BİYOAJAN BAKTERİLERİ KULLANILARAK BAĞ KÜLLEMESİ (*Uncinula necator* (Schw.)) HASTALIĞININ KONTROLÜ

Gülşin DEMİR

Yüksek Lisans Tezi
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Doç. Dr. Recep KOTAN
2014
Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOAJAN BAKTERİLERİ KULLANILARAK BAĞ KÜLLEMESİ (*Uncinula necator* (Schw.)) HASTALIĞININ KONTROLÜ

Gülşin DEMİR

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ERZURUM
2014

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAY FORMU

BİYOAJAN BAKTERİLERİ KULLANILARAK BAĞ KÜLLEMESİ (*Uncinula necator* (Schw.)) HASTALIĞININ KONTROLÜ

Doç. Dr. Recep KOTAN danışmanlığında, Gülşin DEMİR tarafından hazırlanan bu çalışma ..12../..05.../2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği/~~oy çokluğu (.../...)~~** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Recep KOTAN *İmza* :

Üye : Prof. Dr. Hidayet BOSTAN *İmza* :

Üye : Prof. Dr. Ertan YILDIRIM *İmza* :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 15.05.2014. tarih ve 20/633 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİYOAJAN BAKTERİLERİ KULLANILARAK BAĞ KÜLLEMESİ (*Uncinula necator* (Schw.)) HASTALIĞININ KONTROLÜ

Gülşin DEMİR

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Recep KOTAN

Uncinula necator (Sch.) Burrill, bağda (*Vitis vinifera*) külleme hastalığına sebep olan obligat fungal patojenlerden birisidir. Dünyada üzüm yetiştirilen pek çok alanda bulunan hastalık, üzümün en yaygın ve yıkıcı hastalıklarından birisidir. Kimyasal fungusitler pek çok fungal yaprak patojenlerinin kontrolünü sağlayabilmektedir. Ancak, fungusitlere karşı oluşan dayanıklılık, pestisit kalıntısı problemi ve bazı pestisitlerin yasaklanmasından dolayı yaprak patojenlerinin kontrolünde biyopestisitlere olan ilgiyi artırmıştır. Bu çalışmada; daha önce yapılmış olan farklı araştırmalarda yabani ve kültür bitkilerinin toprak altı veya toprak üstü aksamlarından izole edilen *Brevibacillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Pantoea* cinsine dahil toplam onüç bakteri izolatı kullanılmıştır. Bakterilerinin tanıları Microbial Identification Sistemi (MIS) ve Biolog Sistemi kullanılarak doğrulanmıştır. Bakterilerin altı farklı kombinasyonu uygun bir sıvı taşıyıcıda geliştirilerek sprey yöntemi ile uygulanmış ve külleme hastalığınının kontrolü için test edilmiştir. Sonuç olarak, bakteri içeren sıvı formülasyonların bazılarının mildiyö hastalığının gelişimini önemli ölçüde önlediği görülmüştür. Bu biyoformülasyonlar bağ küllemesi hastalığının kontrolünde biyopestisit olarak kullanılabilir.

2014, 68 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bağ, biyopestisit, külleme, üzüm, PGPR, *Uncinula necator*

ABSTRACT

Master Thesis

CONTROL OF POWDERY MILDEW (*Uncinula necator* (Schw.)) BY USING BACTERIAL BIOCONTROL AGENTS

Gülşin DEMİR

Atatürk University
Natural Sciences Institute
Department of Plant Protection

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Recep KOTAN

Uncinula necator (Sch.) Burrill is the obligate fungal pathogen responsible for powdery mildew in grapevine (*Vitis vinifera*). The disease found in most grape-growing areas of the world is one of the most widespread and destructive disease of grapevine. Chemical fungicides typically have provided adequate control of most foliar fungal pathogens, However, fungicide resistance problems, concerns regarding pesticide residues and revocation of registration of certain widely used fungicides have led to increased activity in the development of biocontrol agents of foliar fungal pathogens. In this study, a total of thirteen bacterial strains from the genera *Brevibacillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Pantoea* isolated from under-ground or above-ground of wild and cultivated plants in the previous studies were used. The identity of the bacteria bacteria was confirmed according to Sherlock Microbial Identification System (Microbial ID, Newark, DE, USA) and Biolog System. Six different combination of the bacterial strains were growth in suitable liquid carrier formulation and tested for suppressing powdery mildew disease by using sprey method. Consequently, our results indicated that some of the liquid formulation consist of bacteria significantly reduced disease incidence of powdery mildew. These formülations can be used as biopesticide for the control of powdery mildew disease.

2014, 68 pages

Keywords: Vineyard, Biopesticide, powdery mildew, grape, PGR, *Uncinula necator*

TEŞEKKÜR

Mesleğimin öğrenilmesinde ara kademelerden biri olan yüksek lisans eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Mesleğimin ayrıntılarını öğrenmek ve doğaya zarar vermeden faydalı olmak için önümde aşmam gereken birçok engel olduğunun farkında olarak; yüksek lisans eğitimim boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Recep KOTAN'a, tezimin okunmasındaki katkılarından dolayı kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Ertan YILDIRIM ve Sayın Prof. Dr. Hidayet BOSTAN'a, tezin arazi çalışmaları aşamasında yardımcı olan, imkan sağlayan abim Bektaş AKKOYUN'a, her konuda sabırla yardımcı olan eşim Veteriner Hekim Ragıp DEMİR'e ve çalışmalarım boyunca manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Gülşin DEMİR
Mayıs, 2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ viii
1. GİRİŞ 1
1.1. Üzümün İnsan Beslenmesindeki Önemi ve Sistematikteki Yeri 1
1.2. Üzümün Dünya ve Ülkemiz Ekonomisindeki Yeri 2
1.3. Tarımsal Ürünlerde Verim Kaybına Sebep Olan Biyotik ve Abiyotik Etmenler .. 3
1.4. Üzüm Üretimi Artışı İçin Neler Yapılabilir? 3
1.5. Bağda Verim Kaybına Sebep Olan Bakteriyel, Fungal ve Viral Etmenler 5
1.6. Bağ Küllemesi (*U. necator*)'nin Ülkemizde ve Dünyadaki Yaygınlığı 6
1.7. Külleme Etmeninin Taşınması ve Zarar Şekli 7
1.8. Külleme Hastalığın Belirtileri 10
1.9. Ekolojik Koşullar 12
1.10. Külleme Hastalığı ile Mücadele 14
1.10.1. Kültürel önlemler 14
1.10.2. Kimyasal mücadele 14
1.11. Kimyasal Pestisitlerin ve Gübrelerin Olumsuz Etkileri 16
1.12. Biyolojik Mücadele 17
2. KAYNAK ÖZETLERİ 21
3. MATERYAL ve YÖNTEM 28
3.1. Materyal 28
3.1.1. Yararlanılan cihazlar 28
3.1.2. Çalışmada kullanılan besi yerleri ve çözeltilerin hazırlanışları 29
3.1.3. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları 31
3.1.4. Çalışmada kullanılan üzüm çeşidi 32
3.1.5. Çalışmada kullanılan sıvı taşıyıcı 32

3.1.6. Çalışmada kullanılan bakteri formülasyonları 33
3.2. Yöntem 34
3.2.1. Çalışmada kullanılan bakteri kültürlerinin muhafazası 34
3.2.2. İzolatların MIS sistemi ile yağ asiti profillerinin belirlenmesi ve tanılanması 34
3.2.2.a. Bakteri izolatlarının trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi 34
3.2.2.b. Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması 34
3.2.2.c. Örneklerin mikrobiyal tanılama sistemi ile (MIS) analiz edilmesi 36
3.2.3. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitivity (HR)) testi 36
3.2.4. Bakterilerin BIOLOG sisteminde tanılanması 36
3.2.5. Taze bakteri kültürlerinin geliştirilmesi 37
3.2.6. Taze kültürlerinin fermentöre transfer edilmesi 37
3.2.7. Sıvı taşıyıcının biyoreaktörde buharla sterilizasyonu, soğutulması ve fermentör kültürlerinin biyoreaktörde sıvı taşıyıcıya transfer edilmesi 37
3.2.8. Biyoreaktör ürününün paketlenmesi ve raf ömrünün belirlenmesi 38
3.2.9. Bakterilerin uygulanması 38
3.2.10. Deneme deseni ve denemenin kurulması 38
3.2.11. Deneme deseninin uygulanması ve değerlendirilmesi 40
3.2.12. Bakteri formülasyonlarının raf ömürlerinin belirlenmesi 41
3.2.13. İstatistik analizler 41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 42
4.1. Bakteri Tanı Sonuçları 42
4.2. Arazi Çalışmaları ve Sonuçları 43
4.3. Bakteri Formülasyonlarının Raf Ömrü 48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 49
KAYNAKLAR 59
ÖZGEÇMİŞ 69

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
Atm	Atmosfer
cm	Santimetre
da	Dekar
dH_2O	Distil su
dk	Dakika
G	Gram
ha	Hektar
Kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan bakteri sayısı
L	Litre
Lx	Lüks
mg	Miligram
ml	Mililitre
NA	Nutrient Agar
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacter
sa	Saat
sdH_2O	Steril ve distil su
sH_2O	Steril su
sn	Saniye

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bağda görülen külleme etmeni *Uncinula necator*'un konidiumların mikroskobik görünümü 8
Şekil 1.2. Bağda görülen külleme etmeni *Uncinula necator*'un cleistotesyumun mikroskobik görünümü 9
Şekil 1.3. Bağda görülen külleme etmeni *Uncinula necator*'un yapraktaki görünümü 10
Şekil 1.4. Bağda görülen külleme etmeni *Uncinula necator*'un sürgündeki görünümü 11
Şekil 1.5. Bağda görülen külleme etmeni *Uncinula necator*'un salkımdaki görünümü 12
Şekil 3.1. Sultani çekirdeksiz kuru üzüm çeşidi görünümü 32
Şekil 4.1. Uygulamanın yapıldığı bağ alanından bir görünüm 44
Şekil 4.2. Kontrol 1 (sıvı taşıyıcı) uygulamasından genel bir görünüm 45
Şekil 4.3. Kontrol 2 (ilaç) uygulamasından genel bir görünüm 45
Şekil 4.4. Formülasyon E uygulamasından genel bir görünüm 46
Şekil 4.5. Kontrol 1 (sıvı taşıyıcı) uygulamasından meyve ve yaprakdan bir görünüm 46
Şekil 4.6. Kontrol 2 (ilaç) uygulamasından meyve ve yaprakdan bir görünüm 47
Şekil 4.7. Formülasyon E uygulamasında meyve ve yaprakdan bir görünüm 47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. İlaçlama programı 16
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları 31
Çizelge 3.2. Formülasyonlarda kullanılan bakteri izolatları 33
Çizelge 3.3. Deneme deseni 39
Çizelge 3.4. Bağ küllemesi hastalığında yaprak için değerlendirme skalası 40
Çizelge 4.1. Bakteri izolatlarının MIS ve BIOLOG tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri 42
Çizelge 4.2. Bakteri ve kontrol uygulamalarının bağda külleme hastalık şiddeti üzerine (1-5 skalasına göre) etkisi 44
Çizelge 4.3. Bakteri formülasyonlarındaki aylık toplam bakteri sayıları (10^7 kob/ml) 48

1. GİRİŞ

1.1. Üzümün İnsan Beslenmesindeki Önemi ve Sistematikteki Yeri

Meyveler insanlara sunulan en değerli gıdalardan birisidir. Gerek coğrafi ve gerekse ekolojik koşullar bakımından Ülkemiz bağcılığa çok elverişlidir. Asmanın anavatanı olan Anadolu tarih boyunca bağları ve üzüm çeşitleri ile şöhret bulmuştur. Eski Türk uygarlıkları zamanında bağcılık Anadolu'dan bütün dünyaya yayılmıştır. Osmanlı İmparatorluğu zamanında ise eskisinden daha parlak bir devreye gelmiştir (Fidan 1985). Yurdumuzda gerek taze olarak, gerekse pekmez, pestil, sucuk, köfter ve kuru üzüm gibi çeşitli şekillerde tüketilmekte olan üzüm, yapısında bulunan şeker, azotlu madde, mineraller ve vitamin varlığı ile beslenmemize ve sağlığımıza faydalı bir meyvedir (Ağaoğlu 1986).

Asmalar *Rhamnales* takımına bağlıdır. Bu takımın üç familyasından (*Rhamnaceae, Leeaceae* ve *Vitaceae*) yalnızca *Vitaceae* (*Vitidaceae, Ampelidaceae, Ampelidae*) familyasına ait bitkiler, bilinen anlamda asmaları tanımlamaktadır. Bu familyanın 12 cinsi ve yaklaşık 700 türü *Vitis* cinsine aittir. Bu cinsi diğerinden ayıran en önemli özelliği, taç yapraklarının üstte birleşerek çiçeği bir şapka şeklinde kapatması ve tozlanma döneminde alttan ayrılarak düşmesidir. Vitis cinsi iki seksiyondan (alt cins) oluşmaktadır. Bunlar kromozom sayısı 2n=38 olan *Euvitis* ve 40 olan *Muscadinia*'dır (Winkler *et al*. 1974; Antcliff 1992).

Değişik iklim ve toprak koşullarında yetişebilmesi nedeniyle bugün dünya üzerinde kuzey yarımkürede 11°-52°, güney yarımkürede 20°-40° enlem dereceleri arasında yeralan birçok ülkede ekonomik anlamda bağcılık yapılmaktadır. Enlem dereceleri 36°-42° arasında bulunan ülkemiz bu yönden çok uygun bir konumda bulunmaktadır. Bu bağlamda ülkemizin hemen her yöresinde bağcılık yapılabilmekte, hatta toprak yapısı ve iklim koşulları bakımından diğer tarım ürünlerinin yetişmesine veya istenilen düzeyde kaliteli ürün eldesine elverişli olmayan bölgeler bu tarım koluna ayrılarak

değerlendirilmektedir (Oraman 1965). Ayrıca arkeolojik bulgulardan edinilen bilgilere göre, asmanın ilk kez Anadolu'da kültüre alındığı belirlenmiştir. Daha sonraları Anadolu toprakları üzerinde süregelen farklı uygarlıklar, bağcılığa özel bir önem kazandırmışlar ve bu kültürün günümüze kadar ulaşmasını sağlamışlardır (Çelik vd 1998).

1.2. Üzümün Dünya ve Ülkemiz Ekonomisindeki Yeri

Dünya'daki bağ alanları ve üzüm üretimine kısaca bakılacak olursa, Dünya üzüm üretimi gerek iklim koşulları gerekse geleneksel yetiştiriciliğin yüzyıllardır sürmesi nedeniyle büyük oranda Akdeniz ülkelerinde gerçekleşmektedir. Ancak son 30 yılda Dünya'daki toplam üzüm üretimi içindeki paylarında düşme gözlemlenmektedir. FAO'nun ülke bazında üzüm üretim ve verimi verilerine göre, Fransa Dünya üzüm üretiminin 1980 yılında %19.9'unu gerçekleştirirken bu rakam 2000 yılında %11.98'e ve 2011 yılında da %8,6'ya gerilemiş ve Fransa üretimde ilk sırayı Çin'e kaptırmıştır. Aynı düşüş İtalya'da da gözlemlenmiş, 1980 yılında Dünya üretiminin %15.5'lik kısmını karşılayan İtalya 2000 yılında 13.69'a, 2011 yılında ise 9,2'ye gerilemiştir. Üzüm üretiminde İspanya 1990'lı yıllara kadar üçüncü sırada iken 1990 yılında ABD'nin ardından 4. Sıraya, 2011 yılında da 5. sıraya gerilemiştir. Dünya üzüm üretiminde en çarpıcı gelişme Çin'de meydana gelmiştir. 1980 yılında %2'lik paya sahip olan Çin 2000 yılında toplam üzüm üretimini %5,2'lik kısmını karşılayarak Türkiye'nin ardında beşinci sıraya yükselmiş, 2011 yılında ise %16,4'lük üretim oranı ile Dünya sıralamasında 1. sıraya yükselmiştir (Anonymous 2012).

2011 yılı verilerine göre; Türkiye'de 472.545 hektar bağ alanı olup yaklaşık 4.296.351 ton üzüm üretilmektedir. Üretilen üzümün %52.81'i sofralık, %36.36'ı kurutmalık ve %10.83'ü şaraplık çeşitlerinden oluşmaktadır. Türkiye bağcılığında, Ege Bölgesi bağ alanı ve üretim yönünden birinci sırada yer almaktadır. Ege Bölgesi toplam bağ alanı 139.802 hektar olup; bunun 98.011 hektarı kurutmalık ve sofralık çekirdeksiz bağ alanından oluşmaktadır. Manisa ülkemizde en yoğun üzüm yetiştiriciliği yapılan illerden birisidir. 2002 yılında 634.930 dekar üzüm alanında 981.801 ton üzüm

üretilirken 2011 yılında üzüm alanı %13,8 artışla 722.810 dekara ve üretim ise %36 artışla 1.336.194 tona yükselmiştir. 2011 yılı sonu itibarıyla Manisa'dan 199.169 ton kuru üzüm, 184.965 ton sofralık üzüm ihracatı yapılmıştır (TÜİK 2012).

1.3. Tarımsal Ürünlerde Verim Kaybına Sebep Olan Biyotik ve Abiyotik Etmenler

Tarım ürünlerinde verimi sınırlayan biyotik ve abiyotik pek çok faktör bulunmaktadır. Hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlar gibi değişik faktörler tarım ürünlerinde önemli kayıplara neden olan biyotik faktörlerdendir. Abiyotik faktörler olarak değerlendirilen olumsuz çevre şartları (don, dolu, rüzgar, kuraklık vs.) ve/veya patojenik mikroorganizmaların (fungus, bakteri, virüs, viroid, fitoplazma vs.) saldırısına maruz kalan bitkilerin normal hayatsal faaliyetlerindeki bozulma ve buna bağlı olarak meydana gelen, doğrudan veya dolaylı zararlanmalar bitki hastalığı olarak tanımlanmaktadır. Bu kayıplar içerisinde bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıklar önemli bir yere sahiptir.

Bitki patojenlerine karşı önlem alınmadığı takdirde yılda yaklaşık olarak %65 oranında ürün kaybı oluşmaktadır (Agrios 1997). Food and Agriculture Organization (FAO) tarafından yayınlanan 1993 yılı istatistiklerine göre, her yıl dünya tarım ürünlerinin en az %12'lik bir bölümü (tarla ve depo şartlarında) patojen mikroorganizmaların neden olduğu bitki hastalıklarından dolayı kaybedilmekte; bu oran az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde daha da fazla olmaktadır. Yapılan araştırmalar, bitki hastalıklarına %60–75 oranında fungus ve bakteriler, %10–15 oranında virüs ve viroidler, %10 oranında ise diğer patojenler ve çevresel faktörlerin sebep olduğunu göstermektedir (Agrios 1997).

1.4. Üzüm Üretimi Artışı İçin Neler Yapılabilir?

Ülkemiz ekolojisinin bağcılık açısından ne derece uygun olduğu hemen hemen tüm bölgelerde üzüm yetiştirilmesi ve üzüm çeşitlerindeki zenginlik ile ekonomik ve sosyal yapıya bağlı olarak değişmektedir. Bölgelere göre değişen üzüm üretimi ve üzüm çeşit zenginliği nedeni ile üzümlerin değerlendirilmesi bölgesinde sofralık amaçlı olarak üretilen Sultani Çekirdeksiz üzümler Manisa'nın Salihli, Alaşehir, Sarıgöl ve

Denizli'nin Çal ve Buldan ilçelerinde yoğunluk göstermektedir. Ege Bölgesi sofralık üzüm yetiştiriciliğinde; verim ve kalitenin oluşturulması ile ilgili bir çok sorun bulunmaktadır. Bağcılık yoğun iş gücü girdisi ve tüm üretim mevsimi boyunca uğraş gerektiren bir üretim şeklidir. Bunun başlıca nedeni bağların tek yıllık tarımsal ürün olmayıp uzun yıllar üretim yapılabilmesidir. Günümüzde bağcılık yapılan birçok ülkelerde geliştirilen mekanizasyon teknikleri (tarım alet, makineleri ve traktörlerin optimum kullanılması gibi) ve birçok kültürel işlemler hemen uygulamaya sokulmaktadır. Ancak ülkemizde kullanılan tekniklerden yeteri kadar yarar sağlanılmamaktadır. Genellikle bağcılık eskiye dayalı olup mevcut bağların önemli bir kısmında geleneksel yetiştiricilik yöntemleri uygulanmaktadır. Birçok üretici halen insan gücünü kullanmaktadır. Sonuçta bu da bağ alanlarında verim azalmasına neden olmaktadır. Bağda üretim ve kalitenin arttırılması ise; yüksek verimli çubuk çeşidinin bulunması, bağ tesis şekli, toprak işleme, budama, gübreleme, sulama, hastalıklar, zararlılarla mücadele ve hasat gibi kültürel işlemlerin optimum bir şekilde yapılmasına bağlıdır. Bütün bunlar bağcılıkta verimli ve kaliteli bir üretimde artış sağlayacak, bağcılığın gelişmesine katkıda bulunacaktır.

Sofralık üzüm yetiştiriciliginde; yaprak alma, salkım ve tane seyreltme ile bitki büyüme düzenleyici uygulamalarının tane iriligi, salkım sıklığı, şeker/asit oranı ile vegetatif gelişme üzerinde farklı etkiler yaptığı belirlenmiştir (Fazinic 1963; Ilgın ve Kısmalı 1998).

Bağcılıkta GA3 uygulamalarının salkım iskeletini uzatma, tane seyreltme ve tane iriliğini arttırma gibi etkileri sonucu sofralık üzüm kalitesini artırdığı yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Onaran 1964; Myrianthousis and Hadjigiorgis 1973; Çalışkan ve İlhan 1975; Biscay and Bard 2001; Williams and Ayars 2005).

Çekirdeksiz üzümlerde bilezik alma, birinci büyüme döneminde yani meyve tutumunda yapılırsa tane iriliğini artırmaktadır. Çiçeklerin %80'i açtığında GA3 uygulanırsa seyreltme ve tane irileşmesi birlikte gerçekleşmektedir. Sofralık üzüm elde etmek için 15-20 ppm dozunda iki kez GA3 uygulamasını önermekte ve GA3 kuru üzümde de 100

tane ağırlığını artırmaktadır (Kısmalı 1979a; 1979b). Melezleme çalışmaları ile elde edilen yeni çekirdeksiz üzüm çeşitleri ile geleneksel çeşitlerde (Sultani Çekirdeksiz, Yuvarlak Çekirdeksiz, Pembe Çekirdeksiz) GA3 uygulamaları; doz ve çeşide göre tane iriliklerini %50-200 oranında artırmıştır. Salkım ağırlıkları da tane ağırlık artışına paralel şekilde artarak 600-900 gr'a çıkmıştır. GA3 uygulamaları çeşitlerin hemen tümünde olgunlaşmada 1-2 haftalık gecikmeye yol açmıştır (Samancı 1998).

Olgunlaşma sırasında salkım bölgesinde yapılan yaprak alma ile daha fazla ışık görme ve ısınma sonucu tanelerde asiditenin azaldığı, daha fazla asimilat ve antosiyanin birikerek tatlanma ve renklenmenin arttığı, ayrıca üzümlerin daha iyi havalanması ve orantılı nemin azalması nedeni ile *Botrytis* ssp. (kurşuni küf) zararının azalması gibi önemli yararlar sağlandığı saptanmıştır (Carbonneau *et al.* 1977).

Uslu (1981), Müsküle üzüm çesidinde %25 düzeyindeki yaprak alma uygulamasının kontrol ve %50 yaprak alma uygulamasına göre salkım ağırlığı, 100 tane ağırlığı ve asma basına verimi artırdığını, toplam asit miktarını azalttığını saptamıştır. Ayrıca 1 gr meyveye 5-7 cm² lik yaprak alanının yeterli olduğunu bu değerin %25 düzeyindeki yaprak alma uygulamasına isabet ettiğini tespit etmiştir.

1.5. Bağda Verim Kaybına Sebep Olan Bakteriyel, Fungal ve Viral Etmenler

Çok sayıda kültür bitkisinin yetiştirildiği ülkemizde, ekonomik düzeyde zarara neden olan 450'nin üzerinde hastalık zararlı ve yabancı ot bulunmaktadır (Anonim 2002). Bunlar içinde bakteriyel etmenler de ülkemizde ekonomik düzeyde kayba neden oldukları 40'ın üzerinde hastalıkla önemli bir yer teşkil etmektedirler (Saygılı vd 2008). Bağda görülen bu hastalıklardan bazıları kök boğazı ur hastalığı (*Agrobacterium tumefaciens*) (Benlioğlu ve Özakman, 1998), asmada ur hastalığı (*Agrobacterium vitis*) (Küsek, 2007), saçak kök hastalığı (*Arobacterium rhizogenes*), bağ bakteriyel yanıklığı (*Xylophilus amphelinus*) hastalığıdır (Saygılı vd 2008). Bağda görülen fungal hastalıklar ise; bağ küllemesi (*Uncinula necator*), bağ mildiyösü (*Plasmopara viticola*), bağlarda kurşuni küf (*Botrytis cinerea*), bağlarda ölü kol hastalığı (*Phomopsis viticola*), bağlarda

kısa boğum (*Fan leaf*) ve bağlarda kav hastalığı (*Stereum hirsutum, Phellinus igniarius*) olarak bilinmektedir (Anonim 2013).

Bağcılıkta gözlenen gerilemenin bir çok nedeni bulunmakla birlikte virüs ve virüs benzeri hastalıklardan kaynaklanan verim azalması ve kalite bozukluğunun da payı oldukça önemlidir. Bugüne kadar bağlarda zarar yapan 40'dan fazla virüs ve virüs benzeri hastalık etmeni saptanmıştır (Caudwell ve Dalmasso 1985). Bu etmenlerin içinde özellikle Asma Yelpaze Yaprak (Grapevine Fanleaf Virus,GFLV), Asma Yaprak Kıvırcıklık (Grapevine Leafroll Virus;GLRV), Arabis Mozayik (Arabis Mosaic Virus; ArMV), Asma Flek (Grapevine Fleck virus; GFkV), Çilek Latent Halkalı Leke (Stravvberry latent ringspot virus; SLRV), Ahududu Halkalı Leke (Raspberry Ringspot Virus, RRV), Domates Siyah Halkalı Leke (Tomato Black Ring Virus; TBRV) ve Asma Mantarımsı Kabuk (Grapevine Corky Bark; GCBV) bağ tarımını etkileyen hastalıklar olarak karşımıza çıkmaktadır (Martelli 1992).

Bağcılıkda en önemli sorunların başında belkide fungal patojenler gelmektedir. Pek çok fungal patojenler gerek bitkinin kök bölgesinde gerekse de toprak üstü aksamında hastalık oluşturarak verim kayıplarına sebep olmaktadırlar. *Phytophthora*, *Phythium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Trichothecium*, *Botrytis*, *Mucor*, *Phoma*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Uncinula*, *Diplodia* ve *Verticillium* cinslerine dahil pek çok türün asmada sorun oluşturduğu bilinmektedir (Arı vd 1995). *U. necator* bağ küllemesinin etmeni olup gerek dünyada gerek ülkemizde çok ciddi zararlara sebep olmaktadır (Arı vd 1995).

1.6. Bağ Küllemesi (*U. necator*)'nin Ülkemizde ve Dünyadaki Yaygınlığı

Bağlarda külleme hastalığına yol açan *U. necator* ilk olarak 1834 yılında Kuzey Amerika'da Shweinita tarafından kaydedilmiştir. Hastalık yerli Amerikan asmalarında önemli bir zarar yapmazken hasta çubuklar üzerinde Avrupa Kıtasına ulaştığında kısa bir sürede tehlikeli bir sorun halini almıştır. Hastalığa ilk kez İngiltere'de 1845 yılında rastlanmış ve Tucker tarafından *Oidium tuckeri* olarak adlandırılmıştır. Etmen daha

sonra kıtada hızla yayılmış ve 1847 yılında Fransa'da önemli bir kalite düşüklüğüne yol açmıştır. Tucker tarafından hastalığın kontrolünde kükürt, kireç ve su karışımı önerilmiş, sonradan kükürdün daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Hastalık 1854 yılında Fransa'da %80 ürün kaybına yol açabilecek bir kapasiteye ulaşmıştır (Anonim 2009).

Bugün hastalık tropik bölgeler dahil bağ yetiştirilen tüm ülkelerde görülmektedir. Hastalık ülkemizde ilk kez 1851 yılında görülmüş ve muhtemelen hava yoluyla bulaşmıştır. Etmen bir asır içinde Türkiye'nin her tarafına yayılmıştır. Hastalığın ülkede yol açtığı verim kayıpları konusunda kesin ve güncel rakamlar yoktur. Lokal olarak yapılan bir çalışmada Manisa'da, ilaçlı savaşım yapılmayan parsellerde üründe %66 oranında azalma olduğu, kuru üzüm kalitesinin ise 9-10 numaradan 7.5 numaraya düştüğü saptanmıştır. Bu rakamlar etmenin üzüm üretimi ve kalitesini önemli oranda etkileyebileceğini göstermektedir (Anonim 2009).

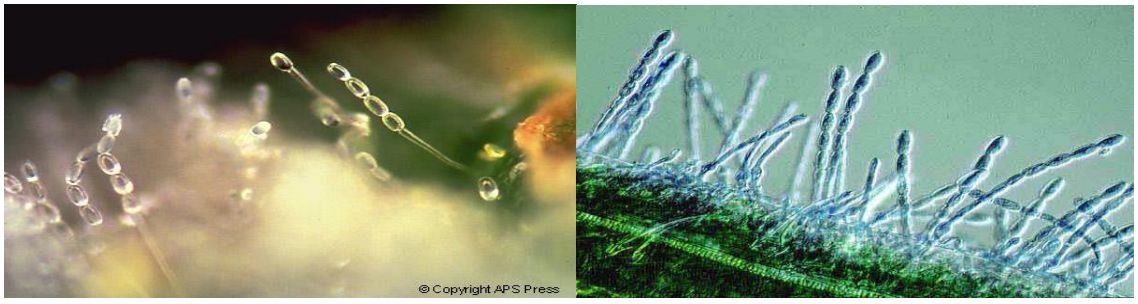
1.7. Külleme Etmeninin Taşınması ve Zarar Şekli

*Erysiphales'*e ait funguslar genellikle külleme olarak bilinen bitki hastalıklarının önemli bir grubuna neden olan obligat biotroph'lardır (Blumer 1933). Külleme fungusunun bazı önemli konukçuları, hububatlar, kabakgiller, elma, asma, gül ve benzeri süs bitkileridir (Armano 1986). En önemli patojenler arasında yer alan asma külleme etmeni *U. necator* bir obligat parazit olup, yalnızca *Vitaceae* familyası üyelerini yakalar (Halleen and Holz 2001). Bu hastalıklar enfekteli bitki kısımlarının, ekseri yaprakların üzerlerini beyaz tozsu bir miselial kitle ile kaplanmaları nedeniyle bu ismi almışlardır. Bu tozsu beyaz görünüme üretilen birçok hif, konidiofor ve çok sayıdaki konidi sebep olmaktadır. *Erysiphales'*in yaşam döngüsünü konidiler başlatsa da, bu funguslar ayrıca askosporlarla eşeysel olarak ürerler. Askosporlar büyüme mevsiminin sonlarında görülen askokarpların içerdiği askuslar içinde üretilirler. Bu askokarplara cleistothecia (cleistothecium) denir. *Erysiphales'*e ait funguslardan biri olan külleme etmeni *U. necator* kışı uyur gözler içinde hif formunda ve/veya asmanın üzerinde kleistotesyum halinde geçirir. Kabuk, altında bulunan miselyumun kışlamada rolü yoktur. Seralarda ve

tropik iklimlerde yeşilliğini koruyan doku üzerinde oluşan miselyum ve konidiumlar bir yıldan diğerine varlıklarını sürdürebilir (Halleen and Holz 2001).

Tomurcuklar (gözler) vejetasyon döneminde oluşmaları sırasında infekte olurlar. Fungus hifleri ile tomurcuğa yerleşir ve yeni mevsime kadar iç tomurcuk pulları üzerinde dormant vaziyette bekler. Asmalara su yürüyüp tomurcukların patlamasından kısa bir süre sonra fungus da aktivite kazanır ve gelişmekte olan sürgünü ve yaprakçıkları beyaz bir miselyum ile kaplar. Yüzeysel hifler, bölmeli, renksiz, 4-5 mm çapında olup, penetrasyon çivisi yardımıyla kutikula ve epidermis hücre çeperini delen hif epidermis hücresi içinde bir elin parmaklarına benzer emeç (haustorium) oluşturur. Oluşturulan bu emeç yardımıyla yüzeyde oluşturduğu miselyum ve konidiumlarını besler (Halleen and Holz 2001).

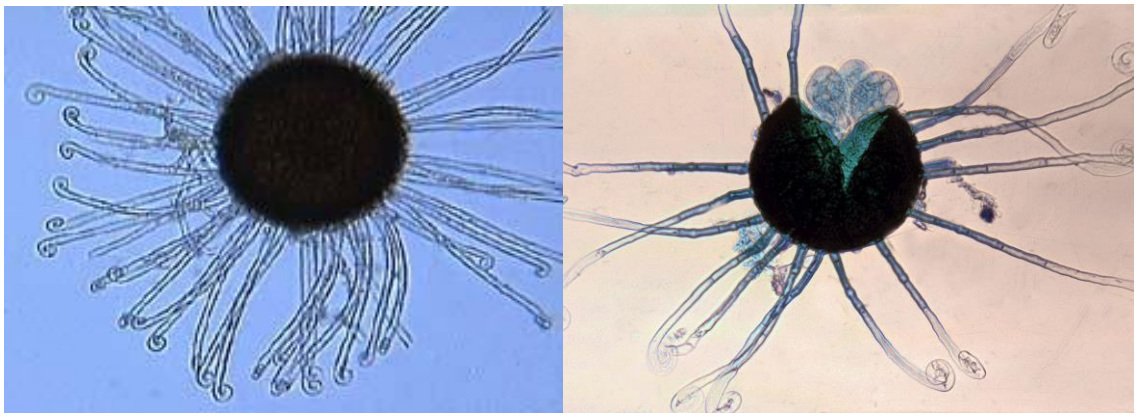
Çok bölmeli olan konidioforlar 10-140 milimikron uzunluğunda olup, yatay gelişen hifler üzerinde dikey olarak ve sık aralıklarla oluşurlar. Renksiz ve silindirik oval şekilli konidiumlar (27-47×14-21 milimikron) bir zincir oluşturacak şekilde konidioforlar üzerinde dizilirler. Zincirin ucundaki konidium en yaşlı olanıdır. Genelde her zincirde 3-5 konidium bulunur (Şekil 1.1). Bu sayı dış koşullarda gelişen asmalar üzerinde saptanmıştır ancak yapay koşullarda bu sayı artabilir (Halleen and Holz 2001). Bu organların üzerinde bulunan konidiumlar rüzgâr aracılığı ile diğer asmalara kolayca taşınırlar. Bu belirtiler sürgün 15-20 cm boy kazanıncaya kadar dikkati çekmeyebilir. İlk belirtiler daha çok sürgün ucunda görülür (Halleen and Holz 2001).



Şekil 1.1. Bağda görülen külleme etmeni *U. necator*'un konidiumların mikroskobik görünümü (Anonymous 2014)

Eşeyli üreme organı olan kleistotesyumlar zıt eşeylikteki hiflerin birleşmesiyle oluşurlar. Küresel ve 84-105 mm çapında olan bu organlar konukçu bitkinin hastalanmış tüm doku yüzeylerinde bulunabilirler. Kleistotesyumların primer inokulum kaynağı olarak önemli oldukları bağ bölgelerinde ilk enfeksiyonlar gövde ve ana kollarının hemen yakınında bulunan yaprakların üst yüzeylerinde tek tek koloniler halinde görülürler. Bunun nedeni sonbahar ve kış yağmurlarıyla yapraklardan, çubuklardan ve salkımlardan yıkanan kleistotesyumların kabuk çatlakları içinde tutunabilmeleri ve önce kendilerine yakın yaprakları infekte etme şansı bulmaları olabilir (Halleen and Holz 2001).

Kleistotesyumların uzun, dalgalı, çok bölmeli ve uçları olgunlaştıklarında kıvrık bir biçim olan tipik tutunucuları vardır (Şekil 1.2). Kleistotesyumların başlangıçta beyaz olan renkleri olgunlaşırken önce sarıya, sonra koyu kahverengine dönüşür. Her birisinin içinde 4-6 adet, oval küremsi 50-60x25-40 milimikron boyunda askus bulunur. Askusların içinde ise 4-7 adet oval- elipsoid, renksiz 15-25x10-14 milimikron boyutlarında askospor oluşur. Konidiumlarda olduğu gibi askosporlar da kısa, oluştuktan hemen sonra çok loblu bir appressorium meydana getiren, 1 veya 2 adet çim borusu vererek çimlenirler (Halleen and Holz 2001).



Şekil 1.2. Bağda görülen külleme etmeni *U. necator*'un cleistotesyumunun mikroskobik görünümü (Anonymous 2014)

İlkbaharda olgun kleistotesyumlar yağmurla ıslandıklarında çatlarlar ve askosporları dışarı çıkar. Yeşil doku üzerine konan askosporlar bir misel kolonisi oluştururlar. Bu koloniler üzerinde meydana gelen konidium uçuşu genelde asmanın çiçeklenmesinden sonra en yoğun seviyeye çıkar ve sonbahara kadar devam eder. Çiçekten sonra hastalık çubuk, salkım ve yapraklarda daha belirgin hale gelir. Sonbaharda, eğer koşullar uygunsa kleistotesyum oluşumu başlar. Böylelikle etmenin yaşam çemberi tamamlanmış olur (Halleen and Holz 2001).

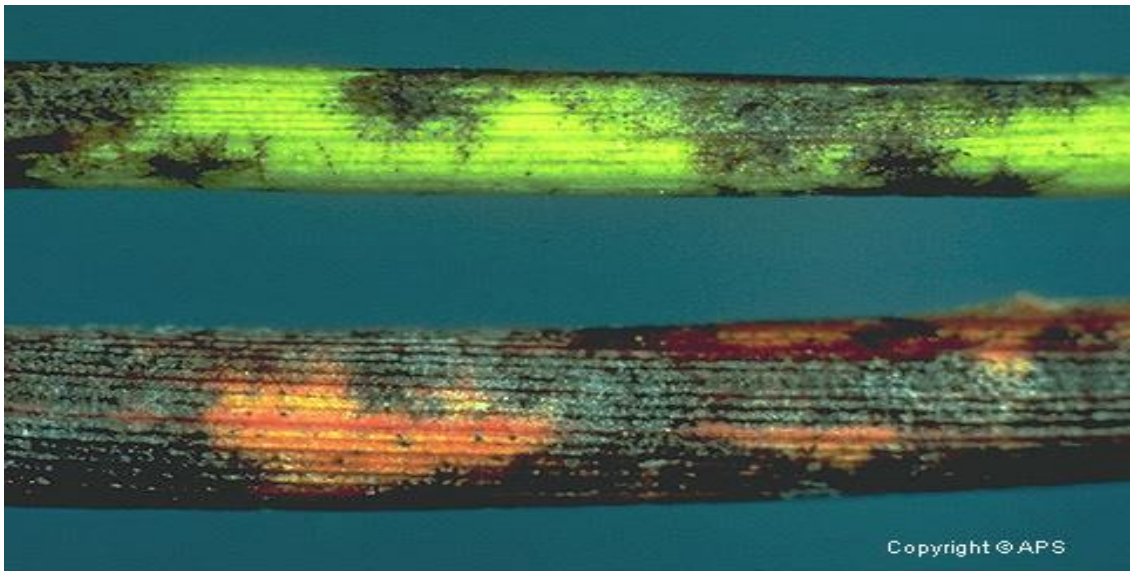
1.8. Külleme Hastalığın Belirtileri

Yaprakta: Yaprakların her iki yüzeyi her yaşta enfeksiyona duyarlıdır. Henüz genç, büyümekte olan yapraklar şiddetli enfeksiyona uğradıklarında gelişmeleri geriler ve şekilleri bozulur. Daha ileri dönemde hastalığa yakalanan yapraklar parlaklıklarını kaybederler, kirli yeşil bir renk alırlar. Bu yaprakların belirli yerlerinde kül serpilmiş tozlanmış gibi bir görünüm doğar (Şekil 1.3). Yaprakların normal yumuşaklıkları kaybolur, kalınlaşır ve gevrekleşirler, kenarları kıvrılır. Yaprak saplarında da benzer belirtiler görülür. Bazen hasta yaprakların üst yüzeyinde, mildiyöde olduğu gibi yağ lekesini andıran klorotik, parlak lekeler belirir (Halleen and Holz 2001).



Şekil 1.3. Bağda görülen külleme etmeni *U. necator*'un yapraktaki görünümü (Anonim 2012)

Sürgünde: Etmen sürgünleri de yakalar, taze yeşil sürgünler hastalandıklarında renkleri koyulaşır, adeta siyahlaşır (Şekil 1.4). Etmen sürgünü yer yer işgal ettiğinde uzunumsu, elips şeklinde kenarları saçaklı görünümlü, koyu renkli lekeler meydana gelir. Bu lekeler kışın dormant dönemde kırmızı-kahverengi lekeler halinde dikkati çekerler. (Şekil 1.4) Bu belirtiler bir bağda hastalık şiddetini saptamada ve dolayısıyla uygulanacak kimyasal savaşım programını hazırlamada önemli bir kriterdir. Bunlar adeta bağın geçirmiş olduğu külleme hastalığının bir göstergesidir. Bu nedenle kış budaması sırasında üreticinin de dolaşmasında ve bağındaki hastalık şiddeti hakkında fikir sahibi olmasında büyük yarar vardır (Halleen and Holz 2001).



Şekil 1.4. Bağda görülen külleme etmeni *U. necator*'un sürgündeki görünümü (Anonim 2008)

Salkımda: Salkımlar gelişmelerinin her dönemlerinde etmene karşı duyarlıdırlar. Erken dönemde hastalığa yakalanan salkım iskeleti kolayca kırılan bir yapı kazanıp düşebilir. Çiçek öncesi ve hemen sonrasında olan enfeksiyonlar meyve tutumunu azaltır ve önemli verim kaybına yol açabilirler. Taneler şeker içerikleri yaklaşık %8 oluncaya kadar infeksiyona duyarlıdırlar. Bundan sonra (ben düşme) infeksiyona yakalanmazlar. Çünkü etmenin besleneceği epidermis hücreleri artık aktivitelerini kaybetmişlerdir ve onu besleyemezler. Ancak, şeker içeriği %8'e erişmeden önce hastalanmış taneler üzerinde

etmen şeker içeriği %15 oluncaya kadar sporlanmaya devam edebilir. İnce koruk döneminde hastalığa yakalanan salkımlarda taneler gelişmeden kırılırlar. Eğer taneler henüz tam büyüklüklerini almadan hastalığa yakalanırsa epidermis hücreleri ölür ve böylelikle kabuğun gelişimi durur. Bu durumda tane içi gelişmeye devam ettiğinden, oluşan iç basınç sonucu tane çatlar ve çekirdekleri görünür (Şekil 1.5). Çatlama çekirdeksiz çeşitlerde olmaz. Çatlayan taneler kurur veya *B. cinerea* gibi fungusların etkisiyle çürürler. Renkli çeşitler olgunlaşma henüz başlamadan hastalığa yakalanırlarsa renklerini tam alamazlar, hasat sırasında yamalı bir görünüm alırlar. Beyaz çeşitlerde ise tanenin üzerinde kahverengi kırmızı bir renk oluşur. Böyle salkımların taze üzüm olarak satış değerleri düştüğü gibi kurutulduklarında da normal kehribar sarısı renklerini alamazlar, kalite değerleri düşer. Hasta şaraplık üzümlerden yapılan şarapların aroması da iyi olmaz (Halleen and Holz 2001).



Şekil 1.5. Bağda görülen külleme etmeni *U. necator*'un salkımdaki görünümü (Anonymous 2007)

1.9. Ekolojik Koşullar

Asma küllemesi daha çok yazları kurak geçen bölgelerde önemli olan bir hastalıktır. Bu bölgelerde külleme her yıl muntazam bir biçimde görülebilir ve önlem alınmazsa verim ve kaliteyi oldukça düşürebilir. Çevre koşullarından sıcaklık, hastalık gelişimi üzerinde en önemli etki yapan çevre faktörüdür. İnfeksiyon ve hastalık gelişimi için optimal

sıcaklık 20-27°C arasıdır. Bununla birlikte 6-32°C arasında fungal gelişme olabilir. Sıcaklık 35°C'nin üzerine çıktığında konidium çimlenmesi engellenir. 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ise bunlar 24 saat içinde ölürler (Halleen and Holz 2001).

Konidiumlar 25°C'de yaklaşık 5 saat içinde çimlenirler. İnokubasyon süresi 7-14 gündür, ancak 23-30°C arasında bu süre kısalarak 5-6 güne iner. Buna karşılık 7°C'de bu süre 32 günden fazla olur. Yeşil organlar üzerindeki külleme kolonileri de 36°C'de 10 saat içinde 39°C'de ise 6 saat içinde ölürler. Ascosporların sıcaklık ve nem istekleri üzerinde yeterli araştırma yoktur (Halleen and Holz 2001).

Çimlenmede rol oynayan diğer bir faktör de nemdir. Genellikle gündüz sıcak, akşam serin havalarda hastalık artışı görülür. Akşam saatlerinde nispeten nemli ve güneş ışığından korunmuş salkımlar üzerinde sporlanan Fungus, gündüz saatlerinde bu sporlarını (konidiumlarını) doğaya salar. Akşam saatlerinde ise bu konidiumlar çimlenme fırsatını bulurlar. Çimlenme yüzeyinde yağış veya çiğ gibi nedenlerle serbest bir su filmi bulunması çimlenmeyi azaltır ve anormal çimlenmeye ve hatta konidiumların muhtemelen aşırı turgor basıncı nedeniyle patlamasına yol açar.

Yağmur konidiumları yıkayarak veya miselyumu tahrip ederek hastalık gelişimini engeller. Genelde %40-100 oranında hava nemi konidiumların çimlenmesi için yeterlidir. Bununla birlikte %20 gibi oldukça düşük orantılı hava neminde dahi konidiumların %15′inin çimlendiği saptanmıştır. Genellikle yağmurdan önceki serin ve nemli havalar infeksiyon için daha uygundur. Nemin sporulasyon üzerine olan etkisi çimlenme üzerine olan etkisinden daha önemli görünmektedir. Örneğin 24 saat içinde olmak üzere %30-40 orantılı hava neminde 2, %60-70′te 3, %90-100 orantılı hava neminde ise 4-5 konidium oluştuğu gözlenmiştir (Halleen and Holz 2001).

Işık şiddetinin az olduğu bulutlu günler hastalık gelişimini teşvik edicidir. Parlak güneş ışığının konidium çimlenmesini engellediği bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada güneş ışığı altında yalnızca %16 oranında çimlenme görülürken, diffuz ışık (gölgeli ışık) altında bu oran %47 olarak belirlenmiştir (Halleen and Holz 2001).

1.10. Külleme Hastalığı ile Mücadele

1.10.1. Kültürel önlemler

Bu önlemler sayesinde hastalık şiddetini azaltmak ve yapılacak kimyasal savaşımın daha etkili olmasını sağlamak mümkündür.

1. Bağ tesisi sırasında sıraların hâkim rüzgâr yönünde yapılması daha iyi hava sirkülasyonunu temin eder.
2. İyi bir budama ve terbiye sistemi ile havalanmaya yardımcı olunduğu gibi, güneş ışığının omcaya daha iyi nüfuz etmesi de sağlanır.
3. Omcanın aşırı yapraklanmasını önlemek, enfeksiyon için uygun mikroklima koşullarını ortadan kaldırır ve fungusitlerin omcaya daha iyi nüfuz etmesini sağlar.

1.10.2. Kimyasal mücadele

Ticari bağlarda külleme ile savaşım esas olarak fungusit kullanımı ile yürütülür. Küllemenin en eski ve halen birçok ülkede en yaygın olarak kullanılan ilacı kükürttür. Kükürdün hem koruyucu ve hem de tedavi edici bir etkiye sahip olması bunun yanında ucuz olması tercihen kullanılmasını sağlar. Kurak iklimlerde toz kükürt, vejetasyon sırasında yağmur alan bölgelerde veya yağışlı ilkbaharlarda ıslanabilir kükürdün kullanımı uygundur (Anonim 2010).

Kükürdün fungusit etkisi daha çok buhar fazına geçmesi ile mümkündür. Kükürdün buharlaşması ve buharlarının etkinliği kükürdün tipine ve çevre koşullarına, özellikle sıcaklığa bağlıdır. Kükürdün en aktif olduğu optimal sıcaklık sınırları 25-30°C arasındadır. 18°C'nin altında fungusit etkisi görülmeyebilir. 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda fitotoksisite riski oldukça artar. 35°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda kullanılması önerilmez ve kükürt kurak havada nemli havaya göre daha etkilidir (Anonim 2010).

Külleme hastalığına karşı kullanılan diğer bir ilaç grubu ise sistemik fungusitlerdir. Bu fungusitlerin kullanımı artış göstermektedir. Bunun başlıca nedenleri arasında etmenin ergosterol sentezini etkileyerek onun aktivitesini durdurmaları, yağmurdan etkilenmemeleri (atıldıktan 4-6 saat kadar sonra bitkiye giriş tamamlanır) gibi özellikleri sayılabilir (Anonim 2010).

Ülkemizde ruhsatlı sistemik etkili preparatlar fenorimol, triadimefon, triadimenol, triflumizole, pencanazole, myclobutanil, hexaconazole, flusilazole ve nuarimol etkili maddelerini içerirler (Anonim 2010).

Hastalıkla savaşımda kullanılabilecek preparat sayısı oldukça fazladır. Burada önemli olan klasik (kükürt) ve sistemik fungusitleri bir ilaçlama programı içinde belirli bir stratejiye göre kullanmak ve böylelikle onlardan azami yararı sağlamaktır. Bu stratejide ilaçların fiyatları, etkinlikleri ve fungusun bunlara karşı dayanıklılık kazanma riski göz önünde tutulur. Sistemik etkili preparatlara karşı fungusun dayanıklılık kazanabileceği son araştırmalarla ortaya konmuştur (Anonim 2010).

Külleme hastalığına karşı bağda uygulanacak ilaçlama programı her şeyden önce bağın bir yıl önce geçirdiği infeksiyonun yoğunluğuna bağlıdır. Enfeksiyon yoğun olmuş ise ilaçlama sayısı artar ve ilaçlamalara daha erken başlanır. Buralarda uygulanabilecek bir program Çizelge 1.1'de verilmiştir (Anonim 2010).

Bir yıl önceki enfeksiyon şiddeti önemli seviyede olmamış ise çiçek öncesi ve çiçek sonrası ilaçlamalar ile yetinmek hastalığa karşı korunma için mümkün olabilir. Her üreticinin kendi edindiği tecrübe ve deneyimine göre karar vermesi, kışın budamadan önce bağını muhakkak dikkatli bir şekilde gezerek enfeksiyon yoğunluğunu (çubuklar üzerindeki kırmızı kahverengi külleme belirtilerinin yoğunluğunu) gözlemlemesi ve mevcut yıl için uygulayacağı ilaçlama programına karar vermesi gerekir (Anonim 2010).

İlaçlama Programı

Çizelge 1.1. İlaçlama programı

İlaçlama No	Gelişme Dönemi	Yaklaşık Tarih
1.	Sürgün 20-30 cm	Nisan başı-ortası
2.	İleri sürgün dönemi	Mayıs başı-ortası
3.	Çiçek öncesi dönem	Mayıs sonu
4.	İnce koruk dönemi	Haziran başı
5.	Koruk dönemi	Haziran ortası

Bu ilaçlamalarda kükürt ile sistemik fungusitlerin iyi bir şekilde kombine edilmesi gerekir. Sistemik fungusitler dayanıklılık riski göz önünde tutularak 2, en çok 3 kereden fazla kullanılmamalıdır. Kükürt kullanımı ihmal edilmemeli bu ilacın yaprak uyuzu gibi zararlılara karşı etkili olduğu unutulmamalıdır. Yağış tehlikesi varsa 3 no'lu ilaçlamada sistemik fungusit kullanılması yerinde olur. Mildiyö ilaçlaması ile külleme ilaçlaması birlikte yapılacaksa, karışım tablosuna uygun mildiyö ilacına WP kükürt karıştırılması önerilmektedir (Anonim 2010).

1.11. Kimyasal Pestisitlerin ve Gübrelerin Olumsuz Etkileri

Bitkilerde verim artışı sağlamak ve bitki hastalıkları ile mücadele etmek için, üreticiler tarafından en çok başvurulan yöntem şüphesiz kimyasal gübre ve pestisit kullanımıdır. Çabuk ve kesin sonuç vermesi kimyasal kullanımını cazip kılan en önemli nedenlerdir. Ancak insan sağlığına ve çevreye verdiği zarar ve maliyetin yüksek olmasından dolayı son yıllarda kimyasl kullanımına alternatif uygulamalar üzerinde çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Bağ dünya için önemli bir bitki olup; ülkemiz dünya üzüm üretiminde önemli bir paya sahiptir.

Manisa, ülkemizde üzüm üretiminde önemli bir yere sahip olup; bağ alanlarında görülen hastalıklara karşı yoğun bir ilaçlama yapılmaktadır. Özellikle de yoğun tarım

uygulamalarında aşırı kimyasal ilaç ve gübre kullanımı; tarımsal üretim sistemlerinin sürdürülebilirliğini riske atmış, doğal kaynakların insan sağlığını tehdit eder boyutlarda kirlenmesine, patojen ve zararlı etmenlerde ilaçlara karşı dayanıklılık riskinin oluşmasına sebep olmuştur. Bu nedenle tarımsal üretimde verimliliğin artırılması, toprakların fiziksel ve kimyasal yapısının iyileştirilmesi, insan sağlığının korunması ve çevre kirliliğinin önlenmesine katkıda bulunacak biyolojik ürünlerin (biopestisit ve mikrobiyal gübre) kullanımının gerekli olduğu artık bilinmektedir (Szekeres 2006).

Toprak ve su kaynaklarına daha az zarar veren, tarımsal kimyasallara daha az bağımlı olan çevre dostu stratejilerin kullanılmasına ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştırılmasına duyulan ihtiyaç küresel boyutlardadır. Buna mukabil sürdürülebilir tarım uygulamalarının anahtar elementlerinden birisi de, bitki korumada biyolojik mücadele etmenlerinin kullanımıdır (Szekeres 2006).

1.12. Biyolojik Mücadele

Biyolojik mücadele doğal ya da genetik modifiye organizmalar ve bunların ürettikleri metabolitler kullanılarak patojen veya zararlıların ortadan kaldırılması veya popülasyonlarının baskı altına alınmasıdır. Biyolojik mücadelede antibiyosis, rekabet, hiperparazitizm ve konukçu bitkilerin sistemik dayanıklılık mekanizmasının harekete geçirilmesi şeklinde 4 temel mekanizmadan oluşmaktadır (Kotan ve Şahin 2002).

Antibiyosis; herhangi bir organizmanın antibiyotik ve benzeri metabolitleri üretmek suretiyle diğer bir organizmayı engellemesi veya yıkıma uğratmasıdır. Bu mücadele mekanizması dayanıklılık riski taşımaktadır, ancak yine de bu yolla oluşan dayanıklılığın kimyasal kullanımı yolu ile oluşan dayanıklılığa nazaran çok daha yavaş olacağı muhakkaktır (Nikaido 1994). Çünkü biyolojik mücadelede kullanılan organizmalar kimyasallar gibi geniş bir alana yayılıp diğer organizmaları etkisi altına almamaktadır. Bu da dayanıklılığın oluşmaması için bir avantaj teşkil etmektedir. Ama uygun seleksiyon koşullarında biyolojik mücadele kullanılan organizmaların kontrol edemeyeceği strainlerin oluşması kaçınılmazdır (Davies 1994). Duyarlı populasyonlarda

ortaya çıkacak dayanıklılık horizontal gen transferi ya da mutasyonlarla oluşan dayanıklılığa da ender rastlandığından, biyolojik mücadele organizmalarının ticari preparatları kimyasallara nazaran daha uzun süre başarılı bir biçimde kullanılabilir (Spratt 1994).

Rekabet; iki veya daha fazla organizma arasındaki ortamdan yararlanma üstünlüğüdür. Bu rekabet besin elementleri, yer ve ısık gibi faktörler için söz konusu olabilmektedir. Bu mekanizmada karbon ve demir elementleri önemli rol oynar (Hendelsman and Stabb 1996). Bitkilerin kök bölgesinde kolonize olan organizmalar, bu bitkiler tarafından salgılanan eksudatları karbon kaynağı olarak kullanırlar. Kompleks yapıdaki bu karbonhidratları kullanabilme yeteneğine sahip organizmalar rekabette avantajlı duruma geçerler. Mikroorganizmalar demir ihtiyaçlarını karşılamak için siderefor denilen pigment proteinlerinden faydalanır. Özellikle demir bakımından zayıf olan topraklarda siderefor üretebilen mikroorganizmalar demir alımında üstünlük göstererek patojenleri baskılayabilirler (Leong 1986).

Hiperparazitizm; parazit bir mikroorganizmanın sekonder bir parazit tarafından parazitlenmesidir. Bu durumda konukçu ve parazit arasında kurulan yakın ilişki doğada yavas bir biçimde cereyan etmektedir. Parazitizmin esasının hücre duvarını parçalayan ya da eriten enzimlerin üretilmesine dayandığı bildirilmiştir (Hendelsman and Stabb 1996). Üretilen bu enzimler patojen organizmanın direkt ölümüne neden olur ya da rekabette biyolojik kontrol için kullanılan organizmaya avantaj sağlar. Bu mekanizma ile biyolojik mücadele çalışmalarının kontrollü şartlarda başarılı olduğu ancak arazi şartlarında çevresel faktörlerin etkisi ile aynı ölçüde verim elde edilemediği kaydedilmiştir (Hendelsman and Stabb 1996).

Bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasının harekete geçirilmesi ise 3 grupta ele alınır. Bunlar; çapraz koruma, uyarılmış sistemik direnç (ISR) ve sistemik kazanılmış direnç (SAR)'dir. Çapraz koruma; biyokontrol organizmalar tarafından konukçu doku içinde antibiyosis, rekabet, parazitizm gibi mekanizmalardan biri ya da bunların kombinasyonu ile patojen gelişiminin önlenmesidir (Bora ve Özaktan 1998). ISR bitkideki dayanıklılık

mekanizmasının patojen olmayan rizobakter izolatlarının köklerde kolonize olması ile tetiklenmesi, SAR ise dayanıklılık mekanizmasının nekrotik patojenler tarafından tetiklenmesidir (Aktas ve Güven 2005; Saygılı vd 2008). Biyolojik mücadele mekanizmalarının kullanımı ile patojenleri elemine etmeyi amaçlayan çalışmalar oldukça ilgi görmektedir. Ancak yüksek verim için fazla girdi kullanılan tarım sistemleri çevresel problemlere ve doğal kaynakların tükenmesine neden olmakta aynı zamanda da maliyeti yükseltmektedir.

Serbest yaşayan, bitki gelişimini teşvik eden, biyolojik mücadele veya biyolojik gübreleme amacıyla kullanılan bakterilere Bitki Gelişimini Tesvik Eden (Plant Growth Promoting Rhizobacteria; PGPR) bakteriler adı verilmektedir. PGPR bakterilerinin bitki gelişmesini teşvik mekanizmaları tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte bu bakterilerin oksin (Jeon *et al.* 2003; Aslantas *et al*. 2007), sitokinin (Timmusk *et al.* 1999; García de Salamone *et al.* 2001), giberallin (Gutiérrez-Mañero *et al.* 2001) ve etilen (Glick *et al.* 1995) gibi bitkisel hormonları üretebildiği, asimbiyotik olarak azotu (N) fiske ettiği (Şahin *et al.* 2004); mineral fosfatı (P) çözebildiği, organik fosfat ve diğer besin elementlerini mineralize ettiği (Jeon *et al.* 2003; Canbolat *et al*. 2006), siderofor, antibiyotik, enzim ve fungusit bileşikler sentezleyerek veya rekabet gibi mekanizmalarla patojenere karşı antagonistik etki gösterdiği (Dobbelaere *et al.* 2002; Dey *et al.* 2004) bilinmektedir.

Son yıllarda PGPR bakteri strainleri farklı bitkilerde kullanılmaya başlanmıştır. *Bacillus* ırkları ile yürütülen araştırmalarda, çeltik (Sudha *et al.* 1999), arpa (Çakmakçi *et al.* 1999), şeker pancarı (Şahin *et al.* 2004), buğday (De Freitas 2000), ve ıspanak (Çakmakçı *et al.* 2007b) veriminde önemli artışlar elde edilmiştir. PGPR inokulasyonu yazlık buğday (Walley and Germida 1997), marul (Barazani and Friedman 1999; Arkhipova *et al.* 2005), çilek (Kokalis-Burelle 2003) ve yerfıstığının (Dey *et al.* 2004) gelişmesini teşvik etmiştir.

Azot fikseri ve fosfat çözücü bakteri uygulamaları toprakta azot fiksasyonu yapan ve fosfat çözen bakteri sayısını, rizosferde N ve P miktar ve alımını artırmaktadır

(Canbolat *et al*. 2006; Çakmacı *et al*. 2007b). PGPR etkinliği, toprak organik madde içeriği başta olmak üzere toprak özellikleri, bitki ve bakteri çeşidi, ele alınan bitki parametreleri ve yetiştirilme koşullarına göre değiştiği ortaya konulmuştur (Çakmakçi *et al*. 2006). Karışık inokulasyon bakteri etkinliğini artırmakta ve besin elementlerin daha dengeli alınmasını sağlamaktadır (Çakmakçı 2002; Şahin *et al*. 2004).

PGPR bakterileri kullanılarak birçok hastalığın kontrol edilebildiği bilinmektedir (Kotan ve Şahin 2002). Yapılan bu çalışma ile; daha önce yapılmış olan farklı araştırmalarda yabani ve kültür bitkilerinin toprak altı veya toprak üstü aksamlarından izole edilen *Brevibacillus*, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Pantoea* cinsine dahil toplam onüç biyoajan bakteri izolatının farklı kombinasyonlarının bağ küllemesi hastalığının mücadelesinde arazi koşullarında etkinliklerinin test edilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Türkiye'de bağcılıkta fungal patojenler çok önemli zararlara sebep olmaktadır. Bağda görülen fungal hastalıkların belirlenmesine yönelik Ege Bölgesi'nde yapılan bir çalışmada; *Armillaria mellea, Rhizoctonia solani, Phythium* spp., *Diplodia natalensis, B. cinerea, Macrophomina phaseolina, U. necator, P. viticola* ve *Verticillium dahliae* türlerinin varlığı saptanmıştır (Arı vd 1995). Külleme hastalığı bağcılığın en önemli sorunlarından birisidir (Oran 1967; Arı ve Delen 1988; Albayrak vd 2002). Daha sonra yapılan farklı çalışmalarda; *Phaeoacremonium aleophilum* (Özben vd 2012a) ve *Cylindrocarpon macrodidymum*'un (Özben vd 2012b) varlığını rapor edilmiştir.

Wilcox (2003), bağda görülen külleme hastalığının bütün dünyada yaygın olduğunu ve bu fungusun ilk defa Kuzeydoğu Amerika'da görüldüğünü ve bağ tarımında bitkinin yaprak, sürgün, omca ve meyve üzerinde önemli derecede zararlı olduğunu bildirmiştir. Ülkemizde de bağlarda pek çok fungal patojen bulunmakta, külleme hastalığına ise hemen hemen üzüm yetiştiriciliği yapılan her bölgede rastlanmakta ve çok ciddi zararlar vermektedir. Yapılan bir çalışmada; bağ küllemesi hastalığı, Manisa'da tüm bağ alanlarında gerek bulunuş oranı, gerekse de yaygınlık olarak ilk sırada yer aldığı belirlenmiştir. Hastalığın bulunuş oranı ortalaması en yüksek Pişkidağ köyünde %20.82, en düşük Çatırtepe köyünde %9.66; yayılış oranı olarak da sürvey alanlarımızın %100'ünde görüldüğü belirtilmiştir (Albayrak vd 2002).

Külleme etmenleri oldukça geniş bir patojen grubunu içermekte olup çok sayıda konukçuda hastalık oluşturmaktadırlar. Ülkemizde Oran (1967) tarafından yapılan bir çalışmada; Orta Anadolu'nun bazı illerinde külleme hastalığı simptomları taşıyan bitki materyallerini toplamıştır. Sonuç olarak, bölgede 38 külleme mantarı türünü bulmuştur. Bu türlerden 4 tanesi *Sphaerotheca* Leveille, 3 tanesi *Podosphaera* Kunze, 18 tanesi *Erysiphe* De Candolle, 5 tanesi *Microsphaera* Leveille, 5 tanesi *Uncinula* Leveille, 2 tanesi *Phyllactinia* Leveille, 1 tanesi *Leveillula* Arn. cinslerine dahil külleme türleridir. Bu çalışmada belirlenen külleme mantarı türleri 225 adet konukçu bitki üzerinde tespit etmiştir. Bu konukçulardan 125 tanesi Türkiye'de ilk defa külleme mantarı konukçusu

olduğunu araştırmalar sonucunda bulmuştur. Ayrıca, 28 adet konukçu bitki üzerinde kesin olarak teşhisi yapılmayan bazı külleme mantarlarını tespit etmiştir. Rankovic (2000), Sırbistan'da yaptığı bir çalışmada külleme cinsi *Uncinula*'nın beş farklı türünü *Uncinula adunca* Lev., *Uncinula clandestina* Schroet., *U. necator* Burr., *Uncinula prunastri* Sacc., *Uncinula kusanoi* Syd. olarak teşhis etmiştir. Ayrıca bu beş türün 14 konukçu bitki üzerinde enfeksiyon oluşturduğunu gözlemiştir.

Wilcox (2003), bağda görülen külleme hastalığının omcanın tüm yeşil organlarında görüldüğü (yaprak, sap, sürgün, salkım), ilk gelişme döneminde genç yapraklarda hastalığı fark etmenin zor olduğu açıklanmıştır. Enfeksiyon yaprağın alt yüzünde yağ lekesi görünümünde belirdiği üst yüzünde renk açılması yaptığı ve yaprak yaşlandıkça parlak olmadığını gözlemiş olup, ileri dönemde yapraklar kirli-beyaz renkte kül serpilmiş gibi bir görünüm aldığını belirtmiştir. Misellerin çiçek, sülük ve salkım saplarında da aynı şekilde kirli beyaz ve tozlu bir görünüm yarattığı gözlemiştir. Ayrıca hastalığa erken yakalanan danelerin küçük kaldığı, olgunlaşmadan hemen önce yakalanan danelerin, sapı doğrultusunda çatladığı, meyve eti ve çekirdeklerin dışa fırladığını gözlemlemiştir.

Yürüt (1978); Orta Anadolu Bölgesinde bağ küllemesi hastalığına karşı primer enfeksiyon kaynağının miselyumlar olduğunu ve Orta Anadolu Bölgesi'nde primer enfeksiyonlarda fungusun eşeyli formunun önemli olmadığını belirtmiştir.

Ege Bölgesi'nde bu hastalığa karşı optimum koşullar oluşsun veya oluşmasın fenolojiye ve kullanılan ilacın etki süresine bağlı olarak her yıl en az 4 kez ilaçlama yapılması tavsiye edilmektedir. Ancak optimum şartlar oluşmadığı takdirde ilaçlama sayısında azalma olabileceği gibi optimum şartlar hüküm sürdüğünde ilaçlama sayısında artış da olabileceği düşünülmektedir. Fenolojiye dayalı ilaçlamalar hastalığı belli ölçüde baskı altında tutmaktadır. Ancak; hava yolu ile yayılan, biyolojisi ve savaşım yöntemleri bilinen hastalıklar için en uygun ilaçlama zamanının saptamak ve gereksiz ilaçlamalardan sakınmak için ilaçlamaların salt fenolojiye dayandırılması yetmemektedir. İlaçlamalar sırasında fenoloji yanında meteorolojik ve biyolojik

kriterlerin de hesaba katılması gerekmektedir (Erdiller 1992). Doğru zamanda doğru ilaç kullanımıyla ilaçlama sayısında azalma sağlanabileceğinden, hem ülke ekonomisine katkı sağlanacak hem de sürdürülebilir tarım açısından ekolojinin bozulması önlenecektir. Ayrıca sofralık ve şaraplık üzümlerde ortaya çıkan ilaç kalıntısı ve külleme hastalığından ileri gelen şarap kalitesinin bozulması önlenmiş olacaktır.

Üzümde fungal patojenlere karşı uygulanan fungusit uygulamalarının epifitik organizma populasyonlarında da çok ciddi azalmalara sebep olduğu belinmektedir. Yapılan bir çalışmada fungusit uygulaması yapılmayan üzümlerdeki mikrobiyal faunanın %76'sının bakteri, %14'ünün maya ve %9'unun ise fungal organizmalardan ibaret olduğu belirtilmektedir (Sholberg *et al.* 2006).

Külleme hastalıklarının mücadelesinde erken uyarı ve tahmin sistemleri de büyük önem arz etmektedir (Kast 1992). Almanya'nın Heilborn Bölgesi'nde 1300 ha araziye 1989 yılında iklim istasyonları yerleştirmiştir. Verilerin alınmasında zamanı çabuklaştırmak için bölgelerden gelen iklim verilerini merkezi bir bilgisayara toplamış ve bu networkun radyo ile bölgelere iletilmesini sağlamıştır. *U. necator'*un hastalık etkisi için risk enfeksiyonu her istasyonun bölgelerine duyurulmasını sağlamıştır. Egger vd (1995); yılında yapmış oldukları bir çalışmada bağ küllemesi hastalığının tahmin-uyarısı için yeni bir epidiyomojik model geliştirmişlerdir. Bu model çalışmasında 2 üzüm çeşidinde matematiksel bir model geliştirilmiştir. Bu model Ravalgi, Sall ve Delp'in tanımladığı önceki modelleri de içine almıştır. Model hava sıcaklığı ve yaprak ıslaklık saatlerinin ortalama sıcaklığı üzerine kurulmuştur. Modelde bir önceki yılda bağ küllemesi hastalığının bulaşması ve çeşitlerin hassaslığına göre özel bir katsayı tesbit edilmiş ve sonuçlar çok uygun bulunmuştur. Weber vd (1997); Kalifornia'da 1995 yılında geniş bir bölgede külleme hastalığına karşı geliştirilmiş bir tahmin modelini araştırılmıştır. Bu bölgedeki bağları içine alan hava istasyonları kurulmuştur. Külleme hastalığının risk değerlendirme verilerine göre üreticiler, 1-3 kez fungisit uygulayarak gelişme mevsiminde hastalığı durdurduklarını belirtmişlerdir. Berwith (1936); elma küllemesi etmeni *Podosphaera leucotricha* konidilerinin çimlenme gücünü ve enfeksiyon yapısını incelemiştir. Konidilerin çimlenmesi için uygun sıcaklığın 19–22°C olduğunu, bu

sıcaklıkta çimlenme oranının %5'i geçmediğini bildirmiştir. Yapraklar yaşlandıkça elma küllemesinin görülme riski artmaktadır. Bu mantarın tomurcuklarda misel halinde kışlayarak ertesi yılda etkili olduğunu bildirmiştir.

Ege Bölgesi'nde bağ alanlarından izole edilen *U. necator* (Schvvein) Burr. izolatlarının triadimefon (triazole), fenarimol, bupirimate (pyrimidin), benomyl ve carbendazim'e duyarlılıklarının araştırıldığı bir çalışmada; bu izolatların duyarlılık düzeyleri MIC (miselyum gelişimini engelleyen en düşük doz) değerlerine göre triadimefon, fenarimol ve benomyl'de 0.01-2.10 mg/ml, bupirimate'de 0.01-2.10 mg/ml, carbendazim'de ise 0.01-4.50 mg/ml arasında bulunmuştur (Arı ve Delen 1988). Aynı çalışmada benzimidazole grubu fungisitlere karşı çapraz dayanıklılık görüldüğü ve bu izolatların doğaya uyum yetenekleri ile duyarlılık azalışı arasında pozitif bir ilişkinin bulunduğu saptanmıştır.

Tarımda kimyasal pestisit ve gübrelere alternatif olarak kullanılabilecek faydalı mikroorganizmalar içerisinde bakteriler önemli bir yer tutmaktadır. Yapılan araştırmalarda normal bir tarım toprağının santimetre küpünde ortalama 90 milyon bakteri, 4 milyon aktinomiset, 200 bin fungus, 30 bin alg, 5 bin protozoa ve 30 adet nematot olduğu belirtilmektedir (McMillan 2007). Bu organizmaların bitkisel üretimin en temel girdilerinden olan toprakta bu kadar yoğun bir şekilde bulunmaları asla sebepsiz değildir. Rizosfer'den elde edilen bakterilerle toprak patojenleriyle mücadelenin yanısıra, bu bakteriler tohuma uygulandıklarında, bitki gelişimini ve verim parametrelerini de artırmaktadırlar (Kloepper *et al.* 1980; Elliot and Lynch 1984; De Freitas and Germida 1992; Dileep and Dube 1992). Bitki köklerinin rizosfer bölgelerinde bulunan bu bakterilere bitki gelişimini teşvik eden (Plant Growth Promoting Bacteria; PGPB) bakteriler adı verilmektedir. Bu bakteriler daha çok *Acinetobacter, Aereobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Artrobacter, Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Beijerinckia, Burkholderia, Enterobacter, Erwinia, Flavobacterium, Micrococcus, Paenibacillus, Pseudomonas, Rhizobium, Rhodobacter, Rhodosprilum, Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine aittir (Vessey 2003).

Hastalığa karşı kullanılan mücadele stratejileri değerlendirildiğinde, biyolojik mücadele yöntemlerinin de en az kimyasal mücadele kadar başarılı olduğu ve hatta bazı araştırma sonuçlarına göre kimyasal mücadeleyi geride bıraktığı tespit edilmiştir (Hökeberg *et al.* 1997; Kotan 1998; Cook *et al.* 2002; Kotan ve Sahin 2002; Oldaç vd 2002; Johansson *et al.* 2003; Stromberg *et al.* 2004; Byrne *et al.* 2005; Kamal 2008; Mirik vd 2008).

Ayrıca, patojenik olmayan mikroorganizmalar, özellikle bitki gelişimini uyaran rizobakterilerin özel ırklarının, bitkilerde çeşitli hastalıklara karşı sistemik dayanıklılığı uyarabileceği ve konukçuda bir kez dayanıklılığın uyarılmasından sonra, aynı konukçunun diğer hastalıklara karşı da dayanıklılık oluşabileceği bildirilmiştir (Wei *et al.* 1991; Van Loon *et al.* 1998).

Yine bitki hastalıklarıyla biyolojik mücadelede antagonist karışımlarının kullanılmasının, doğadaki mekanizmalara daha uygun olduğu, farklı şekillerde etki mekanizmasına sahip, sıcaklık, pH ve nem'e farklı yönlerde tolerans gösteren antagonist karışımlarının, daha geniş spektrumlu bir biyokontrol aktivitesi sağlayacağı ve birden fazla patojeni engelleyebileceği de belirtilmiştir (Pierson and Weller 1994).

Üzüm yapraklarında bakteri populasyonun oldukça yoğun olduğu, bu bakterilerin pek çoğunun da potansiyel biyoajan olarak üzüm yaprak ve meyvesindeki fungal patojenler ile bir mücadeleye girdikleri belirtilmektedir (Sholberg *et al.* 2006). Bağda fungal patojenlerin kontrolüne yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada; *Fusarium proliferatum* G6 izzolatının mikrokonidi süspansiyonu uygulaması ile *P. viticola*'nın sporangial oluşumunun %97 oranında önlenebildiği belirtilmiştir (Falk *et al.* 1996).

Yapılan bir diğer çalışmada organik üzüm yetişriciliğinde Myco-Sin + Basfoliar Aktiv + Champ formula 2 FLO + Kumulus DF + potassium waterglass + Fennel extract uygulamasının *U. necator* ve *P. viticola* patojenlerinin kontrolünde kullanılabileceği belirtilmiştir (Zezline *et al.* 2010).

Kiss (1998), Macaristan ve Romanya'da toplanan örneklerden külleme fungusunun miselleri içerisinde doğal olarak gelişen ve aynı zamanda külleme fungusunun biyolojik mücadelesinde kullanılan *Ampelomyces* spp.'i teşhis etmek için, Erysiphaceae familyasındaki türlerle enfekteli 41 konukçu bitki üzerinde ve 570 örnekte çalışmıştır. Bu mikoparazitin külleme türlerini %0,15–65 oranında enfekte ettiğini bildirmiştir.

Genel ve külleme bağ mücadelesine yönelik yapılan Serenade (*Bacillus subtilis* strain QST 713) isimli bir *Bacillus* straini ve AQ10 biofungicide bir fungal hyperparazit (*Ampelomyces quisqualis*) olan ticari preparatların bağ küllemesinin mücedelesinde kullanıldığı bildirilmiştir (Bull and Kokie 2005).

Tarla koşullarında farklı üzüm çeşitleriyle yürütülen bir çalışmada *Orthotydeus lambi*'nin sağladığı külleme baskılama oranının fungusit uygulaması yapılan parsellerle aynı olduğu, üzüm çeşidine göre *O. lambi*'nin etkinliğinin farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (English-Loab *et al.* 2007). Aynı çalışmada kullanılan çeşitlerden küllemeye daha hassas ve *O. lambi*'nin gelişimi için uygun yaprak yapısına sahip olan Chardonay çeşidinde hastalığın kontrole göre yaprakta %77 ve meyvede %95 oranında baskılandığı belirtilmiştir. *O. lambi*'nin etkinliğini belirleyen en önemli faktörün yapraklardaki domatia olarak adlandırılan yapıların sayısı ve büyüklüğünün olduğu, büyük domatiaya sahip yapraklarda, az ve küçük domatiaya sahip olan yapraklara göre *O. lambi* yoğunluğunun daha fazla olduğu ve buna bağlı olarak hastalık baskılama etkisinin de yüksek olduğu belirtilmiştir (English-Loab *et al.* 2007). Ülkemizde yapılan bir çalışmada da *O. lambi* (Baker) bağ küllemesi etmeni *E. necator* Schwein'un konidiospor ve miselyumlarında beslenmekte olduğu belirtilmiştir (Yanar vd 2013).

Biyolojik değeri oldukça fazla olan peynir altı suyu proteinlerinin insanlarda doğal ve modifiye edilmiş olarak antiviral etkilerinin olduğu birçok çalışma ile ortaya konulmuş olmakla beraber (Pan *et al.* 2006), külleme hastalıklarının ve bitki viruslarının kontrolünde de süte dayalı ürünlerin etkili olduğu da tespit edilmiştir. Crips *et al.* (2006) bağlarda önemli zarara yol açan bağ küllemesi hastalığına karşı peyniraltı suyu

kullanıldığını ve hastalığın kontrolünde antimikrobiyal karakterli laktoferrin protein'in etkili olduğunu bulmuşlardır.

Ülkemizde bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesine yönelik çok sayıda çalışma yıllardır yapılmasına rağmen henüz tescillendirilmiş hiçbir biyoperat bulunmamaktadır. Ticari preparatlar tescillendirilirken laboratuar ölçekli yapılan çalışmaların devamında tespit edilen biyoajan için katı ya da sıvı bir taşıyıcı geliştirilmesi gerekmektedir. Yayınlanan çalışmaların tamamı bu noktada kalmıştır. Yapılan bu çalışmada kullanılan bakteri formülasyonları için daha önce yapılan çalışmalarda Doç. Dr. Recep Kotan tarafından tescillendirilen BM-Mega Flu, BM-Coton Plus ve BM-Root Pan isimli mikrobiyal gübreler için geliştirilen sıvı taşıyıcının kullanılmış olması bu açıdan önemlidir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Yararlanılan cihazlar

Biolog mikroplate okuyucusu (Biolog, U.S.A., SN E11175)
Biolog turbudity (Biolog, U.S.A., SN 02071102)
Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)
Çalışma esnasında aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır.
Çalkalayıcı (Thermoshake, Gerhard, GERMANY, SN 4002319)
Derin dondurucu (Nuaire, U. S. A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K–476316-PK)
Hassas terazi (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42–90908239)
Hematoloji çalkalayıcısı (GERMANY, GEL–3025, SN 10365703 F)
İklimlendirme odası (Digital ayarlanabilir oda)
İnkübatör (Nüve, TÜRKİYE, ES 500, SN 03–0591)
Magnetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK–418, SN 05–1083)
Mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE)
Mikroskop (Olympus, JAPAN, B x 50, ODO4368)
Mini karıştırıcı (IKA, U.S.A., M51, SN 03017581)
Otoklav (Hırayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)
Otomatik pipetler (Eppendorf, GERMANY)
pH metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)
Saf su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)
Steril kabin (LABCAIRE)
Sterilizatör (Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN 303–3051)
Su banyosu (Nüve, TÜRKİYE, ST–402, SN 02–0138)

3.1.2. Çalışmada kullanılan besi yerleri ve çözeltilerin hazırlanışları

Araştırma süresince kullanılan besi yerlerinin ve çözeltilerin hazırlanışı ile ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir:

Nutrient agar: Hassas terazide 28 g nutrient agar karışımı (Oxoid) tartılarak 1 L dH_2O içerisine aktarılarak hazırlanan besi yeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilip soğumaya bırakılmıştır. Besiyeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987). Genel besi yeri olup bakterilerin izolasyonu yapıldıktan sonra çizgi veya yayma ekim yapımında kullanılmıştır.

Nutrient broth: Hassas terazide 13 g nutrient broth besiyeri tartılarak (Oxoid) 1 L dH_2O içerisine ilave edilip hazırlanan besi yeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987). Genel besi yeri olup saflaştırılan bakterilerin sıvı ortamda geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Trypticase soy broth agar (TSBA) besi yeri: Hassas terazide 15 g granüle agar (BBL#11849), 30 g Trypticase soy broth (BBL# 11768) tartılarak 2 L'lik bir erlenmayer içerisindeki 1 L dH_2O içerisine ilave edilip hazırlanan karışım, ısıtmalı magnetik karıştırıcı üzerinde agar çözülünceye kadar karıştırılmıştır. Karışım 121°C'de 15 dk süreyle otoklav edilerek steril edilen besi yeri 60°C'ye kadar soğumaya bırakılmıştır. Sonra steril kabinde petrilere dökülerek oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır (Klement *et al.* 1990). Genel besi yeri olup yağ asidi metil esterleri saflaştırılırken bakterilerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Trypticase soy broth (TSB) besi yeri: Hassas terazide 30 g trypticase Soy Broth besi yeri tartılarak (Oxoid) 1 L dH_2O içerisine ilave edilip hazırlanan besi yeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır (Klement *et al.* 1990).

Genel besi yeri olup saflaştırılan bakterilerin sıvı ortamda geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Stok besi yeri: 0,65 g nutrient broth karışımına 36 ml gliserol eklendikten sonra son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Otoklavda steril edildikten sonra aseptik şartlarda 2 ml'lik eppendorf tüplerine 1,2'şer ml olarak dağıtılmıştır. Bakterilerden stok kültür hazırlarken kullanılmıştır.

Hücre parçalama (Saponification) çözeltisi: 150 ml sdH_2O ve 150 ml metil alkol (HPLC Grade) 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, sonra katı formdaki sodyum hidroksit (ACS Grade)'den hassas terazide 45 g tartılarak çözeltiye ilave edilmiştir. Çözelti iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır (Şahin 1999).

Metilleştirme (Methylation) çözeltisi: 275 ml metil alkol (HPLC Grade) ve 325 ml hidroklorik asit (6 N) 1 L'lik renkli çözelti şişesi içerisine ilave edilmiş, çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır (Şahin 1999).

Saflaştırma (Exraction) çözeltisi: 200 ml metil-tert-butil-eter (HPLC Grade) 200 ml hexan (HPLC Grade) üzerine ilave edilerek 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmış, hazırlanan çözelti iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır (Şahin 1999).

Bazik Yıkama (Base Wash) çözeltisi: Hassas terazide katı formdaki sodyum hidroksitden (ACS Grade) 10,8 g tartılarak 900 ml sdH_2O içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmış, karışım 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmıştır (Şahin 1999).

%30'luk Gliserol: 30 ml gliserol 70 ml sdH_2O'ya ilave edilerek hazırlanan karışım otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir. Bakteri kültürlerinin muhafazasında kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları

Doç. Dr. Recep Kotan tarafından 1995 yılından başlayarak bugüne kadar yapılan çok sayıda araştırma sonucunda biyolojik mücadele ve bitki büyüme ajanı özelliğine sahip 7 bine yakın bakteri, ülkemizdeki çeşitli kültür ve yabani bitkilerin toprak üstü aksamı veya kök rizosferinden izole edilmiştir. Bu izolatların birçoğu daha önce yürütülen çalışmalarda fungal ve bakteriyel bitki patojenlerine karşı antagonistik aktiviteleri açısından test edilmiş ve etkili bulunmuşlardır (Kotan 1997; Kotan 2002; Kotan *et al.* 2004; Kotan and Şahin 2006; Kotan *et al.* 2009; Gökçe 2013; Gökçe ve Kotan 2014). Ayrıca bu izolatların fosfat çözme, azot fiksasyonu (Erman vd 2010), hormon ve amino asit üretimi bakımından (Turan *et al.* 2014) enkinlikleri de test edilmiştir. Bu çok sayıdaki izolatın içerisinden birçok özellikleri dikkate alınarak seçilen toplam 10 bakteri izolatı bu çalışmada kullanılmıştır. Bu izolatlar Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde Mikroorganizma Kültür Kolleksiyonunda muhafaza edilmektedir. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları Çizelge 3.1'de verilmiştir. Bu bakteri izolatları daha önceki çalışmalarda yağ asidi metil esterlerinin esas alan Microbial Identification System (MIS) kullanılarak tanılanmış; ancak bu çalışmadada yine MIS sistemi ve buna ilave BIOLOG sistemide kullanılmış sonuçlar teyit edilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan bakteri izolatları

İzolat no	Bakteri türü	Nerden izole edildiği	Kaynak
TV-20E	*Bacillus megaterium*	Ahududu	Erman vd 2010
TV-67C	*Bacillus pumilus*	Ahududu	Erman vd 2010
RK-43	*Bacillus pumilus*	Kiraz	Kotan, 2002
TV-85F	*Bacillus sphaericus*	Şeker pancarı	Erman vd 2010
TV-6F	*Bacillus subtilis*	Yabani buğdaygil	Erman vd 2010
RK-6	*Bacillus subtilis*	Elma	Kotan, 2002
TV-17C	*Bacillus subtilis*	Ahududu	Erman vd 2010
RK-341	*Bacillus subtilis*	Polen	Kotan, 2002
TV-72F	*Bacillus thuringiensis*	Sedum	Erman vd 2010
RK-342	*Brevibacillus brevis*	Armut	Kotan, 2002
RK-79	*Pantoea agglomerans*	Elma	Kotan, 2002
RK-304	*Pseudomonas chlororaphis*	Armut	Kotan, 2002
RK-255	*Pseudomonas fluorescens*	Armut	Kotan, 2002

3.1.4. Çalışmada kullanılan üzüm çeşidi

Çekirdeksiz üzüm Ege Bölgesi üreticilerinin en büyük geçim kaynaklarından birisi olmasının yanında adı ve kalitesiyle dünyada tanınmış olan geleneksel ihraç ürünümüzdür. Çalışmamız; Manisa ili Salihli ilçesi Karaoğlanlı köyü Gökdede mevkiinde tamamı 12 yaşında Sultani Çekirdeksiz (Şekil 3.1) kurutmalık üzüm asmalarından oluşan aile arazisinde gerçekleştirilmiştir. Bu çeşit verim ve gelişmesi iyi standart bir üzüm çeşididir. Salkımları orta irilikte (300-400 g) ve normal sıklıktadır. Taneleri küçük (1.2-1.8 g), yeşil-sarı renkte, ince kabukludur (Yılmaz vd 1997).



Şekil 3.1. Sultani çekirdeksiz kuru üzüm çeşidi görünümü

3.1.5. Çalışmada kullanılan sıvı taşıyıcı

Daha önce yürütülen çalışmalar sonucunda; Biomarket Tarımsal Bioteknolojik Ürünler Pazarlama Sanayi ve Ticaret Limitet Şirketi adına, Gıda Tarım ve Hayvanclık Bakanlığı'dan 02.01.2013 tarih ve 5943 Tescil Numarası ile BM-MegaFlu isimli bir karışım mikrobiyal gübre tescili almıştır. Bu ürün için sıvı taşıyıcı oluşturulurken Doç. Dr. Recep Kotan tarafından yürütülen çalışmalar sonucunda bakterilerin raf ömrü ve

taşıyıcının bitkiye toksik etkisinin olmaması gibi özellikler de dikkate alınarak bazı organik maddeler (deniz yosunu, peynir altı suyu ve bitkisel özütler), su, koruyucu ve homojenizasyonunu sağlayıcı çeşitli maddelerden (carboxymethylcellülose, kalsiyum karbonat, glyserin, magnezyum sülfat) oluşan bir sıvı taşıyıcı geliştirilmiştir. Bu taşıyıcının pek çok bakteri için çok uygun bir sıvı taşıyıcı olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada da bahsedilen ticari ürün için geliştirilen sıvı taşıyıcı kullanılmış olup; taşıyıcıda kullanılan maddelerin oranları ürünün içeriğinin gizliliği açısından verilmemiştir.

3.1.6. Çalışmada kullanılan bakteri formülasyonları

Çizelge 3.1'de verilen bakteri izolatlarının daha önceki çalışmalarda elde edilen biyokontrol özellikleri bakımından elde edilen sonuçları ve her bir izolata ait azot fiksasyonu, amino asit, organik asit ve/veya hormon üretim değerleri dikkate alınarak yapılan değerlendirmede 6 farklı kombinasyon oluşturulmuştur. Bu çalışmada kullanılan bakteri formülasyonlarının içerikleri ve kontrol uygulamaları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Formülasyonlarda kullanılan bakteri izolatları

No	Uygulamalar	İçeriği
1	Formülasyon A	RK-342 + TV-6 + RK-6
2	Formülasyon B	RK-342 + TV-17C + TV-85F
3	Formülasyon C	RK-342 + TV-20E + RK-304
4	Formülasyon D	RK-342 + TV-67C + RK-43
5	Formülasyon E	RK-342 + RK-255 + TV-72F
6	Formülasyon F	RK-342 + RK-79 + RK-341
7	Kontrol 1	Yalnızca sıvı taşıyıcı
8	Kontrol 2	Yalnızca ilaç uygulaması var

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışmada kullanılan bakteri kültürlerinin muhafazası

Her bakterinin 24 sa'lik saf kültüründen bir öze dolusu alınarak, içerisinde 500 µl %30'luk glycerol ve 500 µl LB Broth (1 L dH_2O'ya 10 g tryptone, 10 g NaCl ve 5 g yeast extract ilave edilerek hazırlanmıştır) bulunan eppendorf tüplere aktarılarak etiketlenmiş ve karıştırıcıda karıştırılarak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere –80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. İzolatların MIS sistemi ile yağ asiti profillerinin belirlenmesi ve tanılanması

Saflaştırılarak muhafaza edilen bakteri izolatlarının yağ asiti metil esterleri elde edilmiş, Mikrobial Identification Sistemi; MIS (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak tanılanmıştır (Şahin 1999).

3.2.2.a. Bakteri izolatlarının trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi

Test edilen bakteriyel izolatlar steril öze ile stok kültürden alınarak, TSBA katı besi yerine 3 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler, 24-48 saat süreyle 26°C'ye ayarlı bir inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.2.b. Yağ asidi metil esterlerinin saflaştırılması

İzolatların yağ asitlerini saf olarak izole edebilmek için 4 farklı çözelti kullanılmıştır. Bu çözeltiler sıra ile Hücre Parçalama (Saponification) çözeltisi (çözelti1), Metilleştirme (Methylation) çözeltisi (çözelti 2), Saflaştırma (Exraction) çözeltisi (çözelti 3) ve Bazik yıkama (Base Wash) çözeltisi (çözelti 4)'tür. Yağ asidi metil

esterlerinin saflaştırılmasında yukarıda bahsedilen çözeltiler kullanılarak aşağıdaki prosedür uygulanmıştır (Şahin 1999).

a) TSA besi ortamına 4 fazlı çizgi ekimi yapılarak geliştirilen 24 saatlik bakteri izolatlarının 3. ve 4. fazlarından canlı bakteri hücreleri steril öze ile toplanarak (40 mg), ağızları teflon kapaklı steril cam test tüplerine (5 ml) aktarılmış, test tüpleri etiketlenerek ağızları kapatılmıştır.

b) Test tüplerine 1 ml çözelti 1 ilave edilip, 5–10 sn çalkalanarak 5 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda bekletilmiştir. Çıkarılan tüpler tekrar 5–10 sn çalkalanarak 25 dk süreyle 100°C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

c) Test tüplerine 2 ml çözelti 2 eklenerek 5–10 sn'lik bir çalkalamadan sonra 80°C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil ilave edilirek, yağ asitlerinden yağ asit metil esterler elde edilmiştir.

d) Soğutulan tüplere 1,25 ml çözelti 3 eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısı ile çalkalamaya bırakılmıştır. Alt kısmında inorganik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz gözlemlenmiştir. Pasteur pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılarak organik faz muhafaza edilmiştir.

e) En son aşamada ise her tüpe 3 ml çözelti 4 ilave edilerek, 5 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısı ile çalkalandıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Tüp içerisinde yine 2 ayrı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml'lik gaz kromatografi tüplerine transfer edilerek ağızları teflon kapakla sıkıca kapatılmıştır.

3.2.2.c. Örneklerin mikrobiyal tanılama sistemi ile (MIS) analiz edilmesi

Yukarıdaki protokole göre hazırlanan örnekler MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra, cihazın kılavuzunda belirtilen programa izolatlar tanılanmıştır. Bütün örnekler için bu test 3 kez tekrar edilmiş ve en yüksek tanı oranını veren sonuçlar değerlendirmeye alınmıştır.

3.2.3. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitivity (HR)) testi

Çalışmada kullanılan bakteriyel izolatlar NA besiyerine çizilerek inkübasyona bırakılmıştır. 24 sa'lik kültürlerden öze ile alınarak sdH_2O içerisine aktarılan bakteriler vorteks cihazında karıştırılıp hazırlanan karışımın konsantrasyonu sdH_2O 10^8 CFU/ml'ye ayarlanmıştır. Elde edilen solüsyondan steril şırınga ile 2 cc'lik alınarak tütün (*Nicotina tabacum* L. var. Samsun) yapraklarının damarları arasına enjekte edilmiştir. Uygulama yapılan bitkiler bitki büyütme kabinlerinde %90 nemde ve 24-48 sa süreyle bekletilerek, inokulasyonun yapıldığı bölgelerde ölü doku (nekroz) oluşup oluşmadığı takip edilmiştir. Ölü doku oluşturan izolatlar HR pozitif (+), oluşturmayanlar ise HR negatif (–) olarak değerlendirilmiştir. Kontrol bitkilerinde sdH_2O kullanılmıştır (Klement *et al.* 1990).

3.2.4. Bakterilerin BIOLOG sistemi ile tanılanması

Bakteri izolatlarının BIOLOG sistemi yardımı ile metabolik enzim profillerinin belirlenmesi hem alternatif bir tanı hem de izolatların karakterizasyonunda kullanılmıştır. Aynı zamanda metabolik enzim profillerine bağlı olarak izolatların kullandıkları karbon kaynakları belirlenmiştir. Bu çalışmada sadece patojen oldukları belirlenen izolatlara BIOLOG yapılmış olup test edilen bakteriler Gram reaksiyonu özelliklerine göre gruplara ayrılmıştır. Gram Pozitifler BUG+M (Biolog Universal Growth Agar +%0,25 Maltoz) besiyerine, Gram Negatifler ise TSA besiyerine çizgi usulü ile ekilmiştir. Kültürler 30°C'de 16-24 saat süreyle inkübasyona bırakılarak oluşan koloniler eküvyon çubukları ile Salina Tampon Çözeltisine (%0,5'lik NaCl)

aktarılmıştır. Vortex cihazında karıştırılarak standart turbidity tüpüne göre konsantrasyonları 10^8 CFU/ml'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlardan pipet ile 150 mikrolitre alınarak mikroplate üzerindeki her bir çukurcuğa ilave edilmiştir. Mikroplateler 4-6 veya 16-24 saat süreyle 27-30°C'de inkübe edilmiş ve oluşan renklenme BIOLOG kinetik okuyucuda okutularak tanı sonuçları elde edilmiştir (Şahin 1999).

3.2.5. Taze bakteri kültürlerinin geliştirilmesi

Dondurulmuş bakteri kültürleri NA besi ortamı içeren petrilere 4 fazlı çizgi ekimle ekilerek saflığı kontrol edilmiştir. Tek bir koloniden alınarak yeniden NA besi ortamına ekilmiş, 27°C'de inkübasyona bırakılarak 24 saatlik taze kültürleri elde edilmiştir.

3.2.6. Taze kültürlerinin fermentöre transfer edilmesi

Gelişen taze kültürlerden bir öze dolusu bakteri kültürü agar ortamı yüzeyinden alınarak daha önce fermantörde hazırlanan ve otoklavda 121°C'de 20 dak steril edilmiş Nutrient Broth (NB) içeren sıvı besi ortamına aşılanmıştır. Yatay çalkalayıcılı inkübatörde bu kültürler 26°C'de 24 saat geliştirilmiştir.

3.2.7. Sıvı taşıyıcının biyoreaktörde buharla sterilizasyonu, soğutulması ve fermentör kültürlerinin biyoreaktörde sıvı taşıyıcıya transfer edilmesi

Sıvı besi ortamında geliştirilen bakteriler her bir formülasyonu içeren izolatlardan eşit hacimlerde karıştırılarak oluşturulan bakteri kültürü tamamen organik maddelerden oluşan ve buharla sterilizasyonu yapılan taşıyıcı sıvıya 1:10 oranında karıştırılarak aşılama yapılmıştır. Bakteri aşılaması yapılan organik sıvı taşıyıcılar yatay çalkalayıcılı inkübatörde 26°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Hazırlanan bu biyoformülasyonlar 1 litrelik steril plastik kutulara aktarılmış, numunelerin bir kısmı denemede kullanılmış bir kısmı ise buzdolabında muhafaza edilerek raf ömürlerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.2.8. Biyoreaktör ürününün paketlenmesi ve raf ömrünün belirlenmesi

Buzdolabında muhafaza edilen bakteri formülasyonlarının raf ömürleri belirlenmiştir. Bunun için seri dilüsyonlar hazırlanarak gelişen toplam bakteri sayıları belirlenmiştir. Her sayımın başında; önce seri dilisyonlar hazırlamak için içerisine 9'ar ml deiyonize su konulan cam tüpler, ağızları pamuk tıkaçla kapatılarak otoklavda siteril edilmiştir. Saklanan ürünlerden steril koşullarda birer adet çıkarılarak, ürün iyice çalkalandıktan sonra kapağı dikkatlice açılacak, 10 ml örnek alınarak steril erlenlere aktarılmış buradan tekrar iyice çalkalanarak alınan 1 ml örnek bakteri sayımı için hazırlanan ilk tüpe aktarılmıştır. Buradan başlanarak her defasında iyice çalkalanarak alınan 1 ml örnek bir sonraki tüpe aktarılarak formülasyonların seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her dilisyondan ayrı ayrı 100 ml alınarak 3 petriye ekim yapılmıştır. Kültürler 27°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Burada sayım yapılacak petrilerde ortalama olarak en az 30-40 en çok 200-250 koloni olmasına dikkat edilmiştir. Bulunan koloni sayısı 3 petrinin ortalamasından elde edilmiştir. Sayımın yapıldığı dilüsyon katsayısı ile çarpılarak toplam sayı bulunmuştur (kob/ml). Bakteri konsantrasyonunun $1x10^8$ kob/ml olarak belirlendiği en son süre ürünün raf ömrü olarak değerlendirilmiştir.

3.2.9. Bakterilerin uygulanması

Hazırlanan bakteri içerikli biyoformülasyonlar klorsuz kuyu suyu ile 100 kat seyreltilerek hazırlanan bakteri süspansiyonu içerisine 1/40 oranında (Kg/L) yapıştırıcı olarak şeker ilave edilmiş ve iyice karıştırılarak 1 gece bekletilmiştir. Kontrol olarak bakteri inokule edilmemiş sıvı taşıyıcı kullanılmıştır.

3.2.10. Deneme deseni ve denemenin kurulması

Çalışma tesadüf parselleri deneme deseninde faktöriyel düzenlemeye göre kurulmuştur. Denemede 6 bakteri formülasyonu ve 2 kontrolden oluşan 8 uygulama test edilmiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Deneme deseni

	1. SIRA		2. SIRA		3. SIRA
1	Formülasyon A1	**1**	Formülasyon F1	**1**	Formülasyon C1
2	Formülasyon A2	**2**	Formülasyon F2	**2**	Formülasyon C2
3	Formülasyon A3	**3**	Formülasyon F3	**3**	Formülasyon C3
4	Formülasyon A4	**4**	Formülasyon F4	**4**	Formülasyon C4
5	Formülasyon A5	**5**	Formülasyon F5	**5**	Formülasyon C5
6	Formülasyon B1	**6**	Formülasyon E1	**6**	Formülasyon D1
7	Formülasyon B2	**7**	Formülasyon E2	**7**	Formülasyon D2
8	Formülasyon B3	**8**	Formülasyon E3	**8**	Formülasyon D3
9	Formülasyon B4	**9**	Formülasyon E4	**9**	Formülasyon D4
10	Formülasyon B5	**10**	Formülasyon E5	**10**	Formülasyon D5
11	Formülasyon C1	**11**	Formülasyon D1	**11**	Formülasyon E1
12	Formülasyon C2	**12**	Formülasyon D2	**12**	Formülasyon E2
13	Formülasyon C3	**13**	Formülasyon D3	**13**	Formülasyon E3
14	Formülasyon C4	**14**	Formülasyon D4	**14**	Formülasyon E4
15	Formülasyon C5	**15**	Formülasyon D5	**15**	Formülasyon E5
16	Formülasyon D1	**16**	Formülasyon C1	**16**	Formülasyon B1
17	Formülasyon D2	**17**	Formülasyon C2	**17**	Formülasyon B2
18	Formülasyon D3	**18**	Formülasyon C3	**18**	Formülasyon B3
19	Formülasyon D4	**19**	Formülasyon C4	**19**	Formülasyon B4
20	Formülasyon D5	**20**	Formülasyon C5	**20**	Formülasyon B5
21	Formülasyon E1	**21**	Formülasyon A1	**21**	Kontrol 2-1
22	Formülasyon E2	**22**	Formülasyon A2	**22**	Kontrol 2-2
23	Formülasyon E3	**23**	Formülasyon A3	**23**	Kontrol 2-3
24	Formülasyon E4	**24**	Formülasyon A4	**24**	Kontrol 2-4
25	Formülasyon E5	**25**	Formülasyon A5	**25**	Kontrol 2-5
26	Formülasyon F1	**26**	Formülasyon B1	**26**	Formülasyon A1
27	Formülasyon F2	**27**	Formülasyon B2	**27**	Formülasyon A2
28	Formülasyon F3	**28**	Formülasyon B3	**28**	Formülasyon A3
29	Formülasyon F4	**29**	Formülasyon B4	**29**	Formülasyon A4
30	Formülasyon F5	**30**	Formülasyon B5	**30**	Formülasyon A5
31	Kontrol 1-1	**31**	Kontrol 2-1	**31**	Kontrol 1-1
32	Kontrol 1-2	**32**	Kontrol 2-2	**32**	Kontrol 1-2
33	Kontrol 1-3	**33**	Kontrol 2-3	**33**	Kontrol 1-3
34	Kontrol 1-4	**34**	Kontrol 2-4	**34**	Kontrol 1-4
35	Kontrol 1-5	**35**	Kontrol 2-5	**35**	Kontrol 1-5
36	Kontrol 2-1	**36**	Kontrol 1-1	**36**	Formülasyon F1
37	Kontrol 2-2	**37**	Kontrol 1-2	**37**	Formülasyon F2
38	Kontrol 2-3	**38**	Kontrol 1-3	**38**	Formülasyon F3
39	Kontrol 2-4	**39**	Kontrol 1-4	**39**	Formülasyon F4
40	Kontrol 2-5	**40**	Kontrol 1-5	**40**	Formülasyon F5

*(1: Kontrol 1 (Bakteri ve ilaç uygulanmamış), 2: Kontrol 2 (İlaç uygulanmış-Bakteri uygulanmamış), 3: Formülasyon A, 4: Formülasyon B, 5: Formülasyon C, 6: Formülasyon D, 7: Formülasyon E ve 8: Formülasyon F)

3.2.11. Deneme deseninin uygulanması ve değerlendirilmesi

Çalışma bağ küllemesi hastalığının etmeni olan *U. necator* fungusunun doğal inokulasyonlarına karşı yürütülmüştür. Bu hastalık bölgede her yıl çok yaygın olarak görülmektedir. Sultani üzüm çeşidinde kurulan denemede kültürel işlemler bütün uygulamalarda aynı zamanda ve eşit olarak yapılmıştır. Uygulamalar 3 kez bitkinin fenolojik dönemleri dikkate alınarak yapılmıştır. 1. İlaçlama: Çiçekten önce, sürgünlerin 25–30 cm olduğu dönemde Penconazole etken maddeli preparat 100 lt su/ 25 ml, 2. İlaçlama: Çiçek taç yapraklarının döküldüğü ve korukların saçma tanesi iriliğinde olduğu dönemde Metrafonone etken maddeli preparat 100 lt su/ 20 ml, 3. İlaçlama ise: İkinci ilaçlamadan 10 gün sonra Carbendazim etken maddeli preparat 100 lt su/ 60 gr uygulanmıştır.

Değerlendirmeler son ilaçlamadan 20 gün sonra yapılmıştır. Araştırma da oluşturulan tesadüf parsel gruplarında bulunan 5 asmanın her birinden ayrı ayrı 20'şer adet, toplamda bir deneme deseninden 100 adet rastgele yaprak seçilerek yapılmıştır. Seçilen yapraklar 1-5 skalasına göre hiç hastalık belirtisi görülmeyen yapraklara 1 değeri, hastalığın maksimum görüldüğü yapraklara 5 değeri verilmiştir. Bağ küllemesi hastalığında yaprak için değerlendirme skalası Çizelge 3.4'de verilmiştir (Anonim 1996).

Çizelge 3.4. Bağ küllemesi hastalığında yaprak için değerlendirme skalası

Skala Değeri	Hastalığın Tanımı
1	Yaprakta hiç leke yok
2	Yaprakta 1-2 leke mevcut
3	Yaprakta 3-5 leke mevcut
4	Yaprakta 5-10 leke mevcut
5	Yaprakta 10 ve daha fazla leke mevcut

3.2.12. Bakteri formülasyonlarının raf ömürlerinin belirlenmesi

Hazırlanan bakteri formülasyonları karanlık bir yerde oda sıcaklığında muhafaza edilerek raf ömürlerinin belirlenmesi için aylık toplam bakteri sayımları yapılmıştır. Her sayımın başında; önce seri dilisyonlar hazırlamak için içerisine 9'ar ml deiyonize su konulan cam tüpler, ağızları pamuk tıkaçla kapatılarak otoklavda siteril edilmiştir. Saklanan ürünler steril koşullarda çıkarılarak, ürün iyice çalkalandıktan sonra kapağı dikkatlice açılarak, 10 ml örnek alınarak steril erlenlere aktarılmıştır. Buradan tekrar iyice çalkalanarak alınan 1 ml örnek bakteri sayımı için hazırlanan ilk tüpe aktarılmıştır. Buradan başlanarak her defasında iyice çalkalanarak alınan 1 ml örnek bir sonraki tüpe aktarılarak formülasyonların seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Her dilisyondan ayrı ayrı 100 ml alınarak 3 petriye ekim yapılmıştır. Kültürler 27°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Burada sayım yapılacak petrilerde ortalama olarak en az 30-40 en çok 200-250 koloni olmasına dikkat edilmiştir. Bulunan koloni sayısı 3 petrinin ortalaması ile elde edilmiştir. Sayımın yapıldığı dilüsyon katsayısı ile çarpılarak toplam sayı bulunmuştur (kob/ml). Bakteri konsantrasyonunun $1x10^7$ kob/ml olarak belirlendiği en son süre ürünün raf ömrü olarak değerlendirilmiştir.

3.2.13. İstatistik analizler

Sonuçlar SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 9.0)'de analiz edilmiş, uygulamaların aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Uygulamalar arasındaki farklığının önem derecesini belirlemek için Duncan testi yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bakteri Tanı Sonuçları

Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının MIS ve BIOLOG tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir. MIS tanı sonuçlarına göre; TV-20E izolatı *Bacillus megaterium*, TV-67C ve RK-43 izolatları *Bacillus pumilus*, TV-85F, TV-6F, RK-6, TV-17C, RK-341 izolatları *Bacillus subtilis*, RK-342 izolatı *Brevibacillus brevis*, TV-72F izolatı *Bacillus thuringiensis*, RK-79 izolatı *Pantoea agglomerans*, RK-304 izolatı *Pseudomonas chlororaphis* ve RK-255 izolatı ise *Pseudomonas fluorescens* olarak tanılanmıştır. BIOLOG tanı sonuçları ise RK-342 ve RK-304 izolatları hariç diğer tüm bakterilerde MIS tanı sonucu ile tam bir benzerlik göstermiştir. MIS sisteminde *Brevibacillus brevis* olarak tanılanan RK-342 izolatı BIOLOG sisteminde *Bacillus licheniformis*; *Pseudomonas chlororaphis* olarak tanılanan RK-304 izolatı ise *Pseudomonas marginalis* olarak tanılanmıştır. MIS benzerlik indeksleri 0.589-0,886 arasında; BIOLOG benzerlik indeksleri ise 43-76 arasında değişmiştir. Çalışmada kullanılan bütün bakteri izolatlarının tütünde aşırı duyarlılık (HR) test sonuçları negatif çıkmıştır.

Çizelge 4.1. Bakteri izolatlarının MIS ve BIOLOG tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri

İzolat no	MIS tanı sonucu	Bİ	BIOLOG tanı sonucu	Bİ	HR
TV-20E	*Bacillus megaterium*	0.774	*Bacillus megaterium*	65	-
TV-67C	*Bacillus pumilus*	0.645	*Bacillus pumilus*	66	-
RK-43	*Bacillus pumilus*	0.886	*Bacillus pumilus*	57	-
TV-85F	*Bacillus subtilis*	0.665	*Bacillus subtilis*	64	-
TV-6F	*Bacillus subtilis*	0.851	*Bacillus subtilis*	53	-
RK-6	*Bacillus subtilis*	0.754	*Bacillus subtilis*	76	-
TV-17C	*Bacillus subtilis*	0.687	*Bacillus subtilis*	68	-
RK-341	*Bacillus subtilis*	0.865	*Bacillus subtilis*	56	-
RK-342	*Brevibacillus brevis*	0.589	*Bacillus licheniformis*	43	-
TV-72F	*Bacillus thuringiensis*	0.640	*Bacillus thuringiensis*	57	-
RK-79	*Pantoea agglomerans*	0.760	*Pantoea agglomerans*	50	-
RK-304	*Pseudomonas chlororaphis*	0.884	*Pseudomonas marginalis*	54	-
RK-255	*Pseudomonas fluorescens*	0.654	*Pseudomonas fluorescens*	47	-

Bİ: Benzerlik indeksi, **HR:** Tütünde aşırı duyarlılık testi, **-:** Negatif sonuç

4.2. Arazi Çalışmaları ve Sonuçları

Son uygulamadan 20 gün sonra yapılan değerlendirmede; bakteri ve kontrol uygulamalarının bağda külleme hastalık şiddeti üzerine (1-5 skalasına göre) etkisi Çizelge 4.2'de verilmiştir. Sonuçlar her sırada önce ayrı ayrı verilmiş ve daha sonra üç sıranın ortalaması alınmıştır. Bu sonuçlara göre; her üç sırada da en düşük hastalık şiddeti ilaç uygulamasından elde edilmiş olup; istatistiki olarak da tüm uygulamalarla karşılaştırıldığında önemli bulunmuştur. En yüksek hastalık şiddeti ise sıvı taşıyıcının uygulandığı kontrol 1 uygulamasından elde edilmiş olup; kontrol 1 uygulaması da bütün bakteri uygulamaları ile karşılaştırıldığında bakteri uygulamalarının tamamından yüksek bulunmuş ve istatistiki olarak da önemli çıkmıştır. Bakteri uygulamalarının hastalık şiddeti üzerine etkinliği 1. sırada sırası ile formülasyon E (1.15), F (1.16), B (1.32); 2. sırada formülasyon B (1.00), F (1.10), E (1.15); 3. sırada ise formülasyon E (1.12), A (1.39), F (1.40) olmuştur. Ancak, bu uygulamaların arasındaki farklılıklar her üç sırada da istatistiki olarak önemsiz çıkmıştır. Bakteri uygulamalarının tamamı sıvı taşıyıcının uygulandığı kontrol 1 uygulamasına göre hastalık şiddetinde önemli düşüşlere sebep olmuştur.

Her üç sıranın ortalamasına göre ise; en düşük hastalık şiddeti kontrol 2 (ilaç uygulaması) uygulamasından (0,09), en yüksek hastalık şiddeti ise kontrol 1 (sıvı taşıyıcı) uygulamasından (3,84) elde edilmiştir. Bakteri uygulamalarında ise; en düşük hastalık şiddeti formülasyon E uygulamasından (1,14) elde edilmiş ve bunu sırası ile formülasyon F (1,22) ve formülasyon B (1.25) uygulamaları takip etmiştir. Her üç uygulama arasındaki farklılıklar istatistiki olarak da farksız çıkmıştır. Uygulamalar ile ilgili görseller Şekil 4.1-7'de verilmiştir. Kontrol 1 (Şekil 4.2) ve Formülasyon E (Şekil 4.4) uygulamasındaki yaprak ve meyvede oluşan külleme simptomunun belirgin bir şekilde ne kadar önlendiği görülmektedir. Kontrol 2 (ilaç) uygulamasında da külleme simptomu görülmemiştir (Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. Bakteri ve kontrol uygulamalarının bağda külleme hastalık şiddeti üzerine (1-5 skalasına göre) etkisi

Uygulamalar	Hastalık şiddeti (1-5 skalası)*			
	Birinci sıra	İkinci sıra	Üçüncü sıra	Ortalama
Formülasyon A	1,88±0,34 d	1,50±0,47 c	1,39±0,41 bc	1,59±0,44 c
Formülasyon B	1,32±0,13 b	1,00±0,00 b	1,45±0,18 bc	1,25±0,23 b
Formülasyon C	1,72±0,24 cd	1,68±0,30 c	1,62±0,29 c	1,67±0,26 c
Formülasyon D	1,45±0,24 bc	1,48±0,20 c	1,63±0,31 c	1,52±0,25 c
Formülasyon E	1,15±0,11 b	1,15±0,05 b	1,12±0,06 b	1,14±0,07 b
Formülasyon F	1,16±0,08 b	1,10±0,06 b	1,40±0,28 bc	1,22±0,21 b
Kontrol 1 (sıvı taşıyıcı)	3,55±0,35 e	3,89±0,20 d	4,10±0,07 d	3,84±0,32 d
Kontrol 2 (ilaç)	0,07±0,05 a	0,09±0,05 a	0,12±0,06 a	0,09±0,05 a
Gruplar ortalaması	1,53±0,94	1,48±1,04	1,60±1,08	1,54±1,02
F değeri	94,327	115,530	101,906	246,385

Formülasyon A (RK-342+ TV-6F+ RK-6); Formülasyon B (RK-342+ TV-17C+ TV-85F); Formülasyon C (RK-342+ TV-20E+ RK-304); Formülasyon D (RK-342+ TV-67C+ RK-43); Formülasyon E (RK-342+ RK-255+ TV-72F) ve Formülasyon F (RK-342+ RK-79+ RK-341)
*Aynı sütundaki aynı harfle gösterilen uygulamalar arasında istatistiki olarak farklılık bulunmamaktadır (p=0.05).



Şekil 4.1. Uygulamanın yapıldığı bağ alanından bir görünüm



Şekil 4.2. Kontrol 1 (sıvı taşıyıcı) uygulamasından genel bir görünüm



Şekil 4.3. Kontrol 2 (ilaç) uygulamasından genel bir görünüm



Şekil 4.4. Formülasyon E uygulamasından genel bir görünüm



Şekil 4.5. Kontrol 1 (sıvı taşıyıcı) uygulamasından meyve ve yaprakdan bir görünüm



Şekil 4.6. Kontrol 2 (ilaç) uygulamasından meyve ve yaprakdan bir görünüm



Şekil 4.7. Formülasyon E uygulamasında meyve ve yaprakdan bir görünüm

4.3. Bakteri Formülasyonlarının Raf Ömrü

Bakteri formülasyonlarında yapılan aylık bakteri sayım sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir. Formülasyon B ve D'de 7. aya kadar koloni oluşturan bakteri sayıları $1x10^7$ kob/ml'nin üzerinde olurken, diğer formülasyonların tamamında bu 8. aya kadar sürmüştür. En yüksek etkinliğin sağlandığı formülasyon E uygulamasında 8. aydaki bakteri sayısı $1,1x10^7$ kob/ml olarak sayılmıştır. Bundan sonraki sayımlarda 9 ve 10. ayda bakteri sayısı $1x10^7$ kob/ml'nin altına düşmüştür.

Çizelge 4.3. Bakteri formülasyonlarındaki aylık toplam bakteri sayıları (10^7 kob/ml)

Formülasyonlar	**Aylık bakteri sayım sonuçları (10^7 kob/ml)**								
	1. ay	**2. ay**	**3. ay**	**4. ay**	**5. ay**	**6. ay**	**7. ay**	**8. ay**	**9.ay**
Formülasyon A	63	43	22	11	4,8	3,2	2,3	**1,1**	0,8
Formülasyon B	54	33	20	12	8,3	5,4	**1,4**	0.8	0,6
Formülasyon C	49	27	17	15	7,8	4,8	2,8	**1,0**	0,5
Formülasyon D	52	28	15	10	5,3	3,3	**1,3**	0,7	0,2
Formülasyon E	65	43	34	12	5,4	3,4	2,3	**1,1**	0,8
Formülasyon F	55	45	32	13	5,6	4,4	2,2	**1,7**	0,6

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bağlardaki hastalık ve zararlılardan kaynaklanan kayıpların önüne geçilmesi, bağlardaki topraktan beslenme sorununun halledilmesi anlamında dünyadaki yeni yaklaşım, kimyasallara alternatif yeni yöntemlerin geliştirilmesi olmuştur. Bu yöntemler içerisinde en çok üzerinde durulan ise; tarımda kimyasal gübre ve pestisitlere alternatif olarak faydalı mikroorganizmaların kullanımıdır. Bu mikroorganizmalar içerisinde bakteriler önemli bir yer tutmaktadır. Bağcılıkta gerek abiyotik faktörlerden gerek hastalık ve zararlı etmenlerden kaynaklanan verim kayıpları büyük boyutlara ulaşabilmektetir. Bu kayıpların azaltılması için pestisit ve kimyasal gübre uygulamaları yoğun bir şekilde yapılmaktadır. Bu da insan ve çevre sağlığına verdiği zararların yanısıra üzüm tarımının sürdürülebilirliği açısından ciddi riskler oluşturmaktadır. Bu yüzden pestisit ve kimyasal gübre uygulamalarına alternatif teşkil edecek yöntemlerin geliştirilmesi bakımından mutlak surette uygulanabilir çalışmalara gerek duyulmaktadır.

Bu faydalı organizmaların mikrobiyal gübre ve biyo-pestisit olarak tarımda kullanımına yönelik dünyada çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Yapılan bu çalışmalar sadece bilimsel bir makale olarak yayınlanmakla kalmamakta günlük hayatta kullanımına yönelikte patentler, tesciller alınarak piyasaya sürülmektedir. TÜBİTAK'ın 2003 tarihli Tarım ve Gıda Paneli Son Raporunda; bazı yörelerde aşırı sulama, gübreleme, kimyasal madde ve tarımsal savaşım ilaçlarının kullanımı önemli çevre ve sağlık sorunları ortaya çıkardığı belirtilmiştir. Çözüm olarak da; tarımda kullanılan kimyasal ilaçların çevreye ve insan sağlığına olumsuz etkilerini azaltacak mikrobiyal gübre ve biyopestisitlerin geliştirilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Bitkiler çeşitli fitopatojenik funguslar tarafından saldırıya uğrarlar. Uzun yıllar boyunca, sentetik fungusitler bitki hastalıklarını kontrol etmek için kullanılmıştır. Sentetik fungusitler son derece etkili olmakla birlikte, bunların aşırı ve bilinçsiz bir şekilde kullanımı sonucu; çevre kirliliği, patojenlerde direnç geliştirme ve üründe toksik kalıntı bırakma gibi sorunlara yol açmıştır. Bu yüzden alternatif yöntemler üzerinde durularak gerek mikrobiyal orjinli gerekse de bitkisel orjinli biyopestisitler geliştirme yönünde

yoğun çalışmalar yapılmış ve bunların birçoğu da ticari ürüne dönüştürülerek dünya piyasalarına sunulmuştur (Yoon *et al.* 2013).

Ülkemizde de biyolojik mücadele çalışmaları uzun yıllardır yapılmaktadır. Ancak henüz bir ticari biyoformülasyon geliştirilememiştir. Yapılan çalışmalarda bullanılan biyoajanlar laboratuar koşullarında üretilerek denemelere alınmıştır. Mikrobiyal biyopestisitlerin ticari kullanıma sunulabilmesinde yapılan en önemli çalışmalardan birisi de etkili biyoajan için uygun bir taşıyıcının geliştirilmesidir. Doç. Dr. Recep Kotan danışmanlığında yürütülen çalışmalarda Biomarket Tarımsal Bioteknolojik Ürünler Pazarlama Sanayi ve Ticaret Limitet Şirketi tarafından Gıda Tarım ve Hayvanclık Bakanlığı'dan BM-MegaFlu, BM-CotonPlus ve BM-RootPan isimli üç karışım mikrobiyal gübre tescili almıştır. Bu ürünler için sıvı taşıyıcı oluşturulurken uzun süre yürütülen laboratuar çalışmaları sonucunda bazı organik maddeler, su ve koruyucu maddeler kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada da taşıyıcı olarak yukarıda bahsedilen ürünler için geliştirilen sıvı taşıyıcı kullanılmıştır. Direk uygulamaya akatarılabilir bir çalışma olması açısından bu çalışma önem arz etmektedir. İleride yapılacak toksisite çalışmaları ve farklı lokasyon ve doz uygulamaları ile ticarileştirilebilecek bir ürün geliştirilmiş olması açısından da oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

Biyolojik mücadele çalışmalarında çok sayıda izolatın önce petri ortamında patojene karşı etkinliği test edildikten sonra buradan seçilen izolatlar ile arazi çalışmaları yürütülür. Yapılan bu çalışma daha önce çok farklı türdeki fungal patojenlere karşı yürütülen in vitro çalışmalarında petride antifungal aktivitelerinin olduğu belirtilen izolatlar arasından seçilen bakteriler ile direkt arazi çalışması olarak patojene karşı etkinlikleri test edilmiştir. Fakat *U. necator* obligat bir patojen olduğu için laboratuar koşullarında suni besi ortamlarında geliştirilemez. Bu nedenle çalışmamızı direkt olarak in vivo ortamda gerçekleştirilmiştir. Monteiro *et al.* (2005) yaptıkları bir çalışmada bu patojen ile enfekteli üzüm yapraklarında fenolik bileşiklerin oranında bir azalma olduğu ve özellikle tanin bileşiklerinin suni besi ortam içeriklerine ilavesi ile bu patojenin kültüre alınabilmesine imkan sağlayacağını vurgulamıştır. Ancak *U. necator* ile

enfekteli yapraklardaki fenolik bileşiklerden tanin oranının azalmış olması aynı zamanda patojen yoğunluğunun ve dolayısı ile hastalık şiddetinin de dolaylı bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada hastalık şiddeti değerlendirmesi yapılmış fakat yapraklardaki fenolik bileşiklerin oranına bakılmamıştır. Ancak ileride yapılacak daha kapsamlı çalışmalarda hastalık şiddeti değerlendirmesine ek olarak üzüm yapraklarındaki fenolik bileşiklerin oranına da bakılması biyoajanların mekanizması hakkında da önemli ip uçları vereceği düşünülmektedir.

Üzümde küllemenin yanı sıra pek çok fungal patojenin de ciddi enfeksiyonlar yaparak büyük verim kayıplarına sebep olduğu bilinmektedir. Bu yüzdende her patojen için farklı etkili maddeli ilaç uygulamaları ile bu hastalıkların önüne geçilmeye çalışılmaktadır. Yapılan bu çalışmada biyoajan uygulamarında hiçbir patojen için ayrıca kimyasal bir mücadele yapılmamıştır. Külleme hastalık şiddetinde çok ciddi azalmaların olduğunun belirlenmesinin yanı sıra diğer fungal hastalıkların da enfeksiyon oluşturmadığı görülmüştür. Üzümde fungal patojenlere karşı uygulanan fungusit uygulamalarının epifitik organizma populasyonlarında da çok ciddi azalmalara sebep olduğu belirtilmektedir (Sholberg *et al.* 2006). Yapılan bir çalışmada fungusit uygulaması yapılmayan üzümlerdeki mikrobiyal faunanın %76'sının bakteri, %14'ünün maya ve %9'unun ise fungal organizmalardan ibaret olduğu belirtilmektedir (Sholberg *et al.* 2006). Çok açık bir şekilde bakteri populasyonun oldukça yoğun olduğu görülmektedir. Bu bakterilerin pek çoğunun da potansiyel biyoajan olarak üzüm yaprak ve meyvesindeki fungal patojenler ile bir mücadeleye girdikleri ve yapılacak kimyasal ilaçlamalar ile bu faydalı mikrobiyal populasyonlarının da yok edilmesi ile mikrobiyal ekolojinin sürekli patojenler lehine bozulduğu düşünülmektedir. Bu yüzden yapılan bu çalışmada etkili bulunan bakteriyel formülasyonların bir çok patojene karşı etkili olması ve daha çevreci bir yöntem olması açısından çok önemlidir.

Potansiyel biyoajanların geniş patojen grubuna karşı etkili olmaları biyolojik mücadelede önemli bir avantaj olduğu kaydedilmiştir (Colyer and Mount 1984; Whipps 1992; Zeller and Wolf 1996; Kotan 1997; Kucheryava *et al.* 1999). Bu çalışmada etkili bazı biyoajan bakteri izolatlarının, bakteriyel ya da fungal farklı patojen gruplarına karşı

etkili oldukları daha önce yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir (Kotan *et al.* 2000; Kotan 2002; Kotan and Şahin 2006; Kotan *et al.* 2009). *B. brevis* biyoajan bakterisinin *Botrytis cinerea, Sphaerotheca fuliginea* ve *Pythium ultimum*'u da içine alan geniş bir bitki patojeni fungus türüne karşı etkili olduğu; biyoajanın etki mekanizmasının ise gramicidin S isimli bir antifungal metabolit üretmesi ve bitkide yüzey ıslaklık süresini azaltan biosürfaktan üretmesi olduğu belirtilmektedir (Seddon *et al.* 2000). Yapılan bu çalışmada; biyoformülasyonlar oluşturulurken bütün biyoformülasyonlarda bu tür kullanılmıştır. Biyoajan içeren formulasyon uygulamalarının etkinliklerinin birbirine çok yakın çıkmasının sebebinin de bütün formulasyonlarda bu bakterinin kullanılmış olmasından kaynaklandığı sanılmaktadır.

Wilson (1997); son yıllarda toprak üstü hastalıklarının biyolojik mücadelesinde bakteriyel biyoajanların kullanımına yönelik çalışmaların sayısının hızla artmakta olduğunu belirtmiştir. *P. fluorescens* A506 izolatından geliştirilen BlightBan A506™ ticari ürünü ateş yanıklığına karşı başarılı bir şekilde kullanılabilmiştir. Fungusitlerden kaynaklanan sorunlar büyüyünce fungal hastalıkların da biyolojik kontrolüne yönelik çalışmalar yapılmış ve başarılı sonuçlar da alınmıştır. Üzüm ve çilekte yapılan çalışmalarda *Trichoderma* ve *Gliocladium* türleri *B. cinerea*'ya karşı etkili bulunmuştur. *T. harzianum* T39 izolatı Trichodex™ ismi ile ticarileştirilerek bağlarda gri küfe karşı kullanılmıştır. *A. quisqualis* AQ10 izolatı ise AQ(10)™ ticari ismi ile tescillendirilmiş ve *U. necator*'a karşı kullanılmaktadır. Bağda fungal hastalıklara karşı geliştirilen ürünlerin büyük bir kısmını yine patojenik olmayan fungal organizmalar oluşturmaktadır. Üzüm yapraklarında bakteri populasyonun oldukça yoğun olduğu, bu bakterilerin pek çoğunun da potansiyel biyoajan olarak üzüm yaprak ve meyvesindeki fungal patojenler ile bir mücadeleye girdikleri belirtilmektedir (Sholberg *et al.* 2006). Bu bakımdan bu çalışmada bağ küllemesinin kontrolünün bakteriyel biyoajanlarla başarılabilmesi önemlidir.

Yapılan bir diğer çalışmada ise; *A. quisqualis* fungal parazitinin *U. necator*'un üzüm yapraklarında oluşturdukları cleistotheciumlarında kışı geçirerek bir sonraki yılda oluşacak primer inokulum kaynağında %50-60 oranında bir azalmaya sebep olabileceği;

dolayısı ile bağda külleme hastalığının kontrolünde önemli bir potansiyel organizma olduğu belirtilmektedir (Falk *et al.* 1995).

Tydeidae familyası türlerinin bazıları bitki zararlısı, bazılarının ise böcek ve akarlar üzerinde predatör olduğu bilinmesine rağmen büyük bir çoğunluğu funguslar ve çürümekte olan artıklar üzerinde beslenirler. Bazı türleri fakültatif predatör iken bazıları bitki paraziti akarların kontrolünde kullanılabilecek önemli bir biyolojik kontrol etmeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Tydeid'lerin beslenme davranışları yüksek oranda varyasyon göstermekte olup, *Homeopronematus anconai* (Baker), gibi bazı türler predatördür. *Lorryia formosa* Cooreman gibi bazı türler afit ve benzeri böceklerin salgılarında beslenirken funguslarla beslenen türlerde bulunmakta olup, *O. lambi* (Baker) bağ küllemesi etmeni *E. necator* Schwein'un konidiospor ve miselyumlarında beslenmektedir (Yanar vd 2013).

Yapılan bir çalışmada; *T. harzianum* strain P1'den elde edilen iki kitinolitik enzimin *B. cinerea, Ustilago avenae, U. necator* ve *Fusarium solani* gibi bazı bitki fungal patojenine karşı etkinliği test edilmiş ve hedef patojenlerin hücre duvarındaki kitin miktarı ile biyoajanın etkinliği arasında doğru bir orantının olduğu tespit edilmiştir (Broadway *et al.* 1993). Bu çalışmada kullanılan bazı bakterilerin kitinaz enzimi ürettikleri daha önce yapılan çalışmalarda belirlenmiş olup (Şenol 2014); kitinaz enziminin bu çalışmada da etkili bakteri izolatlarının etkinliğindeki önemli mekanizmalardan birisi olduğu düşünülmektedir.

Diğer bir çalışmada ise; *Pseudomonas* ve *Enterobacter* cinslerine dahil bazı potansiyel biyoajan bakteri izolatlarından elde edilen kültür filtratları ile *T. harzianum* P1 izolatından elde edilen iki kitinolitik enzimlerinden oluşan farklı kombinasyonların *B. cinerea, F. solani* ve *U. necator*'a karşı antifungal aktiviteleri için test edilmiş ve bakterilerin patojen hücre duvarlarına ortamda kitin varlığında çok kolayca bağlayabildiği dolayısı ile kitinolitik enzim üretimden sorumlu genlerin bakterilere aktarılması ile çok daha başarılı sonuçların alınabileceği belirtilmektedir (Lorito *et al.* 1993). Bu çalışmada etkili bulunan formülasyonları oluşturan bakteri izolatlarının

mekanizmalarının tam olarak aydınlatılmasından sonra bazı biyoteknolojik yöntemler ile etkinliklerinin artırılabileceği de düşünülebilir.

Son yıllarda bitki hastalıklarının kontrolünde kullanılan biyolojik preparatlardan birisi de bitkisel ekstre ve uçucu yağlardan oluşan biyopestisitlerdir. Yapıla bir çalışmada; *Reynoutria sachalinensis* ekstresinden geliştirilen Milsana ® VP ve *Pseudozyma flocculosa* bitkisi ekstresinden geliştirilen Sporodex ® formülasyonları kullanılarak bağ küllemesinin kontrolünde potansiyel biyopestisit olabildikleri belirtilmiştir. Hatta bu biyopestisitlerin kükürt bileşikleri ile dönüşümlü kullanımının etkinliği daha da artırdığı belirtilmiştir (Konstantinidou-Doltsinis *et al.* 2007).

Külleme hastalığının kontrolünde organik madde bakımından zengin olan bazı uygulamaların yapraktaki faydalı bakteriyel faunanın populasyonunu olumlu yönde etkileyerek patojen populasyonunu baskı altına alarak hastalık gelişiminde çok ciddi düşüşlerin olduğu bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada; olgunlaştırılmış çay kompostunun üzümde yaprak ve meyve uygulamalarının *B. cinerea* ve *U. necator*'un kontrolünde başarılı olduğu belirtilmiştir (Evans *et al.* 2013). Bu çalışmada da bakteri uygulamalarında kullanılan sıvı taşıyıcı içerisindeki besinlerden dolayı bitki yüzeyindeki epifitik mikroorganizma popülasyonunda başlangıçtaki popülasyona göre önemli artışların olduğu ve bu mikroorganizmaların fungusların kontrolünde rol oynadıkları düşünülmektedir. Benzer bir şekilde süt uygulamasının da bitkilerdeki patojenik olmayan mikroorganizma çeşitliliğini artırarak mildiyö hastalık etmenlerinin kolonizasyonlarında belirgin bir azalmanın olduğu ve bundan dolayı hastalığın belli ölçüde kontrol altına alınabildiği belirtilmiştir (Medeiros *et al.* 2012). Her iki çalışmada bitki fungal hastalıklarının kontrolünde epifitik patojen olmayan organizma popülasyonun ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada kullanılan sıvı taşıyıcı içerisindeki peynir altı suyunda bakterilerin etkinliğini tetiklemiş olabileceği sanılmaktadır.

U. necator'un üzümün dormant haldeki tomurcuk pullarında misel olarak kışı geçirebildiği belirtilmektedir (Khiavi *et al.* 2012). Bu çalışmada etkili bulunan

bakteriyel biyopretların sonbahar uygulaması ile kışlayan misel popülasyonunda da önemli düşüşlere sebep olarak hastalığı kontrol altına alabileceği ve ilkbahardaki primer inokulum kaynaklarında önemli azalmalara sebep olacağı düşünülmektedir. Geliştirilecek biyopestisitin etkinliğinin artırılabilmesinde uygulama dozu, uygulama zamanı ve uygulama şeklinin belirlenmesine yönelik çalışmaların yapılması gereği vardır. İlkbahar uygulamalarına ilave olarak sonbaharda yapılacak uygulamaların patojenin kışlama zincirine olabilecek olumsuz etkilerinden dolayı külleme hastalığının kontrolünde ürünün etkinliğini daha çok artırabileceği sanılmaktadır.

U. necator 6 ile 33°C arasında çimlenirken konidi çimlenmesi ve hastalık gelişimi için en uygun sıcaklık 24-25°C'dir (Willocquet *et al.* 1996), ancak 32°C'nin üzerinde konidi çimlenmesi engellenmekte ve 40°C'nin üzerinde ise konidiler ölmektedir (Delp 1954). Patojenin gelişimi ve hastalık oluşturması için gerekli optimum sıcaklık koşulları, bu çalışmada etkili olan *B. brevis, P. agglomerans* ve *P. fuorescens* türüne ait biyoajanlarının gelişimi için de uygun sıcaklıklardır (Jung *et al.* 2002; Arana *et al.* 2010). *U. necator* fungusunun çimlenmesi ise 12 ile 30°C arasında 30 sa'de tamamlanmaktadır (Delp 1954). Çimlenme sürecini çok hızlı bir şekilde tamamlayan patojenin uygun çevre koşullarında epidemik boyutta zarara sebep olması da kaçınılmazdır. Bu yüzden, patojenin çimlenerek bitki dokusu içine girmeden uygulanacak biyoajanların bitki dokusuna kolonize olarak populasyonunu artırması ile biyoajanların patojene karşı sürekli bir koruyucu bariyer görevi üstleneceği düşünülmektedir. Sülfür, *U. necator* için geliştirilen ilk etkili fungusit olup en etkili olduğu sıcaklık değeri de 25-30°C arasındadır (Bulit and Lafon 1978). Ancak, bu sıcaklık değerlerinin üzerinde uygulanması sonucunda yapraklarda yanmalara sebep olmaktadır. Üzüm yetiştiriciliğinin yoğun olarak yapıldığı bölgelerde yaz sıcaklıkları çoğu zaman 35°C'lere varmakta olduğu düşünülünce biyoajan uygulamalarının daha çevreci bir yaklaşım olmasının yanı sıra etkinlik açısından da pestisit uygulamalarına göre çok daha avantajlı olduğu söylenebilir.

B. brevis, P. fuorescens ve *P. agglomerans* bakteri izolatlarının havadaki serbest azotu fikse ederek bitki gelişimine de önemli katkılar sağladığı belirtilmektedir (Potrikus and

Breznak 1977; Bashan 1998; Mirabal *et al.* 2000). Yapılan in-vitro çalışmalarında biyopestisit formulasyonlarında kullanılan bakterilerin azot fiksasyonu yapabildikleri veya fosfatı çözebildikleri belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda; külleme hastalığına karşı etkili olduğu belirtilen formulasyonların tamamının içeriğinde *B. brevis*, *P. fuorescens* ya da *P. agglomerans* bakteri izolatlarının bulunması önemli bir avantaj oluşturmaktadır. Çünkü, bağ küllemesi için geliştirilecek biyopestisitin aynı zamanda bitki gelişimine de önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Nitekim, Karagöz (2009) yapmış olduğu bir çalışmada bakteriyel organizmalar kullanarak, marulda bakteriyel leke hastalığını kontrol ederken aynı zamanda marul gelişimi üzerine de bu biyoajanların önemli katkılar sağlayarak yaş ve kuru ağırlık artışına sebep olduğunu belirtmiştir. Hem biyoajan hem de bitki gelişimi üzerine etkili organizmaların tarımda kullanılması büyük katkılar sağlayacaktır.

Yapılan bir çalışmada; *P. putida*, *P. fluorescens* ve *P. agglomerans* izolatlarının antifiriz proteini üretmelerinden dolayı hücre süspansiyonlarının suyun donma derecesini düşürdükleri belirlenmiştir (Lee *et al.* 1995). Hatta kurbağadan izole edilebilen bu bakterinin kurbağanın kışın çok düşük sıcaklıkta dahi donmadan hayatını devam ettirmesinde önemli rol oynadığı belirtilmektedir (Lee *et al.* 1995). Nunes *et al.* (2001) yaptıkları bir çalışmada *P. agglomerans* strain CPA-2'nin soğuk depo şartlarında armutlarda problem oluşturan *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum*'a karşı çok iyi koruma sağladığını tespit etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında, kullanılan bakteri izolatların antifiriz proteini üretimleri ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Ancak, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü ile birlikte fasulyede don zararına karşı etkili bir biyopratın geliştirilmesi amacı ile yürütülen ve halen devam eden bir çalışmada *P. agglomerans* RK-79 izolatının antifiriz proteini ürettiği belirlenmiştir. Bu izolat 6 nolu formulasyonda kullanılmıştır. Bu formulasyonun özellikle kayısı gibi don zararına sıklıkla maruz kalan bitkilerde etkinliğinin ileride yapılacak çalışmalarda mutlaka denenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Üzümdeki bakteriyel faunanın belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada; *Enterococcus*, *Bacillus* s, *Burkholderia*, *Serratia* ve *Staphylococcus* cinslerine ait

türlerin yoğun bir şekilde bulunabildiği belirtilmiştir (Barata *et al.* 2012). Aynı çalışmada; abiyotik etmenlerden sıcaklık, yağmur, dolu gibi faktörlerin yanısıra böcek ve kuş populasyon yoğunluklarının da hastalık şiddetini etkileyen önemli faktörler olduğu belirtilmektedir. Söz konusu bu faktörlerin biyoajanların etkinliğinde de önemli rol oynayacağı düşünülmektedir. Bu yüzden; bu çalışmada çok başarılı olarak görülen bakteriyel formülasyonların mutlaka farklı lokasyonlarda da test edilmesi ve iklimsel verilerin de mutlaka kayıt edilerek biyoajan etkinliği ile iklimsel veriler arasında bir korelasyonun olup olmadığı, bir korelasyon var ise hangi iklimsel verilerin biyoajan etkinliğinde çok daha önemli rol oynadığının da araştırılması gerekmektedir.

Meteorolojik verilerin de çok önemli olmasının yanısıra; asmada külleme enfeksiyonları için en kritik fenolojik dönemlerin salkım çıkması, çiçeklenme ve meyve oluşumu olarak belirtilmektedir. Bu fenolojik verilere ait birçok bilginin hastalığın enfeksiyon risk indeksinin belirlenmesinde kullanılabileceği belirtilmektedir (Fernandez-Gonzalez *et al.* 2013). Bundan dolayı biyoajan uygulamasında salkım çıkışı öncesi yapılacak uygulamalar mutlaka önem arz etmektedir. Yapraklarda ilk külleme simptomları görülür görülmez uygulamaya başlamalı ve 7-10 gün arayla yapılacak en az 3-4 uygulamanın biyoajanların etkinliği açısından önemli olacaktır. Bu çalışmada da toplam 3 uygulamada elde edilen hastalık şiddetindeki önemli düşüşlerin uygulama sayısının artırılması ile daha da iyi sonuçların alınabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak yapılan bu çalışmada, bakteri içeren sıvı formülasyonlardan özellikle formülasyon B (*Brevibacillus brevis* RK-342 + *Bacillus subtilis* TV-17C + *Bacillus sphaericus* TV-85F), E (*Brevibacillus brevis* RK-342 + *Pseudomonas fluorescens* RK-255 + *Bacillus thuringiensis* TV-72F) ve F (*Brevibacillus brevis* RK-342 + *Pantoea agglomerans* RK-79 + *Bacillus subtilis* RK-341) uygulamalarının külleme hastalığının gelişimini önemli ölçüde önlediği ve bu biyoformülasyonların bağ küllemesi hastalığının kontrolünde biyopestisit olarak kullanılabileceği görülmüştür. Farklı doz, farklı uygulama zamanı ve farklı uygulama sayısının belirlenmesine yönelik ileride yapılacak daha detay çalışmalardan sonra, biolojik ürünlerin tescillendirilmesi ile ilgili yönetmelikte istenilen toksisite testlerin de tamamlanması ile geliştirilecek

biyopestisitin bağlarda külleme hastalığının kontrolünde başarılı bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Agrios, G. N., 1997. Plant pathology. Department of Plant Pathology, University of Florida, Academic Press, page 635.

Ağaoğlu, Y. S., 1986. Bağcılık. Türkiye İş Bankası Yayınları. Sevinç Matbaası. Ankara, 23.

Aktas, L.Y. and Güven, A., 2005. Bitki savunma sistemlerinde hormonal sinyal moleküller ve çapraz iletişimleri. Çankaya Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Journal of Arts and Sciences, 3, 1-12.

Albayrak, S., Turak, S., Gökçe, A.Y. and Bozbek, Ö., 2002. Erzincan ili bağlarında fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesi üzerinde ön çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 42 (1-4), 81-90.

Anonim, 1996. Zirai Mücadele Standart İlaç Deneme Metodları. Cilt 2, Ankara, 224-226.

Anonim, 2002. Türkiye'de zirai mücadelenin dünü bugünü ve geleceği, Tarım ve Köyisleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, sayfa 1.

Anonim, 2008. http://www.tarimsalbilgi.org/forums/fitopatoloji/bag-hastaliklari-ve-mucadelesi/ Erişim Tarihi (23.02.2014).

Anonim, 2009. Bağda Külleme. Bitki Koruma Bülteni. http:// bitkikoruma. wordpress. com/2009/08/17/bagda-kulleme/

Anonim, 2010. Bağ Entegre Mücadele Teknik Talimatı. Ankara, 6-7.

Anonim, 2012. http://www.etarim.net/bilgi-bankasi/bag-kullemesi-*Uncinula-necator*-hastaligi.html/ Erişim Tarihi (23.02.2014).

Anonim, 2013. http://www.bagcilik.gov.tr/urun/files/ Erişim Tarihi (20.02.2014)

Anonymous, 2007. http://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum/ Erişim Tarihi (23.03.2014).

Anonymous, 2012. http://faostat.fao.org/site/567/ Erişim Tarihi (23.02.2014).

Anonymous, 2014. https://www.apsnet.org/publications/imageresources/Pages/1-15.aspx/ Erişim Tarihi (23.02.2014).

Anonymous, 2014. http://www.cals.ncsu.edu/course/pp318/pm/*Uncinula*.html/ Erişim Tarihi (23.02.2014).

Antcliff, A.J., 1992. Taxonomy the grapevine as a member of the plant Kingdom (Ed.B.G.Coombe and P.R. Dry, Viticulture Volume 1 Resources, Hyde Park Press, Adelaide, 107-117.

Arana, I., Muela, A., Orruno, M., Seco, C., Garaizabel, I. and Barcina, I., 2010. Effect of temperature and starvation upon survival strategies of *Pseudomonas fuorescens* CHA0: comparison with *Escherichia coli*. FEMS Microbiol Ecology, 74, 500–509.

Arı, M. and Delen, N., 1988. Studies on the fungicidc scansrüvity of vine mildew *Uncinula necator* (Schwein) Burr.) in Aegean Region of Turkey. Journal of Türkish Phylopathology, 17, 19-30.

Arı, M., Kapkın, A. ve Öz, S., 1995. Ege bölgesi bağ fidanlıklarında görülen fungal hastalıklar üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 35, 3-4.

Arkhipova, T.N., Veselov, S.U., Melentiev, A.I., Martynenko, E.V. and Kudoyarova, G.R., 2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and

toinfluence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. Plant Soil, 272, 201-209.

Armano, K., 1986. Host range and distribution of the powdery mildew fungi. Japan Scientific Press. Tokyo. 741 pp.

Aslantas, R., Çakmakçi, R. and Sahin, F., 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. Scientia Horticulturae, 111, 371-377.

Barata, A., Malfeito-Ferreira, M. and Loureiro, V., 2012. Internatıonal journal of food microbiology. The Microbial Ecology of Wine Grape Berries, 153, 243-259.

Barazani, O. and Friedman, J., 1999. Is IAA major root growth factor secreted from plant-growth mediating bacteria? Journal of Chemical Ecology, 25(10), 2397-2406.

Bashan, Y., 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances, 16 (4), 729-770.

Benlioğlu K. ve Özakman M., 1998. Bağ üretim materyalinde kök uru etmeni *Agrobacterium tumefaciens*'in saptanması. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 22, 167-174.

Berwith, W.D., 1936. Apple Powdery Mildew. Phytopathology, 26 (2), 1071-1703.

Biscay, P. ve Badr, A., 2001. Effect of pruning time of application of gibberellic acid and girdling on yield, berry size and fruit composition of melisa table grapevine. ASEV 52nd Annual Meeting, San Diego, California.

Bora, T. ve Özaktan, H., 1998. Bitki Hastalıkları ile Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, İzmir, sayfa 95.

Blumer, S., 1933. Die Erysiphacean Miitteleuropas. Verlang von Gebr. Fretz.A.G., Zürih, 483 pp.

Broadway, R.M., Lorito, M., Harman, G.E., Hayes, C.K., Tronsmo, A., Woo, S.L. and Dipietro, A., 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma-Harzianum* - antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. Phytopathology, 83, 302-307.

Bull, C.T. and Koike, S.T., 2005. Evaluating the efficiacy of commercial products for management of bacterial leaf spot lettuce on lettuce. Plant Health Progress, november, 1-7.

Bulit, J. and Lafon, R., 1978. Powdery Mildew of the Vine. In: Spencer. D.M. (ed.) The powdery mildews. Academic Press. New York, 525-548.

Byrne, J.M., Dianese, A.C., Ji, P., Campbell, H.L., Cupples, D.A., Louws, F.J., Miller, S.A., Jones, J.B. and Wilson, M., 2005. Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. Biological Control, 32, 408-418.

Caudwell, A. and Dalmasso, A. 1985. Epidemiology and vectors of grapevine viruses and yellows diseases. Phytopathologia Mediterranea, 24, 170-176.

Canbolat, M., Bilen, S., Çakmakçı, R., Sahin, F. and Aydın, A., 2006. Effect of plant growth promoting rhizobacteria and soil compaction on barley seedling growth, nutrient uptake, soil properties and rhizosphere microflora. Biology and Fertility of Soils, 42, 350-357.

Carbonneau, A., Leclaır, Ph., Dumartın, P., Cordeau, J. and Roussel, C., 1977. Etude de 1'influence chez la vigne "Partie Vegatatif / Partie Productrice" sur la production et la qualité des raisins. Conaissance de la Vigni et du Vin. No. 2.

Colyer, P.D. and Mount, M.S., 1984. Bacterization of potatoes with *Pseudomonas putida* and its influence on postharvest soft rot diseases. Plant Disease, 68, 703-706.

Cook, R.J., Weller, D.M., Youssef El-Banna, A., Vakoch, D. and Zhang, H., 2002. Yield responses of direct-seeded wheat to rhizobacteria and fungicide seed treatments. Plant Disease, 86, 780-784.

Crips, P, Wicks, T.J., Troup, G. and Scott, E.S., 2006. Mode of action of milk and whey in the control of grapevine powdery mildew. Australasia Plant Pathology, 35(5), 487-493.

Çakmakçi, R., Kantar, F. and Algur, Ö.F., 1999. Sugar beet and barley yield in relation to *Bacillus polymyxa* and *Bacillus megaterium* var. phosphaticum inoculation. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 162, 437-442

Çakmakçı, R., 2002**.** Azot fiksasyonu ve fosfat çözücü bakteri aşılamalarının şeker pancarı verim ve kalitesine etkisi. II. Şeker Pancarı Üretim Sempozyumu, Verim, Kalite Yükseltilmesi, 257-270.

Çakmakçi, R., Dönmez, F., Aydın, A. and Sahin, F., 2006. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions Soil Biology & Biochemistry, 38 (6), 1482-1487.

Çakmakçı, R., Dönmez, M.F. and Erdoğan, Ü., 2007. The effect of plant growth promoting Rhizobacteria on barley, seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 31, 189-199.

Çalışkan, A. ve İlhan İ., 1975. Gibberellik asidin çekirdeksiz üzüm asmalarında 1974 yılı uygulama raporu, Bağcılık Araştırma Enstitüsü, Manisa.

Çelik, H., Ağaoğlu, Y.S., Fidan, Y., Marasalı, B. ve Söylemezoğlu, G., 1998. Genel Bağcılık. Sunfidan A.Ş. Mesleki Kitaplar Serisi, Ankara, sayfa 1-253.

Davies, J., 1994. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. Science, 264, 375-382.

De Freitas, J.R. and Germida, J.J., 1992. Growth promotion of winter wheat by Fluorescent *Pseudomonads* under field conditions. Soil Biology and Biochemistry, 24 (11), 1137-1146.

De Freitas, J.R., 2000. Yield and N. assimilation of winter wheat (*Triticum aestivum* L., var Norstar) inoculated with rhizobacteria. Pedobiologia, 44, 97-104.

Delp, C.J., 1954. Effect of temperature and humidity on the grape powdery mildew fungus. Phytopathology, 44, 615-626.

Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M. and Chauhan, S.M., 2004. Growth promotion and yield 90 enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growthpromoting rhizobacteria. Microbiological Research, 159, 371-394.

Dileep Kumar, B.S. and Dube, H.C., 1992. Seed bacterization with a fluorescent *Pseudomonas* for enhanced plant growth, yield and disease control. Soil Biology and Biochemistry, 24 (6), 539-542.

Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y. and Vanderleyden, J., 2002. Effect of inoculation with wild type *Azospirillum brasilense* and *A. irakense* strains on development and nitrogen uptake of spring wheat and grain maize. Biology and Fertility of Soils, 36, 284-297.

Egger, E., Impallomeni, N. and Marinelli, E., 1995. A new epidemiological model for the forecast of grape powdery mildew infections. Firs Experiences In The Viticultural Region of Arezzo. Viticultere and Enology Science, 50, 94-98.

Elliott, L.F. and Lynch, J.M., 1984. *Pseudomonas* as a factor in the growth of winter wheat. Soil Biology and Biochemistry, 16 (1), 69-71.

English-Loeb, G, Norton, A.P, Gadoury, D., Seem, R. and Wilcox, W., 2007. Biological control of grape powdery mildew using mycophagous mites. Plant Disease, 91, 421-429.

Erman, M., Kotan, R., Çakmakçı, R., Çığ, F., Karagöz, F. ve Sezen, M., 2010. Van Gölü Havzası'ndan izole edilen azot fikseri ve fosfat çözücü bakterilerin buğday ve şeker pancarında büyüme ve verim özellikleri üzerine etkileri. Türkiye IV. Organik Tarım Sempozyumu, 28 Haziran-1 Temmuz 2010, Erzurum. 325-329.

Erdiller, G., 1992. Bitki Hastalıkları Epidemiyolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakltesi Yayınları. Ankara Ders Kitabı, 361-1258.

Evans, K.J., Palmer, A.K. and Metcalf, D. A., 2013. Effect of aerated compost tea on grapevine powdery mildew, botrytis bunch rot and microbial abundance on leaves. European Journal of Plant Pathology, 135, 661-673.

Fernandez-Gonzalez, M., Rodriguez-Rajo, F.J., Escuredo, O. and Aira, M.J., 2013. Optimization of integrated pest management for powdery mildew (*Unincula necator*) control in a vineyard based on a combination of phenological, meteorological and aerobiological data. The Journal of Agricultural Science, 151, 648-658.

Falk, S.P, Gadoury, D.M, Cortesi, P., Pearson, R.C. and Seem, R.C., 1995. Parasitism of *Uncınula necator* cleistothecia by the mycoparasite ampelomyces-quisqualis. Phytopathology, 85, 794-800.

Falk, S.P., Pearson, R.C., Gadoury, D.M., Seem, R.C. and Sztejnberg, A., 1996. Fusarium proliferatum as a biocontrol agent against grape downy mildew. Phytopathology, 86, 1010-1017.

Fazinic, N., 1963. Einffluss verringerter blattflachen auf der ertrag und qualitat der trauben. Savremena. Poljoprıur. (Novisad), 11, 712-728 .

Fidan, Y., 1985. Özel Bağcılık. Ders Kitabı. No: 265 Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 30.

García de Salamone, I.E., Hynes, R.K. and Nelson, L.M., 2001. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. Canadian Journal of Microbiology, 47, 404-411.

Gökçe, A.Y., 2013. Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) fungusunun PGPR ve antogonist bakteriler kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, sayfa 67.

Gökçe, A.Y. ve Kotan, R., 2014. Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) fungusunun PGPR ve antogonist bakteriler kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat 2014, Antalya, Türkiye, sayfa 358.

Glick, B. R., Karaturovíc, D.M. and Newell, P.C., 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. Canadian Journal of Microbiology, 41, 533-536.

Gutiérrez-Mañero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouachi, J. and Tadeo, F.R., Talon, M., 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. Physiologia Plantarum, 111, 206- 211.

Halleen, F. and Holz, G., 2001. An overview of the biology, epidemiology and control of *Uncinula necator* (Powdery Mildew) on grapevine, with reference to South Africa. South African Journal of Enology and Viticulture, 22, 2.

Hendelsman, J. and Stabb, E.V., 1996. Biocontrol of soilborne plant pahhogenes. The Plant Cell, 8, 1855-1869

Hökeberg, M., Gerhardson, B. and Johnson, L., 1997. Biological control of cereal seed-borne diseases by seed bacterization with greenhouse-selected bacteria. European Journal of Plant Pathology, 103, 25-33.

Jeon, J.S., Lee, S.S., Kim, H.Y., Ahn, T.S. and Song, H.G.., 2003. Plant growth promotion in soil by some inoculated microorganisms. Journal of Microbiology, 41, 271- 276.

Jung, I., Park, D. and Park, K., 2002. A Study of the growth condition and solubilization of phosphate from hydroxyapatite by *Pantoea agglomerans.* Biotechnological Bioprocess Enginering, 7, 201-205.

Johansson, P.M., Johnson, L. and Gerhardson, B., 2003. Suppression of wheat-seedling diseases caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* using bacterial seed treatment. Plant Pathology, 52, 219-227.

Ilgın, C. ve Kısmalı, İ., 1998. Yuvarlak çekirdeksiz üzüm çeşidinde farklı ürün yükünün verim ve kalitesi ile vegetatif gelişmeye etkileri üzerine araştırmalar. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü. 4. Bağcılık Sempozyumu. Yalova, sayfa 46-49.

Kamal, A.M. and Hoda, H., 2008. Integration of *Pseudomonas flourescens* and acibenzolar-S-methyl to control bacterial spot disease of tomato. Crop Protection, 27, 1118-1124.

Kast, W., 1992. Experiences with radio data transmission in measuring networks for forecasting pathogens. Viticulture. KTBL-Schrift. No, 353,179-188.

Karagöz, K., 2009. Bazı PGPR bakterilerin marulun gelişimi ve marul yaprak leke hastalığı üzerine etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, sayfa 95.

Khiavi, H.K., Shikhlinskiy, H., Ahari, A.B. and Akrami, M., 2012. Study on the biology and epidemiology of *Unicinula necator* the causal agent of grape powdery mildew disease. Life Science Journal-Acta Zhengzhou University Overseas Edition, 9, 1787-1792.

Kiss, L., 1998. Natural occurrence of *Ampelomyces* intracellular mycoparasites in mycelia of powdery mildew fungi. New Phytologist, 140, 709-714.

Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.C., 1990. Methods in Phytobacteriology. Akademiai Kiado, Budapest, p547.

Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M.N., 1980. *Pseudomonas siderophores*: A Mechanism explaining disease-suppressive soils. Current Microbiology, 4, 317-320.

Kısmalı, İ., 1979 a. Çekirdeksiz üzüm çeşitlerinde meyve kalitesini arttırmak amacıyla gibberellik asit uygulamaları. Bitki, 6 (1), 34-37.

Kısmalı, İ., 1979b. Üzümlerde meyve kalitesini arttırıcı teknik önlemler. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16 (3), 149-163.

Konstantinidou-Doltsinis, S., Markellou, E., Kasselaki, A.M., Siranidou, E., Kalamarakis, A., Tzembelikou, K., Schmitt, A., Koumakis, C. and Malathrakis, N., 2007. Control of powdery mildew of grape in Greece using Sporodex ® L and Milsana ®. Journal of Plant Diseases and Protection, 114, 256-262.

Kokalis-Burelle, N., 2003. Effects of transplant type, plant growth-promoting rhizobacteria, and soil treatment on growth and yield of strawberry in Florida. Plant Soil, 256, 273-280.

Kotan, R., 1997. Biber ve domatesteki bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye.)'nın biyolojik ve kimyasal kontrolü. Atatürk Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı,Yüksek Lisans Tezi, sayfa 49.

Kotan, R., 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metotlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Doktora Tezi, sayfa 217.

Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E., Ozbek, A., Eken, C. and Miller, S.A., 2000. Evaluation of antagonistic bacteria for control of *Fusarium* dry rot of potato. Phytopathology, 89, 41.

Kotan, R. ve Şahin, F., 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33(1), 111-119.

Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E. ve Eken, C., 2002. Patates (*Solanum tuberosum* L)'te kuru çürüklüğe sebep olan fungal patojenlerden *Fusarium solani*'ye karşı potansiyel bakteriyel etmenler kullanılarak biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Türkiye V. Biyolojik Mücadel Kongresi. Eylül 2002. Erzurum, sayfa 381-390.

Kotan, R., Sahin, F. and Ala, A. 2004. Nutritional similarity in carbon source utilization of *Erwinia amylovora* and its potential biocontrol agents. Journal of Turkish Phytopathology, 33 (1-3), 25-38.

Kotan, R. and Sahin, F., 2006. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* and nutritional similarity in carbon source utilization of pathogen and its potential biocontrol agents. Journal of Turkish Phytopathology, 35 (1-3), 1-13.

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

Kucheryava, N., Fiss, M., Auling, G. and Kroppenstedt, R.M., 1999. Isolation and chracterization of epiphytic bacteria from the phyllosphere of apple, antagonistic in vitro to *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab. Systematic and Applied Microbiology, 22 (3), 472-478.

Küsek, M., 2007. Asmada (*Vitis vinifera* L.) ura neden olan *Agrobacterium vitis*'in tanılanması ve mücadele olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, sayfa 103.

Lee, M.R., Lee, R.E. Jr., Strong-Gunderson, J.M. and Mings, S.R., 1995. Isolation of ice-nucleating active bacteria from the freeze-tolerant frog, *Rana sylvatica*. Cryobiology, 358-365.

Lelliott, R.A. and Stead D.E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Blacwell Scientific Publications, page 216.

Leong, J., 1986. Siderefor: Their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. Annual Review of Phytophatology, 24, 187-209.

Lorito, M., Dipietro, A., Hayes, C.K., Woo, S.L. and Harman, G.E., 1993. Antifungal, synergistic interaction between chitinolytic enzymes from *Trichoderma harzianum* and *Enterobacter cloacae*. Phytopathology, 83, 721-728.

Martelli, G.P., 1992. Grapevine viruses and certification in EEC countries. State of the art. Proceedings of a Panel Discussion and Seminar. Valenzano (Bari)- Italy. 22-23 March, 1991, page 130.

McMillan, S., 2007. Promoting growth with PGPR. The Canadian Organic Grower, 32-34.

Medeiros, F.H.V., Bettiol, W., Souza, R.M., Alves, E., Pinto, Z.V. and Iost, R., 2012. Microorganisms, application timing and fractions as players of the milk-mediated powdery mildew management. Crop Protectıon, 40, 8-15.

Mirabal, L. de los A., Ortega, E., Rodés, R., Fernández, L. and Pérez, E., 2000. Another nitrogen-fixing microorganism in sugarcane stalks: *Bacillus brevis*? Cultivos Tropicales, 21 (4), 9-12.

Mirik, M., Aysan, Y. and Çınar, Ö., 2008. Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* Strains. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32, 369-379.

Monteiro, S., Freitas, R., Teixeira, A. and Ferreira, R., 2005. A new approach to extend the life span of *Uncinula necator* growing in vitro. Acta Horticulturae, 689, 133-136.

Myrianthousis, T.S. ve Hadjigiorgis, K.P., 1973. Flower thinning and berry enlargement of Sultanina by gibberellin spray. Cyprus Agricalture Research Institute Technical Bulletin, page 13.

Nikaido, H., 1994. Prevention of drug access to bacterial targets: Permeability barriers and active afflux. Science, 264, 382-388.

Nunes, C., Usall, J., Teixido, N. and Vinas, I., 2001. Biological control of postharvest pear disease using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2. International Journal of Food Microbiology, 70 (1-2), 53-61.

Oldaç, S., Ülke, G. ve Mirik, M., 2002. Domates bakteriyel leke hastalığına (*Xanthomonas campestris* pv. v*esicatoria*). Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi, Erzurum.

Onaran, H.M., 1964. Gibberellik asit bitki hormonunun çekirdeksiz üzüm asmaları üzerindeki tesirleri. Bornova Zeytincilik Enstitüsü. İzmir.

Oran, Y.K., 1967**.** Orta Anadolu külleme (*Erysiphe*) mantarlarının türleri, konukçuları, taksonomileri ve ekonomik yayılış alanları önemleri üzerinde araştırmalar. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü.

Oraman, L.M., 1965. Yeni Bağcılık. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakülltesi Yayınları Kitabı, 89-253.

Özben, S., Değirmenci, K. and Demirci, F., 2012a. First report of *Phaeoacremonium scolyti* associated with esca and petri diseases of grapevine in Turkey. Plant Disease, 96 (5), 766.

Özben, S., Demirci, F. and Değirmenci, K., 2012b. First report of *Cylindrocarpon macrodidymum* associated with black foot diseases of grapevine in Turkey. Plant Disease, 96 (5), 762.

Pan, Y., Lee, A., Wan, J., Coventry, M.J., Michalsk, W.P., Shiell, B. and Roginski, H., 2006. Antiviral properties of milk proteins and peptides. International Dairy Journal, 16, 1252-1261.

Pierson, E. A. and Weller, D.M., 1994. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. Phytopathology, 84, 940-947.

Potrikus, C.J. and Breznak, J.A., 1977. Nitrogen-fixing *Enterobacter agglomerans* isolated from guts of wood-eating termites. Applied Environmental Microbiology, 33(2), 392-399.

Rankovic, B., 2000. Fungi of Genus *Uncinula* in Serbia. Crytogamie, Mycology, 21 (4), 229-234.

Samancı, H., 1998. Bazı çekirdeksiz çeşitlerde gibberellik asit (GA3) uygulamalarının salkım ve tane özelliklerine etkisi. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü. 4. Bağcılık Sempozyumu. Yalova, sayfa 391-394.

Saygılı, H., Sahin, F. ve Aysan, Y., 2008. Bitki Bakteri Hastalıkları. Meta Basım Mabaacılık Hizmetleri. İstanbul, sayfa, 317

Seddon, B., McHugh, R.C. and Schmitt, A., 2000. *Brevibacillus brevis* - a novel candidate biocontrol agent with broad-spectrum antifungal activity. Pests and Diseases, 2, 563-570.

Sholberg, P., Harlton, C., Boule, J. and Haag, P., 2006. Fungicide and clay treatments for control of powdery mildew influence wine grape microflora. Hortscıence, 41, 176-182.

Spratt, B.G., 1994. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. Science, 264, 388-392.

Stromberg, K.D., Kinkel, L.L. and Leonard, K.J., 2004. Quantifiying the effect of bacterial antagonists on the relationship between phyllosphere population sizes of *Xanthomonas translucens* pv. *translucens* and subsequent bacterial leaf streak severity on wheat seedlings. Biological Control, 29, 58-65.

Sudha, S.N., Jayakumar, R. and Sekar, V., 1999. Introduction and expression of the *cry*1*Ac* gene of *Bacillus thuringiensis* in a cereal-associated bacterium, *Bacillus polymyxa*. Current Microbiology, 38, 163-167.

Szekeres, A., 2006. Echophysiological and molecular investigation of *Trichoderma* strains isolated from winter wheat rhizosphere. Acta Biological Szeged, 49-61.

Şahin, F., 1999. Mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanısı (Microbial Identification System). Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Kursu. Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Erzurum-Türkiye 66.

Şahin, F., Çakmakçı, R. and Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N2-fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant Soil, 265, 123-129.

Timmusk, S., Nicander, B., Granhall, U. and Tillberg, E., 1999. Cytokinin production by *Paenibacillus polymyxa*. Soil Biology and Biochemistry, 31, 1847-1852.

Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Güneş, A., Karagöz, K., Kotan, R. and Dursun, A., 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. Türkish Journal of Agriculture and Forestry, 38, 327-333.

TÜİK, 2012. Bitkisel Üretim İstatistikleri 2012. http://tuikapp.tuik.gov.tr/bitkiselapp /bitkisel. Erişim: Ekim 2012.

Uslu, İ., 1981. Müşküle üzüm çeşidinde yaprak alma uygulamalarının verim ve kaliteye etkisi üzerinde araştırmalar. Yalova Bahçe Kültürleri Araştırma ve Eğitim Dergisi, 10(2), 14-21.

Walley, F.L. and Germida J.J., 1997. Response of spring wheat (*Triticum aestivum*) to interactions between *Pseudomonas* species and *Glomus clarum* NT4. Biology and Fertility of Soils, 24, 365-371.

Weber, G., Gubler, D., Thomas, C., Derr, A., Henick, T.H.K., Wolf, T.E. and Harkness, E.M., 1997. Use of a computer-based weater network and powdery mildew risk assesment model reduces fungucide use in the napa valley. Proceedings of The Fourh International Symposium On Climate Enology ünd Viticulture 16-17 July. 1996. New york.

Wei, G., Kloepper, J.W. and Tuzun, S., 1991. Induction of systemic resistence of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathology, 81, 1508-1512.

Whipps, J. M., 1992. Status of biological disease control in horticulture. Biocontrol Science and Technology, 2(3), 24.

Wilcox, W.F., 2003. Grapevine powdery mildew *Uncinula necator* (Schw.) Burr. Cornell Cooperative Extension., Disease Identification Sheet No.102GFSG-D2.

Williams, L.E. ve Ayars, J.E., 2005. Water use of Thompson Seedless grapevines as effected by the application of gibberellic acid (GA3) and trunk girdling-practices to increase berry size. Agricultural and Forest Meteorology, 129 (1-2), 85-94.

Willocquet, L., Colombet, D., Rougier, M., Fargues, J. and Clerjeau, M., 1996. Effects of radiation, especially ultraviolet B, on conidial germination and mycelial growth of grape powdery mildew. Europen Journal of Plant Pathology, 102, 441-449.

Wilson, M., 1997. Biocontrol of aerial plant diseases in agriculture and horticulture: current approaches and future prospects. Journal Of Industrıal Mıcrobıology & Bıotechnology, 19, 188-191.

Winkler, A.J., Cook, J.A., Kliwer, W.M. and Lider, L.A. 1974. General viticulture. Univ. Calif. Pres, Berkeley and Los Angeles, page 710.

Van Loon, L. C., Bakker, P.A.H.M. and Pieterse, C.M.J., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology, 36, 453-483.

Vessey, J.K., 2003. Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil, 255, 571-586.

Yanar, D., Erdoğan, H. and Yanar, Y., 2013. Beslenme alışkanlıkları. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Degisi, 30 (2), 1-5.

Yılmaz, N., İlhan, İ., Samancı, H. and Baldıran, T., 1997. yuvarlak çekirdeksiz üzüm çeşidinde klon seleksiyonu çalışmaları. Manisa Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Numara, 69.

Yoon, M.Y., Cha, B. and Kim, J.C., 2013. Recent trends in studies on botanical fungicides in agriculture. Plant Pathology Journal, 29 (1), 1-9.

Yürüt, A., 1978. Orta Anadolu koşullarında bağ küllemesi fungusu (*Uncinula necator* "Schwein" Burr.)'un Kışlaması üzerine bir araştırma. Ankara Bölge Zir. Müc. Araş. Enst. Yayınları, Ankara, 41.

Zeller, W. and Wolf, B., 1996. Studies on biological control of fire blight. Acta Horticulture, 411, 341-345.

Zezlina, I., Skvarc, A., Rusjan, D. and Trdan, S., 2010. The efficacy of different spraying programs against two fungal pathogens in organic grape production. Journal of Plant Diseases and Protection, 117, 220-225.

ÖZGEÇMİŞ

Gülşin DEMİR 1987 yılında Manisa Salihli ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Salihli'de tamamladı. 2011 yılında Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünden mezun oldu. 2014 yılında Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalın'da yüksek lisanas eğitimini tamamladı. Veteriner Hekim Ragıp DEMİR ile evlidir.