Bitki Koruma Bülteni / Plant Protection Bulletin

http://dergipark.gov.tr/bitkorb

Original article

Biological control of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler's in *in vitro* conditions tomatoes by bacteria

Domateste *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler'in bazı bakteriler ile *in vitro* şartlarda biyolojik mücadelesi

Nasibe TEKİNER[a*], Elif TOZLU[a], Recep KOTAN[a]

[a]*Ataturk University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department, 25240, Erzurum, Turkey*

ARTICLE INFO

Article history:

DOI: 10.16955/bitkorb.550112

Received : 05.04.2019

Accepted : 21.08.2019

Keywords:

Alternaria alternata, Bacillus subtilis, biyoajan bakteri, biyolojik mücadele, *Brevibacillus choshinensis, Pantoea agglomerans*

* Corresponding author: Nasibe TEKİNER

nasibe.tekiner@atauni.edu.tr

ABSTRACT

Fungal diseases cause significant economic losses in fruits in the field and post-harvest. Tomatoes, which are of great importance in terms of human health and economically, are sensitive to fungal diseases due to their rich nutrients and water content. *Alternaria alternata* is defined as one of the most important necrotrophic pathogens in tomato fruit. Biological control method, which is an alternative method to protect fruits and vegetables during storage and shelf life, is utilized due to insufficient controlling and the disadvantages of fungicide use. In this study, a total of 33 bioagent bacteria [*Agrobacterium radiobacter* (A 16), *Bacillus atrophaeus* (TV 15B, FD 1), *Bacillus cereus* (TV 30D and TV 85D), *Bacillus megaterium* (TV 3D, TV 6D, TV 13C, TV 20E, TV 49A, TV 87A, M3, KBA 10), *Bacillus subtilis* (TV 6F, TV12H, TV 13B, TV 17C, OSU 142, TV 16F), *Bacillus pumilus* (TV 67C, TV 73A, IK 39), *Brevibacillus choshinensis* (TV 53D), *Kyluverea cryocrescens* (TV 113C), *Kocuria rosea* (TV 14C), *Paenibacillus macerans* (T 26), *Pantoea agglomerans* (RK 92, RK 84), *Pseudomonas chlororaphis* (IK 37, PM 18), *Pseudomonas flourescens* (FDG 37, TV 11D), *Pseudomonas putida* (TV 42A)] were tested against *A. alternata in in vitro*. According to the results of the dual culture test, the most effective isolate that prevented the development of pathogen fungi was TV 53D (83.33%), followed by RK 84 (79.76%) and TV 6F (78.57%). It is important for the use of three promising bioagent bacteria to be tested against pathogen under different *in vivo* conditions as a biopesticide.

GİRİŞ

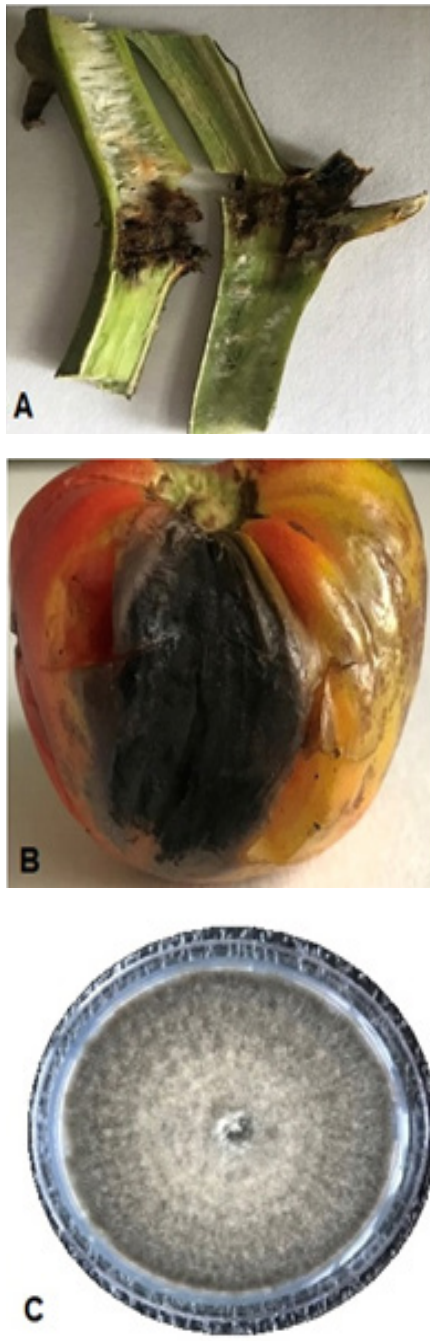
Domates, *Solanaceae* familyasına ait tüm dünyada yetiştiriciliği yapılan çok önemli bir bitkisel ürün olmasının yanında (Tolentino et al. 2011) yüksek besin değeri, antioksidan ve iyileştirici özellikleri (Gondal et al. 2012) nedeniyle patatesten sonra en çok üretimi yapılan sebzedir (Sahu et al. 2013). Ancak, insan beslenmesinde büyük öneme

sahip olan domatesin yüksek miktarda su (%95.3) içeriğine sahip olması (Gondal et al. 2012) bitki patojenlerine karşı hassasiyetini de arttırmaktadır (Nair et al. 2015).

Özellikle bitki patojeni olan fungal hastalık etmenleri insanlar bitki yetiştirmeye başladığından bu yana bitki kayıplarının en önemli nedenlerinden biri olmuştur (Harvey 1978, Pohanka 2006, Tripathi and Dubey 2004). Meyve ve sebzeleri enfekte eden funguslardan *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler'in ise, dünyanın pek çok bölgesinde çok çeşitli tarımsal üründe hastalık oluşturduğu belirlenmiştir (Harteveld et al. 2013, Kwon et al. 2011, Taba et al. 2009, Wang et al. 2010a, 2010b). Bu etmen, domates meyvesinde ekonomik açıdan en önemli nekrotrofik patojenlerden biri olarak tanımlanmaktadır (Troncoso-Rojas and Tiznado-Hernández 2014). Meyve dışında bitkilerin diğer kısımlarından tohum (Szopinska et al. 2012), yaprak (Harteveld et al. 2013) ve gövdeyi (Choi et al. 2010) enfekte etmekte, meyveyi doğrudan etkileyerek ya da dolaylı olarak bitki fotosentezinin fizyolojisini bozarak çiçeklenmeyi (Espinoza-Verduzco et al. 2012) ve tarımsal üretimi azaltmaktadır (Lagopodi and Thanassoulopoulos 1998, Qiang et al. 2010). Bu etmenden kaynaklı kayıpları azaltmak amacıyla pestisit uygulaması, dayanıklı çeşit kullanımı ve ekim rotasyonu gibi farklı mücadele yolları uygulanmakta, pestisit uygulaması ise hala en yaygın mücadele yöntemi olmaya devam etmektedir. Ancak, yoğun pestisit kullanımı patojen direncinin gelişmesine, ürünlerde pestisit kalıntısına, güçlü ve akut toksisite oluşmasına neden olmaktadır. İnsan sağlığına olumsuz yan etkilerinin olması, pestisitlerin doğada uzun süre bozunmadan kalması, tüketicilerin giderek daha fazla pestisit kalıntısı içermeyen gıda talep etmeleri (De Curtis et al. 2010, Harish et al. 2008, Ma et al. 2015, Yang et al. 2015, Wang et al. 2012, 2015) alternatif mücadele yöntemlerine olan ihtiyacın arttığını göstermektedir (Gao et al. 2017, Yan et al. 2014). Meyve ve sebzelerin hasat sonrası bozulmasının önlenmesine ve fungisitlerin kullanımını azaltmaya yönelik mikrobiyal antagonistlerle biyolojik mücadele alternatif mücadele yöntemlerinden biri olarak ortaya çıkmıştır (Ongena and Jacques 2008). Son yıllarda, hasat sonrası hastalıklar için bazı antagonistik mikroorganizmalar *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Trichoderma* spp., *Pichia* spp. ve *Candida* spp. gibi biyolojik mücadele ajanı olarak tanımlanmıştır (Liu et al. 2013, Talibi et al. 2014). Bu çalışmadaki amaç 33 adet bakteriyel biyolojik mücadele ajanının depo koşullarında da domateste ürün kaybına neden olan *A. alternata*'ya karşı *in vitro*'da test edilerek etkililik durumlarının belirlenmesidir.

MATERYAL VE METOT

Erzurum, Tortum ilçesinde araziden alınan hastalıklı domates (*Solanum lycopersicum* L.) bitkisi üzerinden izole edilen patojen fungus saflaştırılmış, patojenisite testi, moleküler tanısı yapılmış ve Potato Dextrose Agar (Difco, PDA) besiyerinde 4 °C'de Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Bitki Klinik Laboratuvarında muhafaza edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. İzolasyon yapılan örnekler (A: Gövde, B: Meyve) ve izole edilen fungusun petri görünümü (C)

Biyolojik mücadele ajanı bakteri olarak ise, daha önce yapılan biyolojik mücadele çalışmalarında farklı hastalık etmenlerine etkili olduğu belirlenen izolatlar kullanılmıştır (Çizelge 1).

Patojenisite testi

Alternaria alternata'nın patojenisitesi domates meyvesi üzerinde test edilmiştir. Domatesler, musluk suyu altında yıkanarak steril kabin içerisinde %70 etil alkol ile yüzeysel sterilizasyona tabi tutulmuştur. Daha önceden PDA besi ortamında 7 gün boyunca geliştirilmiş olan fungustan 6 mm miseliyal disk meyve üzerine yara açmak suretiyle uygulanmıştır ve yara yüzeyinin etrafı parafilm ile sarılarak tabanına steril nemli kurutma kağıdı serilen plastik kutulara (7 l) yerleştirilmiş, oda sıcaklığında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamda 5 gün boyunca fungusun gelişimi izlenmiştir. Kontrol uygulamasında ise; steril PDA diski yara yerine yerleştirilmiş ve parafilm ile sarılmıştır. Çalışma tesadüf

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan antagonistik bakteriler ve referansları

Sıra	İzolat	MIS Tanı	Referans
1	A 16	*Agrobacterium radiobacter*	Mohammadi et al. 2016
2	TV 15B	*Bacillus atrophaeus*	Aktaş 2015
3	FD 1	*Bacillus atrophaeus*	Tozlu et al. 2011
4	TV 30D	*Bacillus cereus*	Aktaş 2015
5	TV 85D	*Bacillus cereus*	Erman et al. 2010
6	TV 3D	*Bacillus megaterium*	Ekinci et al. 2014
7	TV 6D	*Bacillus megaterium*	Erman et al. 2010
8	TV 13C	*Bacillus megaterium*	Erman et al. 2010
9	TV 20E	*Bacillus megaterium*	Aktaş 2015
10	TV 49A	*Bacillus megaterium*	Bu çalışmada
11	TV 87A	*Bacillus megaterium*	Erman et al. 2010
12	M3	*Bacillus megaterium*	Kotan et al. 2009
13	KBA 10	*Bacillus megaterium*	Karagöz ve Kotan 2010
14	TV 6F	*Bacillus subtilis*	Erman et al. 2010
15	TV12H	*Bacillus subtilis*	Aktaş 2015
16	TV 13B	*Bacillus subtilis*	Erman et al. 2010
17	TV 17C	*Bacillus subtilis*	Ekinci et al. 2014
18	OSU 142	*Bacillus subtilis*	Karakurt et al. 2011
19	TV 16F	*Bacillus subtilis*	Erman et al. 2010
20	TV 67C	*Bacillus pumilus*	Erman et al. 2010
21	TV 73A	*Bacillus pumilus*	Erman et al. 2010
22	IK 39	*Bacillus pumilus*	Dadaşoğlu ve Şahin 2010
23	TV 53D	*Brevibacillus choshinensis*	Erman et al. 2010
24	TV 113C	*Kluyvera cryocrescens*	Bu çalışmada
25	TV 14C	*Kocuria rosea*	Bu çalışmada
26	T 26	*Paenibacillus macerans*	Bu çalışmada
27	RK 92	*Pantoea agglomerans*	Ekinci et al. 2015
28	RK 84	*Pantoea agglomerans*	Ekinci et al. 2015
29	IK 37	*Pseudomonas chlororaphis*	Dadaşoğlu ve Şahin 2010
30	PM 18	*Pseudomonas chlororaphis*	Mohammadi 2018
31	FDG 37	*Pseudomonas fluorescens*	Güneş et al. 2015
32	TV 11D	*Pseudomonas flourescens*	Erman et al. 2010
33	TV 42A	*Pseudomonas putida*	Erman et al. 2010

*MIS: Mikrobiyal Tanı Sistemi

parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Meyve yüzeyindeki bozulma ve misel gelişimi pozitif olarak değerlendirilmiş ve bu bölgelerden reizolasyon yapılarak Koch postulatları tamamlanmıştır.

Fungusun moleküler tanılanması

Patojen fungusun tür düzeyinde tanısını yapmak için moleküler olarak teşhisi yapılmıştır. Moeller et al. (1992) tarafından hazırlanan protokol kullanılarak patojenin misellerinden genomik DNA'sı izole edilmiştir. Patojen fungusun rDNA'sı kullanılarak ITS bölgesi ITS1-ITS4 primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır. Amplifiye edilmiş PCR ürünü sekans için Refgen Co. Ltd.'e gönderilerek sekans sonucu Genbank'ta depolanmıştır.

Biyoajan bakterilerin mikrobiyal identifikasyon sistem (MIS) ile tanılanması

İlk kez bu çalışmada kullanılan 4 adet biyoajan bakterinin Paisley (1995)'e göre yağ asit metil esterleri (MIDI, Inc., Newark, DE, version 5.5) izole edilmiş ve tanıları yapılmıştır. İzolatların analizi üçer kez tekrar edilmiş ve yüzde olarak en yüksek tanı sonucu kesin sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Bakteriyel biyokontrol ajanların tütünde aşırı duyarlılık testi (HR)

Çalışmada ilk kez kullanılan biyoajan bakterilerin tütünde aşırı duyarlılık testi 5-6 haftalık *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun çeşidinin taze yaprakları üzerinde yapılmıştır. Nutrient Agar (NA, Merck) besiyerinde 24-48 saat gelişen bakteri kültürleri ile hazırlanan süspansiyon (10^8 kob/ml) steril bir enjektör ile alınarak, tütün yaprağının iki yan damar arasına enjekte edilmiştir. 24-48 saat sonucu tütün yaprağında belirti oluşturmayanlar negatif, oluşturanlar ise pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement 1968).

In vitro denemeler

İkili kültür testlerinde 20 ml PDA içeren petri kapları (90 mm) kullanılmış, biyoajan bakteri izolatları Nutrient Agar (NA)'da 24 saat, patojen fungus izolatı ise PDA'da 7 gün geliştirilmiştir. Daha sonra PDA içeren petri kaplarının etrafına steril çubuk ile biyoajan bakteri kültürü çizilmiş, petri kabının orta kısmına ise 6 mm fungal disk yerleştirilmiştir. Petri kapları parafilm ile sarılmış ve 27 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak ise petri kabının ortasına patojen fungus misel diski yerleştirilmiştir. Kontrol petrisinde, patojen fungus petri kabının tüm yüzeyini kapladığında fungusun radyal gelişimi mm olarak ölçülerek kaydedilmiştir. Çalışma, tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve her bir uygulama için 3'er petri kullanılmıştır. Patojen fungus kolonisinin gelişiminin yüzde engellenme oranı (YEO) Mari et al. (1993)'ın belirttiği radyal gelişmenin engelleme yüzdesi formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

Yüzde engelleme oranı (%) = (C−T)×100/(C−6)

C: Kontrol petrisi patojenin çapı

T: Bakteri uygulamasında patojenin koloni çapı

6: Patojen disk çapı

İstatistiki analiz

Elde edilen değerlere, JMP 5.0.1 istatistik yazılımı kullanılarak, istatistik analizi yapılmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar LS Means Student testine göre $P<0.01$ önem seviyesinde karşılaştırılmıştır.

SONUÇLAR

Domates meyvesinden izole edilen fungusun patojenitesi yapılmış ve sonuç pozitif çıkmıştır (Şekil 2).

Moleküler tanılama sonuçlarına göre patojen fungus izolatı *Alternaria alternata* (592 bp) olarak %99.47 benzerlik indeksi ile tanılanmış ve sekans tablosu Çizelge 2'de verilmiştir. Moleküler sekans sonucu GenBank'a yüklenmiş ve MK752741 erişim numarası verilmiştir. *A. alternata* izolatına ET 90 kodu verilerek fungus kültür koleksiyonuna eklenmiştir.

Bu çalışmada ilk kez denenmiş olan antagonistik bakteri izolatlarına ait bilgiler ve HR test sonucu Çizelge 3 'te verilmiştir. Bütün biyoajan bakteri HR test sonuçları negatif olmuştur.

İkili kültür testlerinde ET 90 izolatına karşı test edilen antagonistik bakterilerin antifungal aktivitelerinin sonucu Çizelge 4'de, antagonistik bakterilere ait petri görünümleri ise Şekil 3'de verilmiştir. Bütün bakteriler farklı düzeylerde ET 90 patojen izolatının gelişimini engellemişlerdir.



Şekil 2. Domates meyvesinde yapılan patojenite testi

Çizelge 2. *Alternaria alternata* ET 90 izolatının sekansı

1	CGAAATGTATCTTTGTCTACCGTAGGTGACCTGCGGAGGGATCATTACACAAATATGAA
61	GGCGGGCTGGAACCTCTCGGGGTTACAGCCTTGCTGAATTATTCACCCTTGTCTTTTGCG
121	TACTTCTTGTTTCCTTGGTGGGTTCGCCCACCACTAGGACAAACATAAACCTTTTGTAAT
181	TGCAATCAGCGTCAGTAACAAATTAATAATTACAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTC
241	TGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGT
301	GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTT
361	CGAGCGTCATTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGCGTCTTGTCTCTAGCTTTGCT
421	GGAGACTCGCCTTAAAGTAATTGGCAGCCGGCCTACTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAGT
481	CGCACTCTCTATCAGCAAAGGTCTAGCATCCATTAAGCCTTTTTTTCAACTTTTGACCTC
541	GGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATTAAGGGCGGGAGGGAA

Çizelge 3. Antagonistik bakterilerin MIS tanılama ve aşırı duyarlılık test sonuçları

Sıra	İzolat	Konukçu	*MIS tanısı	**SIM	HR
1	TV 49A	Buğday	*Bacillus megaterium*	0.577	-
2	TV 113C	*Allium* sp.	*Kluyvera cryocrescens*	0.688	-
3	TV 14C	Çilek	*Kocuria rosea*	0.695	-
4	T 26	Buğday	*Paenibacillus macerans*	0.665	-

*MIS: Mikrobiyal Tanı Sistemi, **SIM: Benzerlik indeksi, –: Negatif reaksiyon

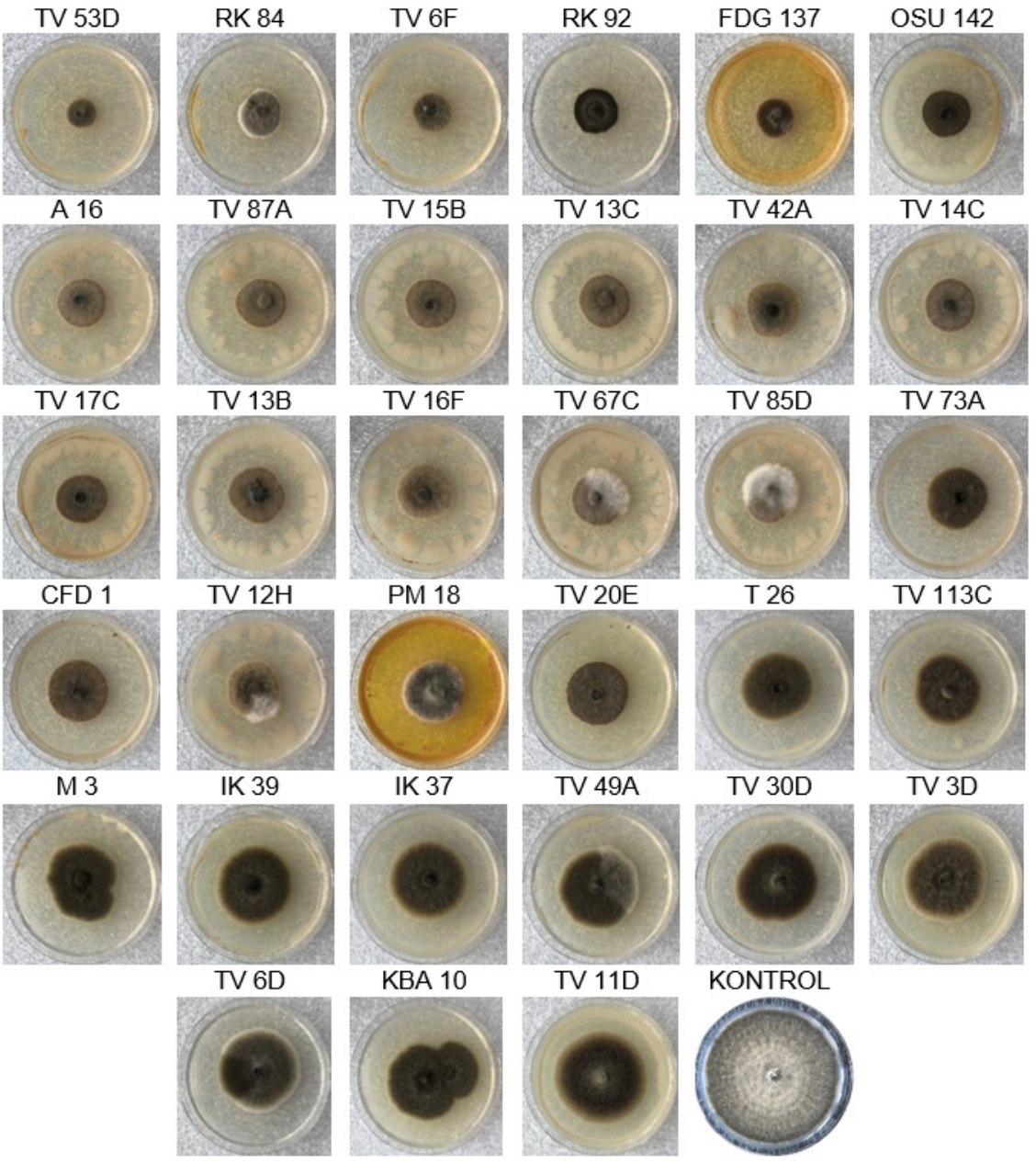
Çizelge 4. *Alternaria alternata*'nın ET 90 izolatına karşı test edilen antagonistik bakterilerin yüzde engelleme oranları

Sıra	İzolat		Yüzde Engelleme oranı (%)*	
1	TV 53D	*Brevibacillus choshinensis*	83.33	A
2	RK 84	*Pantoea agglomerans*	79.76	B
3	TV 6F	*Bacillus subtilis*	78.57	BC
4	RK 92	*Pantoea agglomerans*	76.79	BCD
5	FDG 37	*Pseudomonas fluorescens*	75.60	CD
6	OSU 142	*Bacillus subtilis*	75.00	D
7	A 16	*Agrobacterium radiobacter*	70.24	E
8	TV 87A	*Bacillus megaterium*	69.05	EF
9	TV 15B	*Bacillus atrophaeus*	68.45	EF
10	TV 13C	*Bacillus subtilis*	67.86	EFG
11	TV 42A	*Pseudomonas putida*	67.26	EFGH
12	TV 14C	*Kocuria rosea*	67.26	EFGH
13	TV 17C	*Bacillus subtilis*	66.67	FGHI
14	TV 13B	*Bacillus subtilis*	66.07	FGHIJ
15	TV 16F	*Bacillus subtilis*	66.07	FGHIJ
16	TV 67C	*Bacillus pumilus*	66.07	FGHIJ
17	TV 85D	*Bacillus cereus*	64.29	HIJK
18	TV 73A	*Bacillus pumilus*	64.29	HIJK
19	FD 1	*Bacillus atrophaeus*	63.10	JK
20	TV12H	*Bacillus subtilis*	63.09	JK
21	PM 18	*Pseudomonas chlororaphis*	62.50	K
22	TV 20E	*Bacillus megaterium*	62.50	K
23	T 26	*Paenibacillus macerans*	51.78	L
24	TV 113C	*Kluyvera cryocrescens*	51.78	L
25	M 3	*Bacillus megaterium*	50.60	LM
26	IK 39	*Bacillus pumilus*	47.62	MN
27	IK 37	*Pseudomonas chlororaphis*	46.43	NO
28	TV 49A	*Bacillus megaterium*	45.24	NO
29	TV 30D	*Bacillus cereus*	44.05	O
30	TV 3D	*Bacillus megaterium*	44.05	O
31	TV 6D	*Bacillus megaterium*	44.05	O
32	KBA 10	*Bacillus megaterium*	39.29	P
33	TV 11D	*Pseudomonas flourescens*	34.52	Q
34	ET 90	*Aternaria alternata*	0.0	S
		CV= 3.19		
		LSD= 3.05		

*Aynı sütunda benzer harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur ($p<0.01$).

Antagonistik bakteri izolatlarının yüzde engelleme oranları %34.52 ile %83.33 arasında değişmiştir. En yüksek yüzde engelleme oranı TV 53D (%83.33) izolatında gözlenirken, bu izolatı RK 84 (%79.76) ve TV 6F (%78.57) izolatları takip etmiştir. En düşük inhibisyon oranı TV 11D (%34.52)'den elde edilmiştir (Çizelge 4). Bu çalışmada ilk kez kullanılan 4 bakteri izolatının etkililiklerinin sırasıyla %45.24 (TV 49A), %51.78 (T 26, TV 113C) ve 67.26 (TV 14C) olduğu belirlenmiştir. Sadece patojen izolat ET 90'nın uygulandığı kontrolde yüzde engelleme oranı diğer tüm test edilen bakterilerden istatistiki olarak ($p<0.01$) farklı bulunmuştur.

Bu çalışmada da biyolojik mücadele ajanı olarak 1 adet *A. radiobacter*, 2 adet *B. atrophaeus*, 2 adet *B. cereus*, 8 adet *B. megaterium*, 5 *adet B. subtilis*, 3 adet *B. pumilus*, 1 adet *B. choshinensis*, 1 adet *K. cryocrescens*, 1 adet *K. rosea*, 1 adet *P. macerans*, 1 adet *P. agglomerans*, 2 adet *P. chlororaphis*, 2 adet *P. flourescens*, 1 adet *P. putida* kullanılmış ve bu biyoajanlar farklı oranlarda patojen fungusun gelişimini engellemişlerdir (Şekil 3). Yapılan çalışmada test edilen bakterilerden *Brevibacillus*, *Bacillus*, *Pantoea* cinlerine ait olan izolatların patojenin gelişimini diğer bakteri cinslerine ait izolatlara göre daha fazla engellediği belirlenmiştir.



Şekil 3. *In vitro*'da antagonistik bakterilerin patojen fungusa karşı etkililikleri

TARTIŞMA VE KANI

Meyve ve sebzelerde fungal etmenlerden kaynaklı enfeksiyonlar yetişme sezonu süresine ek olarak, hasat zamanı, ürünlerin taşınması, hasat sonrası depolama ve pazarlama koşullarında veya tüketici tarafından satın alındıktan sonra ortaya çıkabilmektedir. Meyvelerin yüksek seviyede şeker ve besin elementleri içermesi ve düşük pH değerine sahip olmaları da fungal çürümelere karşı meyveyi daha duyarlı hale getirmektedir (Troncoso-Rojas and Tiznado-Hernández 2014).

Biyolojik mücadele, meyve ve sebzeleri fungal patojenlerin bulaşmasından korumak ve patojenlerden kaynaklı hastalıkları baskı altına almak için kullanılan pestisitlere alternatif olarak kabul edilen bir mücadele yöntemidir (Janisiewicz and Korsten 2002, Spadaro and Gullino 2004, Wilson et al. 1991). Biyolojik mücadele amacıyla kullanılan mikroorganizmalar, antibiyosis, hidrolitik enzim üretimi, parazitizm, uyarılmış dayanıklılık, besin ve alan için rekabet olmak üzere çeşitli mekanizmalar ile bitki patojenlerinin neden olduğu kayıpları azaltmaktadırlar (Kotan et al. 2009).

Bu amaçla *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Brevibacillus* cinslerine ait birçok bakteri izolatı başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. *Bacillus* türleri, doğada her yerde bulunabilen, hızlı kolonize olan ve spor oluşturan, bu açıdan da diğer mikroorganizmalara karşı üstün yetenekleri ile tanınan umut verici biyolojik mücadele ajanlardır. (Arrebola et al. 2010, Romero et al. 2007). Ayrıca hızlı kolonize olmaları ve uyum yeteneklerinin yüksek olması da biyolojik mücadele uygulamalarında başarılı olma şanslarını arttırmaktadır. Çalışmada kullanılan *Bacillus* cinsine ait izolatların diğer cinslere ait izolatlara göre fungal izolatın gelişimini engellemedeki başarılarının hızlı kolonize olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. TV 6F (*B. subtilis*) izolatının *in vitro* koşullarda patojenin gelişimini %78.57 oranında engellediği belirlenmiştir. Diğer *B. subtilis* izolatları ise farklı düzeyde [OSU 142 (%75), TV 17C (%66.67), TV 13B ve TV 16F (%66.07), TV 12H (%63.09)] etkili olmuşlardır. Kotan et al. (2009), *B. substilis*'i *Aspergillus flavus*'a, Zhang and Dou (2002) ise *Penicillium expansum*'a karşı test etmişler ve bu türün patojenlerin gelişimini engellediğini ortaya koymuşlardır. Yapılan bu çalışmada da *in vitro* şartlarda *B. substilis*'in *A. alternata*'nın gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Aynı şekilde farklı araştırmacılar da türün iyi bir biyoajan olabileceğini belirtmişlerdir (Jiang et al. 2001, Yang et al. 2006, Wang et al. 2010a, Zhao et al. 2011).

Diğer bir önemli biyoajan olan *P. agglomerans* ise geniş bir konukçu çevresine sahip, farklı çevre koşullarına adaptasyon yeteneği yüksek ve çok yönlü özelliklere sahip bir bakteridir (Nadarasah et al. 2014, Völksch et al. 2009, Walterson and Stavrinides 2015). Bu türün de birçok bakteri ve fungal hastalığa karşı biyoajan olarak kullanıldığı yapılan araştırmalarda kaydedilmiş, antibiotik ve enzim üreterek, lokal/sistemik dayanıklılığı aktifleştirerek ve diğer mekanizmaları kullanarak patojenlerin gelişimini engellediği de bildirilmiştir (Dutkiewicz et al. 2016). Elmada *Penicillium expansum*'a karşı kullanılan *P. agglomerans* (CPA2) izolatı, kimyasal ilaç kullanımını azaltacak bir biyoajan olarak belirlenmiştir (Morales et al. 2008). Bunun dışında en iyi bilinen ticari preparatlardan E325, P10c suşları *Erwinia amylovora*'ya karşı kullanılmış ve hastalığı önlemedeki başarısının patojenin aminoasit sentezini engelleyen antibiyotiklerin üretilmesinden (Smith et al. 2013) ve rekabet yeteneklerinin patojenlerden daha iyi olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Pusey et al. 2011, Sammer et al. 2012). *P. agglomerans* izolatlarının önemli kitinolitik enzim üreten bakteriler olduğu ve hasat sonrası fungal hastalıkların kontrolünde önemli rol oynadığı, bunun da fungus hücre duvarının ana maddesi olan kitinin yapısını bozarak gerçekleştirdiği ortaya konulmuştur. Zhang et al. (2014), *A. alternata*'ya; Kotan et al. (2009), *Aspergillus flavus*'a karşı *P. agglomerans*'ın farklı izolatlarını kullanmışlar ve hastalığın önlenmesinin kitinolitik enzim üretimiyle ilişkili olabileceğini ortaya koymuşlardır. *P. agglomerans* suşları tarafından üretilen antibiyotik benzeri pirrolnitrin ve herbicolin gibi maddelerin, *Botrytis cinerea* (Chernin et al. 1996) ve *Fusarium culmorum* (Kempf et al. 1993) gibi funguslara karşı fungisit benzeri bir etkiye sahip olduğu da belirlenmiştir.

Çalışmada *Brevibacillus* cinsine ait TV 53D (*B. choshinensis*) izolatı en etkili sonuç veren izolat olmuş ve bu etkinin çeşitli metabolitler üretmesinden kaynaklandığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Hassi et al. 2012, Sunita et al. 2010).

Çalışma sonuçlarına göre en etkili olan 3 izolat dışındaki diğer izolatların da patojenin gelişimini engellemede az veya çok etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ilk kez kullanılan biyoajanların ise *in vitro*'da farklı yüzde engelleme oranına sahip oldukları ve en düşük oranın ise %45.24 olduğu belirlenmiştir. Yine bu çalışmada kullanılan ve %70.24 oranında patojen fungusun gelişimini engellediği belirlenen A 16 bakteri izolatının, daha önce yapılan bir çalışmada da *Penicillium digitatum*'un gelişimini hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda engellediği kaydedilmiştir (Mohammadi et al. 2016). Bu da biyoajanların geniş konukçu çevresine sahip olabildiklerini ve birden fazla farklı patojenin gelişimini farklı oranlarda kontrol edebildiklerini göstermektedir. Etkililik düzeylerinde görülen farklılıkların ise biyoajanın rekabet yeteneğinden ve farklı patojenlerde farklı hızda kolonize

olmasından kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir. Bu zamana kadar hasat sonrası hastalıkları kontrol etmek amacıyla biyoajan bakterilerin belirlendiği birçok çalışma başarıyla uygulanmıştır (Kishore et al. 2006, Plaza et al. 2004, Poppe et al. 2003, Teixidó et al. 2001).

Yapılan bu çalışmada, üç biyoajan bakteri izolatından *B. choshinensis* (TV 53D), *P. agglomerans* (RK84) ve *B. subtilis* (TV 6F) domates meyvesinde *A. alternata*'ya karşı en etkili sonucu vermiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda bu biyoajanların çalışma mekanizmalarının belirlenmesi, ekonomik kayıp meydana getiren diğer patojenlere karşı etki durumlarının ortaya konulması ve *A. alternata* etmenine karşı depo koşullarında uygulamalarının yapılarak, biyolojik preparat haline getirilebilmesi konusunda çalışmalara yoğunluk verilmesi büyük önem arz etmektedir.

ÖZET

Fungal hastalıklar tarlada ve hasat sonrası meyvelerde önemli ekonomik kayıplara neden olur. İnsan sağlığı açısından ve ekonomik anlamda büyük öneme sahip olan domates, zengin besin maddesi ve su içeriğinden dolayı fungal hastalıklara karşı hassas bir üründür. *Alternaria alternata*'da, domates meyvesinde ekonomik açıdan en önemli nekrotrofik patojenlerden biri olarak tanımlanmıştır. Etmen ile mücadelede yetersiz kalındığından ve fungisit kullanımının dezavantajlarından dolayı depolama ve raf ömrü sırasında meyve ve sebzeleri korumak için alternatif yöntem olan biyolojik mücadele yönteminden faydalanılmaktadır. Bu çalışmada da toplamda 33 adet biyoajan bakteri [*Agrobacterium radiobacter* (A 16), *Bacillus atrophaeus* (TV 15B, FD 1), *Bacillus cereus* (TV 30D, TV 85D), *Bacillus megaterium* (TV 3D, TV 6D, TV 13C, TV 20E, TV 49A, TV 87A, M3, KBA 10), *Bacillus subtilis* (TV 6F, TV12 H, TV 13B, TV 17C, OSU 142, TV 16F), *Bacillus pumilus* (TV 67C, TV 73A, IK 39), *Brevibacillus choshinensis* (TV 53D), *Kyluverea cryocrescens* (TV 113C), *Kocuria rosea* (TV 14C), *Paenibacllus macerans* (T 26), *Pantoea agglomerans* (RK 92, RK 84), *Pseudomonas chlororaphis* (IK 37, PM 18), *Pseudomonas flourescens* (FDG 37, TV 11D), *Pseudomonas putida* (TV 42A)] A. *alternata*'ya karşı *in vitro*'da test edilmiştir. İkili kültür test sonucuna göre patojen fungusun gelişimini engelleyen en etkili izolat TV 53D (%83.33) olurken, onu sırasıyla RK 84 (%79.76) ve TV 6F (%78.57) takip etmiştir. Etkili olan 3 ümitvar biyoajan bakterinin farklı çevre koşullarında *in vivo* şartlarda patojene karşı test edilmesi biyopestisit olarak kullanılabilirliğinin belirlenmesi açısından önemlidir.

Anahtar kelimeler: *Alternaria alternata, Bacillus subtilis,* biyoajan bakteri, biyolojik mücadele, *Brevibacillus choshinensis, Pantoea agglomerans*

KAYNAKLAR

Aktaş S., 2015. Domates öz nekrozuna neden olan etmenlere karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Yakutiye, Erzurum, 73 s.

Arrebola E., Jacobs R., Korsten L., 2010. Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. Journal of Applied Microbioliology, 108, 386-395.

Chernin L., Brandis A., Ismailov Z., Chet I., 1996. Pyrrolnitrin production by an *Enterobacter agglomerans* strain with a broad spectrum of antagonistic activity towards fungal and bacterial phytopathogens. Current Microbiology, 32, 208-212.

Choi M.O., Kim S.G., Hyun I.H., 2010. First report of black spot caused by *Alternaria alternata* on grafted cactus. Plant Pathology Journal, 26, 80-82.

Dadaşoğlu F., Şahin F., 2010. Bakterilerin Yüzük kelebeği *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera: Lasiocampidae)'nın biyolojik mücadelesinde kullanımı. Journal of Agricultural Faculty of Atatürk University, 41 (2), 97-104.

De Curtis F., Lima G., Vitullo D., De Cicco V., 2010. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* on tomato by delivering antagonistic bacteria through a drip irrigation system. Crop Protection, 29, 663-670.

Dutkiewicz J., Mackiewicz B., Lemieszek K.M., Golec M., Milanowski J., 2016. *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 23 (2), 206-222.

Ekinci M., Turan M., Yıldırım E., Güneş A., Kotan R., Dursun A., 2014. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrient, organic acid, amino acid and hormone content of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) transplants. Acta Scientiarum Polonorum, 13 (6), 71-85.

Ekinci M., Yıldırım E., Kotan R., 2015. Effects of different plant growth promoting rhizobacteria on growth and quality of broccoli (*Brassica oleraceae* L. var. *italica*) seedling. Akdeniz University Journal of Agriculture, 28 (2), 53-59.

Erman M., Kotan R., Çakmakçı R., Çığ F., Karagöz K., Sezen M., 2010. Effect of nitrogen fixing and phosphate-solubilizing rhizobacteria isolated from Van Lake Basin on the growth and quality properties in wheat and sugar beet. Turkey IV. Organic Farming Symposium, 28 June - 1 July 2010, Erzurum, Turkey, 325-329 p.

Espinoza-Verduzco M.D.A., Santos-Cervantes M.E., Fernandez-Herrera E., 2012. First report of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler causing inflorescence blight in *Jatropha curcas* in Sinaloa, Mexico. Canadian Journal of Plant Pathology, 34, 455-458.

Gao Z., Zhang B., Liu H., Han J., Zhang Y., 2017. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. Biological Control, 105, 27-39.

Gondal A.S., Ljaz M., Riaz K., Khan A.R., 2012. Effect of different doses of fungicide (mancozeb) against Alternaria leaf blight of tomato in tunnel. Plant Pathology and Microbiology, 3 (3), 1-3.

Güneş A., Karagöz K., Turan M., Kotan R., Yıldırım E., Çakmakçı R., Şahin F., 2015. Fertilizer effiency of some plant growth promoting rhizobacteria for plant growth. Research Journal of Soil Biology, 7 (2), 28-45.

Harish S., Kavino M., Kumar N., Saravanakumar D., Soorianathasundaram K., Samiyappan R., 2008. Biohardening with plant growth promoting rhizosphere and endophytic bacteria induces systemic resistance against Banana bunchy top virus. Applied and Soil Ecology, 39, 187-200.

Harteveld D.O.C., Akinsanmi O.A., Drenth A., 2013. Multiple *Alternaria* species groups are associated with leaf blotch and fruit spot diseases of apple in Australia. Plant Pathology, 62, 289-297.

Harvey J.M., 1978. Reduction of losses in fresh market fruits and vegetables. Annual Review of Phytopathology, 16, 321-341.

Hassi M., Guendouzi S.E., Haggoud A., David S., Ibnsouda S., Houari A., Iraqui M., 2012. Antimycobacterial activity of a *Brevibacillus laterosporus* strain isolated from a Moroccan soil. Brazilian Journal of Microbiology, 43 (4), 1516-1522.

Janisiewicz W.J., Korsten L., 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Annual Review of Phytopathology, 40, 411-441.

Jiang Y.M., Zhu X.R., Li Y.B., 2001. Postharvest control of litchi fruit rot by *Bacillus subtilis*. Lebensmittel Wissenschaft Technology, 34, 430-436.

Karagöz K., Kotan R., 2010 Bitki gelişimini teşvik eden bazı bakterilerin marulun gelişimi ve bakteriyel yaprak lekesi hastalığı üzerine etkileri. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergİsi, 1 (2), 165-179.

Karakurt H., Kotan R., Dadaşoğlu F., Aslantaş R., Şahin F., 2011. Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set pomological and chemical characteristics color values and vegetative growth of sour cherry *Prunus cerasus* cv. Kutahya. Turkish Journal of Biology, 35, 283-291.

Kempf H.J., Bauer P.H., Schroth M.N., 1993. Herbicolin A associated with crown and roots of wheat after seed treatment with *Erwinia herbicola* B247. Phytopathology, 83, 213-216.

Kishore G.K., Pande S., Rodile A.R., 2006. *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergillus niger* and activates defence-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. Australasian Plant Pathology, 35 (2), 259-263.

Klement Z., 1968. Pathogenicity factors in reard to relationships of phytopathogenic bacteria. Phytopathology, 58, 1218-1222.

Kotan R., Dikbas N., Bostan H., 2009. Biological control of post harvest disease caused by *Aspergillus flavus* on stored lemon fruits. African Journal of Biotechnology, 8 (2), 209-214.

Kotan R., Şahin F., Demirci E., Eken C., 2011. Biological control of the potato tubers dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. Biological Control, 59 (3), 194-198.

Kwon J.H., Cheon M.G., Kim J., Kwack Y.B., 2011. Black rot of kiwifruit caused by *Alternaria alternata* in Korea. Plant Pathology Journal, 27, 298–298.

Lagopodi A.L., Thanassoulopoulos C.C., 1998. Effect of a leaf spot disease caused by *Alternaria alternata* on yield of sunflower in Greece. Plant Disease, 82, 41-44.

Liu J., Sui Y., Wisniewski M., Droby S., Liu Y., 2013. Review: utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. International Journal of Food Microbiology, 167, 153-160.

Ma X., Wang X., Cheng J., Nie X., Yu X., Zhao Y., Wang W., 2015. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* B99-2 and its biocontrol efficiency against *Rhizoctonia solani* in tomato. Biological Control, 90, 34-41.

Mari M., Lori R., Leoni O., Marchi A., 1993. *In vitro* activitiy of glucosinolate-derived isothiocyanates against postharvest fruit pathogens. Annals of Applied Biology, 123, 155-164.

Moller E.M., Bahnweg G., Sandermann H., Geiger H.H., 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies and infected plant tissues. Nucleic Acids Research, 20 (22), 6115-6116.

Mohammadi P., Tozlu E., Kotan R., Şenol K.M., 2016. Potential of some bacteria for biological control of postharvest

citrus green mould caused by *Penicillium digitatum*. Plant Protection Science, 53 (3), 1-10.

Mohammadi P., 2018. Domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.)'nin biyoajan bakteriler kullanılarak mücadele imkanlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Yakutiye Erzurum, 112 s.

Morales H., Sanchis V., Usall J., Ramos J.A., Marín S., 2008. Effect of biocontrol agents *Candida sake* and *Pantoea agglomerans* on *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation in apples. International Journal of Food Microbiology, 122, 61-67.

Nadarasah G., Stavrinides J., 2014. Quantitative evaluation of the host colonizing capabilities of the enteric bacterium *Pantoea* using plant and insect hosts. Microbiology, 160, 602-615.

Nair A., Kolet S.P., Thulasiram H.V., Bhargava S., 2015. Systemic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternata*. Plant Biology, 17 (3), 625-631.

Ongena M., Jacques P., 2008. Bacillus lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. Trends in Microbiology, 16 (3), 115-125.

Paisley R., 1995. MIS whole cell fatty acid analysis by gas chromatography. MIDI, Inc., Newark, DE, 5.

Plaza P., Usall J., Smilanick J.L., Lamarca N., 2004. Combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and curing treatments to control established infections of *Penicillium digitatum* on lemons. Journal of Food Protection, 67 (4), 781-786.

Pohanka A., 2006. Antifungal antibiotics from potential biocontrol microorganisms. Swedish University of Agricultural Sciences, Ph.D Thesis, Uppsala, Sweden, 72 pp.

Poppe L., Vanhoutte S., Höfte M., 2003. Modes of action of *Pantoea agglomerans* CPA-2, an antagonist of postharvest pathogens on fruits. European Journal of Plant Pathology, 109, 963-973.

Pusey P.L., Stockwell V.O., Reardon C.L., Smits T.H., Duffy B., 2011. Antibiosis activity of *Pantoea agglomerans* biocontrol strain E325 against *Erwinia amylovora* on apple flower stigmas. Phytopathology, 101 (10), 1234-1241.

Qiang S., Wang L., Wei R., 2010. Bioassay of the herbicidal activity of AAC-toxin produced by *Alternaria alternata* isolated from *Ageratina adenophora*. Weed Technology, 24, 197-201.

Romero D., De Vicente A., Rakotoaly R.H., Dufour S.E., Veening J.W., Arrebola E., Cazorla F.M., Kuipers O.P., Paquot M., Pérez-García A., 2007. The iturin and fengycin families of lipopeptides are key factors in antagonism of *Bacillus subtilis* toward *Podosphaera fusca*. Molecular Plant-Microbe Interactions, 20, 430-440.

Sahu D.K., Khare C. P., Singh H.K., Thakur M.P., 2013. Evaluation of newer fungicide for management of early blight of tomato in Chhattisgarh. The Bioscan, 8 (4), 1255-1259.

Sammer U.F., Reiher K., Spiteller D., Wensing A., Völksch B., 2012. Assessment of the relevance of the antibiotic 2-amino-3-(oxirane-2,3-dicarboxamido)-propanoyl-valine from *Pantoea agglomerans* biological control strains against bacterial plant pathogens. Microbiologyopen, 1 (4), 438-449.

Smith D.D., Kirzinger M.W., Stavrinides J., 2013. Draft genome sequence of the antibiotic-producing cystic fibrosis isolate *Pantoea agglomerans* Tx10. Genome Announcement, 1 (5), 04–13.

Spadaro D., Gullino M.L., 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. International Journal of Food Microbiology, 91, 185-194.

Sunita C., Eunice J.A., Steve W., 2010. Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on tomato by *Brevibacillus brevis*. Journal of Phytopathology, 158, 470-478.

Szopinska D., Tylkowska K., Deng C.J., Gao Y., 2012. Comparison of modified blotter and agar incubation methods for detecting fungi in *Zinnia elegans* seeds. Seed Science and Technology, 40, 32-42.

Taba S., Takara A., Nasu K., Miyahira N., Takushi T., Moromizato Z., 2009. Alternaria leaf spot of basil caused by *Alternaria alternata* in Japan. Journal of General Plant Pathology, 75, 160-162.

Talibi I., Boubaker H., Boudyach E.H., Aoumar A.A.B., 2014. Alternative methods for the control of post harvest citrus diseases. Journal of Applied Microbiology, 117, 1-17.

Teixidó N., Usall J., Palou L., Asensio A., Nunes C., Viñas I., 2001. Improving control of green and blue molds of oranges by combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and sodium bicarbonate. European Journal of Plant Pathology, 107, 685-694.

Tolentino J.B., Rezende R., Itako A.T., Freitas P.L.S., Frizzone J.A., 2011. Drip fungigation in early blight control of tomato. Acta Scientiarum Agronomy, 33 (1), 9-14.

Tozlu E., Dadaşoğlu F., Kotan R., Tozlu G., 2011. Insecticidal effect of some bacteria on *Bruchus dentipes* Baudi (Coleoptera:

Bruchidae). Fresenius Environmental Bulletein, 20 (4), 918-923.

Tripathi P., Dubey N.K., 2004. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. Postharvest Biology and Technology, 32, 235-245.

Troncoso-Rojas R., Tiznado-Hernández M.E., 2014. *Alternaria alternata* (black rot, black spot). Science Direct, Post Harvest Decay Book, 147-187.

Völksch B., Thon S., Jacobsen I.D., Gube M., 2009. Polyphasic study of plant- and clinic-associated *Pantoea agglomerans* strains reveals indistinguishable virulence potential. Infection, Genetics and Evolution, 9 (6),1381-1391.

Walterson A.M., Stavrinides J., 2015. *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the *Enterobacteriaceae*. FEMS Microbiology Reviews, 39, 968-984.

Wang S.Y., Chen C.T., 2010a. Effect of allyl isothiocyanate on antioxidant enzyme activities, flavonoids and post-harvest fruit quality of blueberries (*Vaccinium corymbosum* L., cv. Duke). Food Chemistry, 122, 1153-1158.

Wang Y., Xu Z., Zhu P., 2010b. Postharvest biological control of melon pathogens using *Bacillus subtilis* EXWB1. Journal of Plant Pathology, 92, 645-652.

Wang B., Yuan J., Zhang J., Shen Z., Zhang M., Li R., Ruan Y., Shen Q., 2012. Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of Fusarium wilt of banana. Biology and Fertility of Soils, 49, 435-446.

Wang J., Zhao Y., Ruan Y., 2015. Effects of bio-organic fertilizers produced by four *Bacillus amyloliquefaciens* strains on banana Fusarium wilt disease. Compost Science & Utilization, 23, 185-198.

Wilson C.L., Wisniewski M.E., Biles C.L., McLaughlin R., Chalutz E., Droby E., 1991. Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: alternatives to synthetic fungicides. Crop Protection, 10, 172-177.

Yan F., Xu S., Guo J., Chen,Q., Meng Q., Zhenga X., 2014. Biocontrol of post-harvest *Alternaria alternata* decay of cherry tomatoes with rhamnolipids and possible mechanisms of action. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95, 1469-1474.

Yang D.M., Bi Y., Chen X.R., Ge Y.H., Zhao J., 2006. Biological control of postharvest diseases with *Bacillus subtilis* (B1 strain) on muskmelons (*Cucumis melo* L. cv. Yindi). Acta Horticulturae, 712, 735-739.

Yang R., Fan X., Cai X., Hu F., 2015. The inhibitory mechanisms by mixtures of two endophytic bacterial strains isolated from *Ginkgo biloba* against pepper phytophthora blight. Biological Control, 85, 59-67.

Zhang J., Dou H., 2002. Evaluation of *Bacillus subtilis* as potential biocontrol agent for postharvest green mold control on 'valencia' orange. Proceedings Florida State Horticulture Society, 115, 60-64.

Zhang X., Zhang Y., Zhang Z., Zhang S., Han J., Liu H., 2014. Identification of *Pantoea agglomerans* XM2 with biocontrol activity against postharvest pear black spot. Wei Sheng Wu Xue Bao, 54 (6), 648-655.

Zhao Y., Wang R., Tu K., Liu K., 2011. Efficacy of preharvest spraying with *Pichia guilliermondii* on postharvest decay and quality of cherry tomato fruit during storage. African Journal of Biotechnology, 10, 9613-9622.