5     | 6     | 7     | 8     | 9       | 10    | 11      | 12      |
|-------|---------|-------|---------|---------|-------|-------|-------|-------|---------|-------|---------|---------|
| A     | 68      | { 144 | { 166   | { 158   | { 158 | { 176 | < 189 | 83    | 62      | < 234 | < 236   | { 207   |
| B     | { 166   | 79    | { 162   | { 153   | { 158 | < 230 | < 229 | < 227 | 60      | < 229 | { 192   | { 174   |
| C     | { 143   | { 155 | { 162   | < 184   | 60    | 77    | 68 +  | < 182 | < 207   | < 233 | < 225 - | 34      |
| D     | < 181   | { 163 | 54      | < 206   | < 192 | < 220 | < 208 | 76    | < 226   | < 246 | < 241   | { 212   |
| E     | 66      | < 202 | < 233   | 93      | < 179 | { 170 | 98    | 79    | < 213   | < 235 | < 238   | < 255   |
| F     | { 166   | < 226 | < 228 - | < 225   | < 222 | { 143 | < 224 | 71    | < 229 - | < 237 | < 381   | < 367   |
| G     | < 210 - | 14 +  | 80      | < 217 - | < 208 | 73    | 68    | < 224 | { 170   | 44    | { 148   | < 236 - |
| H     | 88      | 73    | { 111   | 65      | 65    | { 108 | 76    | < 198 | { 125   | { 123 | { 206   | 49      |

Report Date Şub 03 2016 4:26 PM