PATLICANDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ *Botrytis cinerea* PERS: FR İLE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Alican AKÇA

Yüksek Lisans Tezi
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Fitopatoloji Bilim Dalı
Doç. Dr. Elif TOZLU
2019
Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATLICANDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ *Botrytis cinerea* PERS:FR İLE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Alican AKÇA

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
Fitopatoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2019

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAY FORMU

PATLICANDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ *Botrytis cinerea* PERS:FR İLE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Elif TOZLU danışmanlığında, Alican AKÇA tarafından hazırlanan bu çalışma 13/09/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı – Fitopatoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/~~oy çokluğu~~** (3/3) ile kabul edilmiştir.

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

Üye : Doç. Dr. Elif TOZLU *İmza :*

Üye : Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ *İmza :*

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 26/09/2019 tarih ve 38/86 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
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

PATLICANDA KURŞUNİ KÜF HASTALIĞI ETMENİ *Botrytis cinerea* PERS:FR İLE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Alican AKÇA

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Fitopatoloji Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Elif TOZLU

Ülkemizde sebze tarımında ekonomik öneme sahip birçok sebzede kurşuni küf etmeni *Botrytiscinerea* (telemorph: *Botryotinia fuckliana* (de Barry) Whetzel) önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu etmene özellikle havalandırması iyi olmayan üretim alanlarında, çiçek zamanı sisli, çiğli olan yerlerde, ve depolarda rastlanılmaktadır. Kurşuni küf etmeninin toprakta uzun süre canlı kalabilmesi ve geniş bir konukçu yelpazesine sahip olması bu etmenin mücadelesini zorlaştırmaktadır. Yetersiz kültürel önlemler ve kimyasalların bitki hastalıkları mücedelesinde yoğun bir şekilde kullanılmasından dolayı kimyasalların insan sağlığı ve çevre üzerinde olumsuz etkilerin ortaya çıkmasına bağlı olarak düşük dozajlarda ve çevre dostu kimyasalların kullanımının giderek artmasına duyulan gereklilik, bilhassa patojenlerin kullanılan kimyasallara karşı dayanıklılık oluşturması, bütün bu olumsuzluklara rağmen kurşuni küf hastalığıyla mücadelede yeterli ve etkili bir mücadele yönteminin olmayışı biyolojik mücadeleyi de içeren alternatif yöntemlerin çalışılmasını öncelikli konular haline getirmiştir. Bu çalışmada; daha önce yapılan farklı çalışmalarda, yabani ve kültür bitkilerinin toprak altı veya toprak üstü aksamlarından izole edilerek, yağ asidi metil esterlerine (Microbial Identification System (MIS)) göre tanılanmış olan 12 biyoajan bakteri straini (2 *Bacillus megaterium,* 2 *Bacillus pumilus,* 2 *Bacillus subtilis,* 2 *Pantoea agglomerans,* 1 *Pseudomonas fluorescens,*1 *Paenibacillus polymxa,* 1 *Bacillus thuringiensis* ve1 adeti de *Bacillus cereus*) kullanılmıştır. Çalışma, bu biyoajanların patlıcan fidelerinde büyük verim kayıplarına neden olan *B. cinerea* üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla *in vitro* ve kontrollü şartlarda yürütülmüştür. *In vitro* şartlarda en iyi sonuç veren toplam 5 bakteri straini gövde uygulamaları için seçilmiş ve bu bakterilerin etkililiği kontrollü şartlarda da belirlenmiştir. Yapılan çalışmada *Pseudomonas chlroraphis* subsp. *aureofaciens* türüne ait 1 strain ve *Bacillus amyloliquefaciens*'in 1 strainin *B. cinerea'* yakarşı mücadelede *in vivo* şartlardada etkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak; en etkili bulunan 2 bakteri strainin patlıcan yetiştiriciliğinde *B. cinerea'*nın kontrolünde biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

2019, 54 sayfa

Anahtar Kelimeler: Bakteri, Biyolojik mücadele, *Botrytis cinerea*, Patlıcan

ABSTRACT

Master Thesis

THE INVESTIGATION OF BIOLOGICAL CONTROL OPPURTUNITIES AGAINST GRAY MOLD CAUSING *Botrytis cinerea* PERS:FR IN EGGPLANT

Alican AKÇA

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection
Department of Phytopathology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif TOZLU

The factor of gray mold, within so many economically-important vegetables, cause some important losses of productivity. This factor is especially encountered in productivity areas, which have insufficient ventilaton, in foggy and dewy places at flowering times, and in depots. That gray mold factor is able to survive for a long time in soil and large hostplant range of the factor make difficult to control this factor. Inadequacy of cultural precautions and the negative impacts of chemicals, which are used for struggling verbal diseases, on human health and nature, especially the fact that pathogens create endurance against chemicals; in spite of these, the situation that there is no effective and adequate method of struggling with disease of gray mold, turn the studies of alternative methods that also involves biological strrugle into prior subjects. In this study, it is used 12 bio-agent bacteria strains (2x *Bacillus megaterium*, 2x *Bacillus pumilis*, 2x *Bacillus subtilis*, 2x *Pantoea agglomerans*, 1x *Pseudomonas fluorescens*, 1x *Paenibacillus polymxa*, 1x *Bacilius thuringiensis*, 1x *Bacilius cereus*). These strains are defined in some previous studies according to oil acid esters, which are isolated by the under or upper parts of the soil's wild or cultivated plants. This study is performed under an *in vitro* and conrolled setting, aiming to determine the impact of these bio-agents on *B. cinerea*, which cause the losses of productivity of eggplant seedlings. Five bacteria strains, which give the best results under *in vitro* setting, have been chosen for stem practices and; effectiveness of these bacterias have been measured under controlled setting.

In this study, it is determined that one strain – which pertain to *Pseudomonas chlororaphis* supsp. *aurofaciens*, and one *Bacillus amyloliquefaciens* strain are also effective *in vitro* setting to struggle with *B.cinerea*. As a result, it is determined that the most two effective bacteria strains can be used as a biocontrol agent for controlling the *B.cinerea* in eggplant farming.

2019, 54 pages

Keywords: Bacteria, Biological control, *Botrytis cinerea*, Eggplant

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın belirlenmesinde ve sürdürülmesinde her türlü yardımı, desteği ve özveriyi gördüğüm danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif TOZLU'ya, bakteri kültür koleksiyonunu kullanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Recep KOTAN'a, çalışmalarımda yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Nasibe TEKİNER'e, yine çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Zir. Yük. Müh. Esra ÇAMLICA'ya ve tez süresince maddi-manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme, göstermiş oldukları sabır ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Alican AKÇA
Eylül, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
SİMGELER ve KISATMALAR DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
ÇİZELGELER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ 4
3. MATERYAL ve YÖNTEM 11
3.1. Materyal 11
3.1.1. Yararlanılan cihazlar 11
3.1.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı 12
3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus 13
3.2. Yöntem 14
3.2.1. Patojen fungus izolasyonu 14
3.2.2. Patojen fungus izolatlarının patojenite testi 15
3.2.3. Patojen fungusun tanılanması 16
3.2.3.a. Patojen fungusun makroskobik ve mikroskobik tanısı 16
3.2.3.b. Patojen fungusun moleküler tanısı 16
3.2.4. Biyolojik mücadele çalışmaları 17
3.2.4.a. *In vitro* testler 17
3.2.5. Potansiyel biyoajan bakterilerin tanısı 18
3.2.5.a. Potansiyel biyoajan bakterilerin morfolojik özellikleri 18
3.2.5.b. Potansiyel biyoajan bakterilerin bazı biyokimyasal ve enzim özelliklerinin belirlenmesi 18
3.2.5.c. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainlerinin MIS sisteminde tanılanması 19
3.2.5.d. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajanların tütünde aşırı duyarlılık testi (HR) 19

3.2.6. *In vivo* testler 20
3.2.6.a. Biyoajan bakteri strainlerinin *in vivo* testler için hazırlanması 20
3.2.6.b. Biyoajan fungus izolatının *in vivo* testler için hazırlanması 20
3.2.6.c. Saksı toprağının hazırlanması 20
3.2.6.d. Saksı denemeleri 21
3.2.6.e. Saksı denemelerinin sonuçlarının alınması 22
3.2.6.f. Sonuçların analiz edilmesi 22
3.2.6.g. *In vivo*'da en etkili sonuç veren bakterilerin moleküler tanısı 22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 24
4.1. Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi 24
4.2. Patojen Fungususun Morfolojik, Makroskobik ve Mikroskobik Özellikleri 24
4.3. *Botrytis Cinerea*'nın ET 33 İzolatının Moleküler Tanısı 26
4.4. Biyolojik Mücadele Çalışmaları 27
4.4.1. *In vitro* testler 27
4.4.1.a. Potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin bazı morfolojik özellikleri 30
4.4.1.b. Çalışmada kullanılan bakteri strainlerinin bazı biyokimyasal ve enzim testleri 31
4.4.2. *In vivo* testler 33
4.4.2.a. Saksı denemeleri 33
4.4.2.b. *In vivo*'da en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları 37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 39
KAYNAKLAR 46
ÖZGEÇMİŞ 55

SİMGELER ve KISATMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigratderece
cm	Santimetre
da	Dekar
dH2O	Distile su
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
g	Gram
HR	Hipersensitif Reaksion
kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan bakteri sayısı
L	Litre
LB	Luria Broth
mg	Miligram
MIS	Microbial Identification System
ml	Mililitre
N	Azot
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
P	Fosfat
PDA	Patato Dekstrose Agar
PGPR	Bitki Büyümesini Teşvik Eden Rizobakterler
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonu
sa	Saat
sdH2O	Steril ve distil su
sH2O	Steril su
sn	Saniye
spp.	Türler
TSA	Triptic Soy Agar

TSB	Triptic Soy Broth
UV	Ultraviyole
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Patojen fungusun izole edildiği kurşuni küf simptomu görülen hastalıklı patlıcan 13
Şekil 4.1. *Botrytis cinerea*'nın PDA'da gelişimi 25
Şekil 4.2. *Botrytis cinerea* ET 33 izolatının misellerinin mikroskobik görüntüsü 26
Şekil 4.3. *In vitro*'da *Botrytis cinerea*'nın Et 33 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA Petri görünümleri 30
Şekil 4.4. *In vitro* şartlarda etkili bulunan bakteri strainlerinin NA besin ortamındaki gelişimleri 31
Şekil 4.5. *In vivo* şartlarda test edilen TV-87A bakteri straininin saksı denemesi görüntüleri 34
Şekil 4.6. *In vivo* şartlarda test edilen FDG-37 bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri 35
Şekil 4.7. *In vivo* şartlarda test edilen TV-6F bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri 35
Şekil 4.8. *In vivo* şartlarda test edilen FD-9 bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri 36
Şekil 4.9. *In vivo* şartlarda test edilen TV-67C bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri 36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar 11
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteri strainleri 14
Çizelge 3.3. Hastalıklı bitkilerin değerlendirildiği 0-4 skalası 15
Çizelge 3.4. *In vivo* çalışması deneme planı 21
Çizelge 4.1. Çalışmada elde edilen patojen fungus izolatları 24
Çizelge 4.2. Patojen fungus izolatlarının virülantlık skalası 24
Çizelge 4.3. *Botrytis cinerea* ET 33 izolatının koloni görünüşü 25
Çizelge 4.4. *Botrytis cinerea* ET 33 izolatının moleküler tanısı, benzerlik indeksi ve erişim numarası 26
Çizelge 4.5. *Botrytis cinerea'*nın ET 33 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5,8S ribosomal RNA, ITS 2, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı 27
Çizelge 4.6. *Botrytis cinerea'*nın ET 33 izolatının sekans yapısı 27
Çizelge 4.7. *In vitro* petri denemelerinde *Botrytis cinerea* ET 33 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin etkililiği 28
Çizelge 4.8. *In vivo* çalışmasında kullanılan bakterilerin koloni şekilleri, renkleri ve kamçı durumları 30
Çizelge 4.9. Çalışmada kullanılan biyoajan bakterilerin biyokimyasal ve enzim testleri 32
Çizelge 4.10. İlk defa bu çalışmada etkililiği test edilen FD-9 bakteri straininin mikrobial tanılama sisteminde (MIS) tanısı, benzerliği ve aşırı duyarlılık testi sonucu. 33
Çizelge 4.11. Uygulamaların patlıcan bitkisinde kurşuni küf hastalık şiddeti üzerine etkisi 33
Çizelge 4.12. *In vivo* şartlarda en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri 37
Çizelge 4.13. FDG-37'nin ITS1+5,8S rDNA+ITS2 sekansı 37
Çizelge 4.14. TV-87A'nın ITS1+5,8S rDNA+ITS2 sekansı 38

1. GİRİŞ

Patlıcan Solanaceae familyasının, *Solanum* cinsine dahil olup ılık iklimlerde yıllık, tropik iklimlerde ise çalı formunda büyüyen birkaç yıllık bir kültür bitkisidir. Bilimsel adı *Solanum melongena* L. olan patlıcanın gen merkezleri olan Çin ve Hindistan'da M.Ö. 3. yy'dan beri bilindiği, ilk yetiştiriciliğinin M.Ö. 5. yy'da Hindistan'da yapılmış olduğu, buradan Afrika'ya doğru yayıldığı ve Avrupa'ya 16. yy'da İspanyollar tarafından getirildiği, Asya'da ise 1500 yıldan daha fazla süredir kültürü yapıldığı ifade edilmektedir. Avrupa'ya ilk getirildiğinde dekoratif amaçlı yetiştirilen patlıcan, botanik yönden domates, biber ve patates ile aynı familyada (Solanaceae) yer almaktadır (Eşiyok ve Bozokalfa 2007). Patlıcan, tüm Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde yaygın tüketilen ilk on bitkisel ürün arasında kendisine yer edinmiştir. Eylül ve kasım aylarını kapsayan periyotta açık alanlarda ve seralarda yetiştirilebilmektedir. Patlıcan mutfaklarda yaygın olarak kullanılmakta ve doyurucu özelliği sebebi ile de vejeteryanlar tarafındanda ayrıca tercih edilmektedir (Mennella *et al.* 2012).

Nüfus artışı ile birlikte patlıcanın üretim miktarı da yıldan yıla artış göstermektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre dünyada, 2017 yılında 1,858,253 hektar alanda; 52,309,119 ton patlıcan üretimi yapılmıştır. Dünya patlıcan üretiminde Çin, 32,883,567 ton ile lider konumdadır. Çin'i sırası ile Hindistan (12,510,000 ton), Mısır (1,307,753 ton), Türkiye (883,91 ton), İran (654,149 ton) ve Endonezya (535,436 ton) takip etmektedir. Patlıcan dünyada üretimi gerçekleştirilen sebzeler içerisinde domates, biber ve hıyardan sonra dördüncü sırada bulunmaktadır. Özellikle 2010 yılı ile birlikte Dünya'da patlıcan üretimi için ayrılan ekim alanı miktarının ve elde edilen üretim miktarının doğru orantılı olarak artış gerçekleştirdiği belirtilmiştir (FAO 2017).

Ülkemizde patlıcan üretimi hem tarlada hem de serada yapılmakta, iklim ve toprak isteği yanında bakım şartları ve ekim nöbeti tercihinden dolayı her bölgede yetiştirilememektedir. Ancak başta Akdeniz olmak üzere Ege, Marmara, Karadeniz ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılabilmektedir.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre ülkemizde 2017 yılında 883,917 ton patlıcan üretilmiştir. Akdeniz Bölgesi, 461,958 ton ile en fazla patlıcan üretilen bölge iken bunu 100,681 ton ile Ege, 92,844 ton ile Marmara, 83,859 ton ile de Güneydoğu Anadolu takip etmiştir. Türkiye patlıcan üretiminden Antalya %23 pay alırken diğer önemli illerimiz Mersin, Samsun, Balıkesir, Muğla, Adana, Bursa, Hatay ve İzmir olarak sıralanmaktadır (TÜİK 2017).

Patlıcanın yumuşak, derin, geçirgen, organik madde ve besin maddesince zengin tınlı topraklarda gelişebildiği ve tonajlı ürün verdiği belirtilmekte, kil içeriği fazla, sıkışmış ve uzun süre fazla ılık kalan topraklarda ise kök gelişiminin olumsuz olarak etkilenebildiği, kök çürüklüğü gibi toprak kökenli birçok hastalığa maruz kalabileceği ifade edilmektedir (Altınok vd 2014; Sever 2018).

Diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi patlıcan yetiştiriciliğinde de üreticiler üretimi kısıtlayan önemli fitopatolojik sorunlarla karşılaşmaktadır. Patlıcanda bakteriyel ve viral hastalık etmenlerinin beraberinde pek çok fungal etmen de hastalık yapmaktadır. Bu hastalıklardan biri, patlıcan üretim sahalarında görülen kurşuni küf hastalığıdır (Anonim 2019a). *Botrytis cinerea* tüm dünyada sebzeleri (patlıcan, domates, marul hıyar gibi), süs bitkilerini (gül, gerbera, sıklamen glayöl gibi) ve meyveleri (çilek, kivi, üzüm gibi) içine alan ekonomik önemdeki birçok üründe kayba neden olan bir fungustur (Delen *et al.* 1984; Rebordinos *et al.* 2003; Leroux 2004). Etmen tüm bu ürünlerde vejetasyon süresince etkili olabildiği gibi depolanan ürünler üzerinde de etkili olarak şiddetli enfeksiyonlara yol açabilmektedir (Nigro *et al.* 1998; Zoffoli *et al.* 1999; Romanazzi *et al.* 2001; Lichter *et al.* 2002; Retamales *et al.* 2003).

Botrytis cinsi fungusların mücadelesinde kimyasalların kullanımı basit ve başarılı gibi görünse de, insan ve çevre sağlığı üzerinde bıraktığı kalıcı olumsuz etkilerin mutlaka dikkate alınması gerekmektedir. Bunun yanı sıra bu fungusun en önemli özelliklerinden biri de kimyasallara karşı kısa sürede dayanıklılık sağlaması ve hızlı bir şekilde sporulasyona geçmesidir. Bundan dolayı, kimyasal mücadeleye alternatif bir mücadele yönteminin geliştirilmesi veya bu mücadele yönteminin etkinliğini arttırıcı

uygulamaların devreye sokulması gerekmektedir. Bu alternatif yöntemlerden en önemlisi olarakta biyolojik mücadele görülmektedir (Yiğit 2005).

Biyolojik mücadele, doğal veya genetik yapısı değiştirilmiş mikroorganizmalar (biyolojik mücadele elemanları; genellikle fungus ve bakteriler) ya da onların ürettikleri metabolitler kullanılarak patojen mikroorganizmaların ve zararlıların yok edilmesi veya populasyonlarının baskı altına alınmasını hedefleyen bir tarımsal mücadele yöntemidir (Chet *et al.* 1993; Kotan 2002).

Bu çalışmada; 2 *Bacillus megaterium,* 2 *Bacillus pumilus,* 2 *Bacillus subtilis*, 2 *Pantoea agglomerans,* 1 *Pseudomonas fluorescens,*1 *Paenibacillus polymxa,* 1 *Bacillus thuringiensis* ve 1 adeti de *Bacillus cereus'a* ait toplam 12 adet bakteri strainin*in vitro* ve *in vivo* şartlarda patlıcan fidelerinde önemli verim kayıplarına neden olan kurşuni küf hastalığı etmeni *B. cinerea*'ya karşı biyolojik mücadelede kullanılabilirliği araştırılmıştır. Böylece kurşuni küf mücadelesinde kimyasallara alternatif olabilecek çevre dostu, insan ve diğer canlıların sağlığını tehdit etmeyen biyoajanların geliştirilmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Patlıcanın vitamin ve mineral içeriğinin diğer sebze türlerine göre küçümsenmeyecek düzeyde olduğu bilinmektedir (Boyacı 2008; Topçu ve Boyacı 2008). 100 g taze patlıcan; 24 kaloridir ve 1,1 g protein; 5,5 g karbonhidrat; 0 kolesterol; 2 g yağ; 1 g lif; 37 mg fosfor; 15 mg kalsiyum; 1 mg demir: 1 mg sodyum; 15 mg potasyum: 30 IU A vitamini; 0,05 mg B1 vitamini; 0,04 mg B2 vitamini; 0,05 mg B3 vitamini; 0,081 mg B6 vitamini ve 5 mg C vitamini içermektedir (Kömürcü 2006). Ayrıca, çok sayıda patlıcan türünün özellikle de Hindistan'da diyabet, bronşit, astım, yangılı idrar yapma (dysuria), dizanteri gibi hastalıkların tedavisinde ilaç olarak eskiden beri kullanıldığı, kandaki kolestrol oranını azalttığı bilinmektedir (Boyacı 2008).

Patlıcan çeşitlerinde yetiştirme dönemine göre aranan özellikler farklılık göstermektedir. Örtüaltı üretiminde kullanılan çeşitlerin tamamı hibrit çeşitlerdir. Yetiştiricilikte koyu renkli meyveli çeşitler öncelik kazanmaktadır. Ülkemizde genellikle uzun, silindirik ve meyve ucu hafif küt olan patlıcanlar yetiştirilmekle birlikte, son yıllarda oval tipte çeşitler de üretilmektedir (Anonim 2019b).

Geniş alanlarda ekimi yapılan patlıcanda pek çok fitopatolojik sorunla karşılaşılmaktadır. Bakteriyel ve viral etmenlerin yanı sıra çok sayıda fungal etmenin de hastalık yaptığı belirlenmiştir.

Patlıcanda, mildiyö [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary], kurşuni küf [*Botrytis cinerea* Whetzel], erken yanıklık [*Alternaria solani* (Ell. and Mart.) L.R. Jones and Grout], beyaz çürüklükler [*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)], külleme [*Leveillula taurica* (lev.) Arnaud)], kök çürüklüğü-çökerten (*Phythium, Rhizoctonia, Fusarium, Alternaria* ve *Sclerotinia* türleri), *myrothecium* yaprak yanıklığı (*Myrothecium roridum* Tode 1790) gibi fungal hastalıklar, bakteriyel benek [*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Y.D. and W.] gibi bakteriyel hastalıklar ve domates mozayik virüs hastalığı (*Tomato mosaic tobamovirus*), brinjal mozaik virüsü

(Brinjal mosaic virüs), patlıcan mozaik virüsü (Eggplant mosaic virüs) gibi viral hastalıklar görülmektedir (Anonim 2019b). Patlıcanda sorun olarak birçok patojen bulunmasına karşın, *B. cinerea'*nın neden olduğu kurşuni küf hastalığının ekonomik açıdan büyük oranlarda kayıplara neden olduğu ve bu yönüyle de oldukça önemli olduğu bilinmektedir.

B. cinerea ülkemizde özellikle serada yetiştirilen birçok üründe ve bağda sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Seraların patojenin gelişimi için sıcaklık ve nem koşullarının uygun olması nedeniyle biber, çilek, domates hıyar, marul, patlıcan gibi sebzelerde şiddetli enfeksiyonlar meydana getirebilmektedir (Delen *et al.* 1984; 1998; Aydoğdu vd 2001). Delen *et al.* (1984) Akdeniz Bölgesi'nde yaptıkları çalışmalarda kurşuni küfün biber, domates hıyar, marul ve patlıcanda çürümelere neden olduğunu saptamışlardır.

Her yıl dünya tarım ürünlerinin bir bölümü olumsuz çevresel koşullar, zararlılar ve patojen mikroorganizmalardan dolayı kaybedilmektedir. Az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde bu oran oldukça fazladır. *B. cinera,* dünyanın patlıcan üretimi yapılan bütün bölgelerinde zarara yol açan en önemli hastalık etmenlerinden birisidir. Kontrol edilmediği takdirde patlıcan üretimi yapılan alanlarda çok büyük ölçüde ürün kaybına yol açmaktadır. Bütün bu olumsuzlukların en aza indirilmesi veya tamamen ortadan kaldırılması için hastalık etmenleri ile mücadele edilmesi gerekmektedir. *B. cinerea* kurşuni küf hastalık etmenine karşı mücadelede de diğer etmenlerle mücadelede olduğu gibi kültürel önlemler önemli yer tutmaktadır. Bu etmenle mücadelede bitkinin etrafındaki havayı değiştirmek (vantilasyon), seraya inokulum girişini önlemek ve sera içerisindeki inokulum kaynaklarının oluşumunu engellemek bilinen en iyi kültürel yöntemlerdendir (Güngör 2006). Bunlara ek olarak, primer inokulum kaynağı olarak ve hastalıkların yayılmasında önemli bir yere sahip olması açısından bulaşık bitki artıklarını yakmak, sık dikimden kaçınmak, sera ve bağın güneş alan yerlerde iyi havalanacak şekilde kurulması, hastalıklı bitkileri sökerek imha etmek, bitkilerin sağlıklı gelişmelerini sağlamak amacıyla toprak analizi sonuçlarına göre gübreleme yapmak ve bakım işlemlerinin modern anlamda gerçekleştirilmesi yapılabilecek kültürel yöntemler içinde sıralanabilir (Babadost 2000).

Bu hastalıkla mücadelede sebze türleri içerisinde henüz kurşuni küfe dayanıklı çeşit olmadığı kaydedilmiştir (Dik and Wubben 2004).

Seralarda ürünün hastalık etmeninden korunması için dikkat edilmesi gereken faktörlerden en önemlisi ışık yoğunluğu ve dalga uzunluğu'dur. Özellikle yakın ultraviyole (UV) ışınları *B. cinerea*'da spor oluşumunu arttırmaktadır. Bu nedenle, tünellerde kullanılan farklı tip polietilenlerin *B. cinerea*'nın sporulasyonuna etkili olduğu belirlenmiştir (Nicot *et al.* 1996).

B. cinerea ile başarılı mücadelede, birden fazla yöntemin birleştirilerek kullanıldığı entegre mücadele fikri benimsenmesine rağmen, uygulanabilirliğinin kolay olması ve hızlı sonuç vermesinden dolayı kimyasal mücadele en fazla tercih edilen yöntem olmuştur (Leroux 1995). Ancak, ekonomik öneme sahip olan bu üründe üreticinin bitki koruma konusunda yeterli bilgiye sahip olmaması ve ürününü kaybetme korkusu nedeniyle, bilinçsiz ve kontrolsüz bir şekilde kimyasal kullandığı görülmektedir (Delen *et al.* 2004). Yoğun pestisit kullanımı büyük problemleri de beraberinde getirmektedir. Bu sorunlar kısaca; çevre kirliliği, gıda güvenliğinin olmaması, hastalık, zararlı ve yabancı otların pestisitlere dayanıklılık kazanması olarak özetlenebilir (Güngör 2006). Bunlara ek olarak, ruhsatlandırma sistemindeki bazı sorunlar da gündeme getirilirse, konunun boyutları daha da genişletilebilir (Delen 2003). Daha önceki yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle dicarboximide ve benzimidazole gibi yarı spesifik fungisitlerin etmenin şiddetini azaltmakta etkili oldukları (Beever *et al.* 1989; Gullino *et al.* 1989); ancak sürekli ve yoğun kullanılmaları sonucunda dayanıklı ırk oluşması nedeniyle, etmene karşı etkililiklerinin giderek azaldığı belirlenmiştir (Johnson *et al.* 1994; Leroux *et al.* 1999).

Yapılan çalışmalarda *in vitro*'da üzüm danesinde procymidone, iprodione, imazalil, myclobutanil etken maddelerine %10, carbendazim'e %60 (Burçak ve Delen 2001), petri ve üzüm yaprağında cyprodinil+fluodioxonil'e %0, procymidone'a %6, pyrimethanil'e %8, captan, cyclobutanil ve triadimenol'e %100 (Köycü 2007), saksı denemelerinde captan 50'ye (MIC: 100 μg/ml'den büyük) %0-70, iprodione 50'ye

(MIC: 3-100 µg/ml) %0-44, procymidone 50'ye (MIC: 1-100 µg/ml) %0-55, thiram 80'e (MIC: 100 µg/ml'den büyük) %0-66 ve tebuconazole 25'e (MIC: 3-30 µg/ml) %0-43 (Güngör 2006) oranlarında dayanıklılık tespit edilmiştir.

B. cinerea yoğun spor üretebilen ve hızlı yayılabilen bir patojendir. Buna ek olarak, heterokaryotik oluşu bu fungusun fungisitlere dayanıklılık kazanabilmesini kolaylaştırmakta bu da bu patojeninin mücadelesi en zor hastalık etmenlerinden birisi olmasına yol açmaktadır (Dekker 1982; Gullino 1992; Courderchet 2003; Leroux 2004; Delen 2006). Bundan dolayı son yıllarda organik tarım ve iyi tarım uygulamaları gibi uygulamaların önemi artmaktadır. Bilindiği üzere dünyada yaklaşık olarak 2000'den fazla bitkiden uçucu yağ veya uçucu bileşikler elde edilmektedir (Başer 2008). Uçucu yağlar, doğada hızlı parçalanmaları, ürünler üzerinde kalıntı oluşturmamaları, insan ve çevreye olumsuz etkileri olmamasından dolayı özellikle hastalık ve zararlı kontrolünde ön plana çıkmaktadırlar. Bitkilerden elde edilen bazı uçucu yağların bitki hastalıklarının kontrolünde kullanımına yönelik birçok araştırma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar arasında *B. cinerea* üzerinde uçucu yağların etkinliğinin tespitine yönelik etkinlik çalışmalar da mevcuttur. Özellikle *in vitro* şartlarda yürütülen bu çalışmaların bazılarında *B. cinerea* ile uçucu yağlar kullanılarak mücadele edilebileceği kaydedilmiştir (Daferera *et al.* 2003; Soylu *et al.* 2006; Vitoratos *et al.* 2013; Belgüzar *et al.* 2014; Yılmaz vd 2014).

Origanum vulgare, *Origanum dictamnus*, *Origanum majorana*, *Thymus capitatus*, *Lavandula angustifoli*, *Rosmarinus officinalis* ve *Salvia fruticosa* gibi bitkilerin uçucu yağları, bitkilerde patojen *B. cinera*'ya karşı test edilmiş ve patojenin gelişimi yüksek oranda engellendikleri saptanmıştır (Dimitra *et al.* 2003).

Leroux *et al.* (2016), 7 farklı (*O. vulgare*, *Origanum syriacum*, *Origanum onites*, *Mentha piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *Lippia citriodora)* bitki türünden elde ettikleri uçucu yağların *B. cinerea* üzerindeki etkisini *in vitro* şartlarda test etmişler, *M. piperita*, *M. dumetorum*, *M. spicata* ve *L. citriodora* türlerinin *B. cinerea* üzerinde etkili olmazken, *O. vulgare*, *O. syriacum* ve *O. onites* türlerinin 0,4 ve 0,5 µl/ml dozlarının

patojenin miselyum gelişimini %93,82 engellediğini tespit etmişlerdir. Sonuçlar bu doğal materyallerin sentetik pestisitlerin yerine etkili bir alternatif olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Alternatif olabilecek diğer bir mücadele yöntemi ise doğal ve genetiği değiştirilmiş organizmalar ve bunların ürettikleri metobolitlerle patojen ve zararlıların yok edilmesi veya populasyonlarının baskı altına alınmasıdır. Bu mücadele yöntemi "Biyolojik Mücadele" olarak tanımlanmakta ve antibiyosis, hiperparazitizm, rekabet, hipovirulens, uyarılmış dayanıklılık ve çapraz koruma gibi farklı mekanizmaları içermektedir (Kotan 2002).

Özellikle sera içi nemin yüksek olduğu koşullarda bitkilerde herhangi bir nedenle meydana gelen yaralar ve nekrotik dokular, *B. cinerea* için önemli giriş noktalarıdır. Patojen bu alanlarda rahatlıkla kolonize olarak ciddi inokulum kaynağı oluşturmaktadır. Bu patojen için giriş noktalarının saprofit mikroorganizmalarla patojenden önce kolonize olması hastalıkla mücadelede önemli stratejilerden biridir. *B. cinerea*'nın inokulum potansiyelini ve enfeksiyonunu biyolojik olarak baskı altına alınmasında birçok mekanizma bulunmaktadır. Bunlardan en önemlisi saprofitik rekabet ve antibiyosisdir. Patojen, fillosferde biyokontrol ajanlarının aktif gelişmesinden ve bunların ürettiği antibiyotiklerden etkilenmektedir (Elad 1996). Antibiyosis yoluyla etkili olabilecek biyolojik ajanlar da bu patojenin biyolojik mücadelesinde kullanılmıştır (Akutsu *et al.* 1993; Quilken *et al.* 1994; Utkhede and Mathur 2002). Bunlardan bazıları tek başına, bazıları ise fungisitlerle birlikte uygulanmıştır. Fungisitlerle birlikte uygulanması sonucu hem kimyasal ilaç kullanımda bir azalma hem de hastalıkla mücadelede daha iyi başarı sağlanmıştır (Yıldız ve Yıldız 1991; Elad *et al.* 1997).

Tarımda kimyasal pestisitlere alternatif olarak kullanılabilecek faydalı mikroorganizmalar içerisinde bakteriler çok önemli bir yer tutmaktadır. *B. cinerea* ile mücadelede de bakteriyel ajanların kullanımı ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada *Streptomyces globisporus* JK-1 tarafından üretilen uçucu

maddelerin domates bitkisinde *B. cinerea*'nın gelişmesini engellediği tespit edilmiştir (Li *et al.* 2012).

B. cinerea'nın biyolojik ajanlarla kontrolünü araştırmak için yapılan bir diğer çalışmada, Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki sebze seraları gezilmiş, toplanan yaprak ve toprak örneklerinden izolasyonlar yapılmış ve 756 adet değişik sistematik gruplara ait mikroorganizma elde edilmiş, bu mikroorganizmaların *in vitro* şartlarda *B. cinerea*'ya karşı etkililikleri denenmiştir. Daha sonra etkili bulunan 134 *Actinomycetes* fungus ve bakteri strainleri ilk test bitkisi olan bakla ile, *B. cinerea*'ya karşı test edilmiş, 82 *Actinomycetes* straininden, 9 (%10,9)'u, 40 fungal izolattan 1 (%2,5)'i ve 20 bakteriyel strainden 1 (%5)'i etkili bulunmuştur. Bakla testlerinde *B. cinerea*'yı en yüksek oranda engellediği saptanan üç antagonistik mikroorganizma *in vivo* çalışmalar için seçilmiştir. Seçilen üç antagonistik mikroorganizmadan F-1 kod numaralı strain *Paecilomyces lilacinus,* B-17 numaralı strain ise *Bacillus firmus* olarak tanılanmıştır. Bu antagonist strainler ile domates, hıyar, biber ve patlıcan bitkilerinde saksı denemeleri yapılmıştır. *P. lilacinus* ile yapılan deneme sonuçlarına göre; bu bitkilerde sırasıyla %97,11; 62,80; 84,37 ve 82,94 koruyuculuk belirlenmiştir. Diğer antaganistik mikroorganizma onlan *B. firmus'*de saptanan koruyuculuk değerleri ise, aynı sıra içerisinde %70-72; 59,97; 84,37 ve 60-77 bulunmuştur. Bu denemelerde karşılaştırma karakteri olarak seralarda *B. cinerea*'ya karşı mücadelede kullanılan Vinclozolin'de saptanan ortalama değer ise %76,65 olmuştur. Deneme sonuçlarına göre *P. lilacinus,* hemen hemen dört bitkide de *B. cinerea*'nın kontrolünde en yüksek koruyuculuğu sağlayan mikroorganizma olarak kaydedilmiştir (Yıldız 1990).

Fiddaman *et al.* (2000) kompostla ıslah edilmiş ve ıslah edilmemiş toprakta büyüyen hastalıksız marullardan bakteri izolasyonları yapmışlar, marul yapraklarından 700 tane sporlu-sporsuz aerobic bakteri izole etmişlerdir. Etkililik testlerinde ise 127 tanesinin *B. cinerea*'ya etkili olduğunu belirlemişler, en etkili olan 2 straini ise *B. subtilis* olarak tanımlamışlardır.

Elad *et al.* (1996), sera şartlarının kurşuni küfün bulaşması ve yayılması için uygun bir ortam olduğunu, bu hastalıklarla mücadele konusunda dünyada daha çok entegre mücadeleye doğru gidildiğini bunun içinde de potansiyel olarak biyolojik ajanların önemli bir yer tuttuğu bildirmişlerdir. Ayrıca, *B. cinerea* ile mücadelede hastalığın epidemiyolojisi bakımından antagonistlerin uzun süre bitkinin üzerinde canlılığını koruyabilmesi için abiyotik ve biyotik birçok faktörün uygun olması gerektiğini, bu nedenle de kurşuni küfe karşı ticari olarak hazırlanacak biyolojik ajanların özelikle diğer mücadele yöntemleri ile birlikte uygulanabileceğini kaydetmişlerdir.

Biyoajanlar, uzun süreçli kontrollerde başarılı olamadığı için *B. cinerea* gibi spesifik hastalıklarla mücadelede yanlız kullanılmamaktadırlar. Bu nedenle biyoajanların kimyasallar (dicarboximide'ler ve anilinopyrimidine'ler vb) ve diğer biyolojik ajanlar veya bunların kombinasyonlarıyla birlikte başarıyla kullanıldığı da saptanmıştır (Elad and Stewart 2004).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Yararlanılan cihazlar

Çalışma esnasında Çizelge 3.1'de verilen cihazlar kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz	**Marka ve Model**
Sterilizatör	Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN. 303-3051
Otoklav	Hırayama, HVE 50, SN. 030787253
İnkübatör	Nüve, TÜRKİYE, ES. 500, SN 03-0591
Mikroskop	Olympus, JAPAN, B x 50, ODO4368
Hematolojik çalkalayıcı	GERMANY, GEL.-3025, SN 10365703 F
Steril kabin	LABCAIRE
Çalkalayıcı	Thermoshake, Gerhard, SN. 4002319
Su banyosu	Nüve, TÜRKİYE, ST-402, SN. 02-0138
Otomatik pipetler	Eppendorf, GERMANY
Magnetik karıştırıcı	Nüve, TÜRKİYE, MK-418, SN. 05-1083
pH metre	Hanna, PORTUGAL, HI. 9321
Derin dondurucu	Nuaire, USA, -86, SN P07K-476316-PK.
Hassas terazi	Scaltec, SPB42, SN. SPB42-90908239
Buzdolabı	Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF
Saf su cihazı	Ateks, 7x35, Eu.
Mini karıştırıcı	IKA, U.S.A., M51, SN 03017581

3.1.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı

Araştırma süresince kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı aşağıdaki bilgilerde verilmiştir:

PDA (PatatoDekstroz Agar): Hassas terazide 39g PDA (Difco) tartılarak 1L dH_2O içerisine aktarılmış ve hazırlanan besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilerek soğumaya bırakılmıştır. Besiyeri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaştırılmıştır (20 ml). Genel besiyeri olup fungusların geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

NA (Nutrient Agar): 23 g NA (Difco) 1 L dH_2O içinde çözülecek pH 7,0'a ayarlanarak 121°C'de 15 dk steril edilmiş ve 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987). Genel besiyeri olup bakterilerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

NB (Nutrient Broth): Hassas terazide 8 g NB besiyeri tartılarak (Difco) 1L dH_2O içerisine eklenmiş ve hazırlanan besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır (Lelliot and Stead 1987). Hazırlanan bu besiyeri genel besiyeri olup bakterilerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

TSB (Tryptic Soy Broth): Hassas terazide 30 g TSB besiyeri tartılarak (Difco) 1L dH_2O içerisine eklenmiş hazırlanan besiyeri otoklavda 121°C de 15 dk steril edildikten sonra soğumaya bırakılmıştır (Klement *et al.*1990). Hazırlanan bu besiyeri genel besiyeri olup bakterilerin geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

Stok Besiyeri: 0,65 g LB karışımına gliserol eklendikten sonra son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Otoklavda steril edildikten sonra aseptik şartlarda 2 ml'lik eppendorf tüplerine 900µl olarak dağıtılmıştır. Bakteri stok kültürü hazırlarken kullanılmıştır.

%70'lik Etil Alkol: 70 ml etil alkol, sdH_2Oile 100 ml'ye tamamlanarak solüsyon hazırlanmış ve hazırlanan çözeti -20^oC'de muhafaza edilmiştir. Dezenfektasyon amacı ile kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus

Antalya'nın Serik İlçe'sinde bulunan seralardan toplanan kurşuni küf simptomu (Şekil 3.1) sergileyen patlıcan gövde ve meyve örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen 4 adet *B. cinerea* izolatı çalışmanın materyalini oluşturmuştur.



a **b** **c**

Şekil 3.1. Patojen fungusun izole edildiği kurşuni küf simptomu görülen hastalıklı patlıcan (a: gövde, b: meyve ve gövde, c: meyve)

3.1.4. Çalışmada kullanılan bitki çeşidi ve potansiyel biyoajan bakteriler

Saksı denemelerinde test bitkisi olarak Berceste F1 ticari isimli patlıcan çeşidi kullanılmıştır. Biyoajan olarak ise, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde Mikroorganizma Kültür Kolleksiyonu'nda bulunan ve daha önce yürütülmüş çalışmalarda bakteriyel ve fungal bitki patojenlerine ve zararlılara karşı test edilmiş ve biyoajan özelliği sahip oldukları belirlenmiş, ayrıca fosfat çözme, azot fiksasyonu, hormon ve aminoasit üretimi özellikleri belirlenmiş bakteriler içerisinden belirlenen 12 bakteri straini (Kotan 1998; Kotan 2002; Kotan vd 2002; Karagöz 2009; Kotan *et al.* 2009; Erman *et al.* 2010) ile *Bemicia tabaci*'den elde edilen ve ilk defa bu

çalışmada biyoajan olarak etkililiği test edilen 1 bakteri straini çalışmanın bakteri materyalini oluşturmuştur (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteri strainleri

İzolat	İzole edildiği material	MIS Tanısı	B	N	P	HR	Kaynak
TV-87A	Şeker pancarı	*Bacillus megaterium*	0,467	+	-	-	Erman *et al.*2010
RK-79	Elma	*Pantoea agglomerans*	0,762	+	+		Gökçe ve Kotan 2016
TV-67C	Ahududu	*Bacillus pumilus*	0,630	-	-	-	Erman *et al.*2010
TV-17C	Ahududu	*Bacillus subtilis*	0,677	+	+		Çakmakçı *et al.*2010
TV-6F	Buğday	*Bacillus subtilis*	0,831	+	-		Çakmakçı *et al.*2010
FDG-37	Toprak	*Pseudomonas fluorescens*	0,222	+	+	-	Karagöz *et al.*2016
RK-92	Armut	*Pantoea agglomerans*	0,889	+	+	-	Gökçe ve Kotan 2016
TV-91C	Buğday	*Bacillus megaterium*	0,474	+	+	-	Çığ *et al.*2014
TV-12E	Buğday	*Paenibacillus polymyxa*	0,551	+	+	-	Erman *et al.*2010
BAB-410	*Ricania simulans*	*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*	0,620	*	*	-	Göktürk *et al.*2018
TV-125A	Salep	*Bacillus cereus*	0,297	*	*	-	Çığ *et al.*2014

***B:** Benzerlik oranı, **N:** Azot fiksasyonu, **P:** Fosfat çözünürlüğü, **HR:**Aşırı duyarlılık, ***:**Test edilmedi

3.2. Yöntem

3.2.1. Patojen fungus izolasyonu

Antalya İli Serik İlçesi'nde bulunan seralara 2017 yılında gidilerek hastalıklı patlıcan bitki örnekleri toplanmıştır. Laboratuara getirilen ve buzdolabında 5°C'de tutulan örnekler buradan alınarak musluk suyunda yıkandıktan sonra laminar kabinde gövdenin enfekteli kısmından alınan 1 cm'lik parçalar 3 dakika musluk suyunda yıkanmış, sonra %1'lik sodyum hipoklorit (NaClO) içerisinde 1-2 dk yüzeysel dezenfeksiyon yapılıp, steril su ile durulanmış, daha sonra 5 dk kurutulduktan sonra PDA içeren petrilere yerleştirilerek, 20-25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Doku parçasından 7-8 gün içerisinde gelişen kolonilerin uç kısmından alınan 4 mm çapındaki misel diskler PDA içeren petrilere aktarılarak saf kültürler elde edilmiştir. Bu izolatlar daha sonra PDA içeren test tüplerine aktarılarak, çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Patojen fungus izolatlarının patojenite testi

Organik maddece zengin torf ve perlitin eşit hacimde karışımı yapılarak hazırlanan toprak plastik saksılara eşit hacimde koyulmuş, daha sonra Berceste F1 çeşidi patlıcan bitkisi fideleri saksılara dikilerek 24°C'de 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyotta bitki büyütme kabininde tutulmuştur. Patlıcan fideleri 3-5 yapraklı döneme geldikten sonra gövdelerine topraktan 5 cm yukarıda açılan yaralara mikropipet yardımıyla 30µl steril su verilmiş, sürvey sonucunda elde edilen ve PDA'da 7-8 gün geliştirilen fungal izolatların aktif olarak gelişen kısmından alınan 4 mm çapındaki misel diskler yerleştirilmiştir. Kontrol olarak kullanılan bitkilerde ise açılan yaralara aynı şekilde steril su verildikten sonra steril PDA diskleri inokule edilmiştir. Uygulama yapılan bitkiler 25°C sıcaklık ve yüksek nem elde etmek amacıyla 24 saat süreyle ıslak polietilen torba içerisinde bekletilmiştir. İnokulasyondan bir gün sonra fideler nem çemberinden alınarak günlük simptom gelişimi bakımından incelenmiştir. Domateste kurşuni küf için oluşturulmuş 0-4 skalası (Çiftçi ve Altınok 2019) modifiye edilerek kullanılmış, patojen izolatlar arasından en virülant olan izolat belirlenmiş ve çalışmanın bundan sonraki aşamalarında o izolat kullanılmıştır. İnokulasyondan 14 gün sonra hastalık belirtisi görülen kısımlardan re-izolasyon yapılarak izolatlar tekrar elde edilmiş ve böylece Koch Postulatları tamamlanmıştır.

Çizelge 3.3. Hastalıklı bitkilerin değerlendirildiği 0-4 skalası

Skala Değeri	Hastalık şiddeti
0	Bitkilerde hastalık yok
1	Bitkilerin %1-33'inde hastalık belirtisi
2	Bitkikerin %34-67'sinde hastalık belirtisi
3	Bitkilerin %68-99'unda hastalık belirtisi
4	Bitkinin tamamında ölüm görülmektedir

3.2.3. Patojen fungusun tanılanması

3.2.3.a. Patojen fungusun makroskobik ve mikroskobik tanısı

Patojenite testi sonucunda en virülans olduğu tespit edilen ET 33 izolatı PDA'da geliştirilmiş, kolonilerinin kültürel ve morfolojik özellikleri dikkate alınarak Ellis (1971) ve Jarvis (1977)'ye göre tanısı yapılmıştır. Tanısı yapılan fungus kültürü PDA içeren test tüplerine aktarılarak ilerideki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.b. Patojen fungusun moleküler tanısı

ET 33 izolatının moleküler karakterizasyonu 18S-ITS1-5.8SITS2-28S bölgesi hedeflenerek gerçekleştrilmiştir. ET 33, 50 ml Patates Dextrose Broth (PDB) besiyerinde 25°C'de, 100 rpm de, 48 saat geliştirilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda elde edilen yaklaşık 200 mg taze biyokütle, homojenizasyona tabi tutulduktan sonra ticari bir DNA izolasyon kiti ile firma tarafından sağlanan protokole göre DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA'lar bütünlüğü ve saflığı açısından %0,8'lik agaroz jelde 75 V'da 60 dk boyunca yürütülerek değerlendirilmiştir.

Ardından mikrofungusların moleküler tanılamasında yaygın olarak kullanılan ITS1-5,8s-ITS2 ribozomal DNA bölgesini hedef alan ITS1 (5´TCC GTA GGT GAA CCT TGC GG 3´) ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.* 1990) primerleri kullanılarak çoğaltım yapılmıştır. Bu amaçla, ITS bölgesinin amplifikasyonu için, her iki primerden 2 µl, 5 µl 10x Taq buffer ve 2,5 U (0,5 µl) Taq DNA polimeraz, 2 µl dNTP, 3 µl magnezyum klorür, 4,5 µl kalıp DNA ve 31 µl streril dH2O ile son hacim 50 µl olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 2 dk, denatürasyon için 94°C'de 1 dk, bağlanma safhası için 55°C'de 2 dk, uzama için 72°C de 3 dk 35 döngü olarak ve son uzama ise 72°C'de 10 dk olarak programlanmıştır.

PCR ürünleri %1 lik agaroz jelde, 1X TAE tamponu içinde DNA markırı ile 80 V'da 50 dk boyunca yürütülerek değerlendirildikten sonra PureLinkTM Quick PCR purification kit ile saflaştırılılarak ticari bir firma (REFGEN) aracılığıyla her iki primer ile DNA dizi analizi yaptırılmış. Elde edilen sekans verileri BioEdit programı ile birleştirildikten sonra BLASTN 2,2,26+ programı kullanılarak GenBank'ta (Zhang *et al.* 2000) olan türlerle karşılaştırılmış ve sekans verilerinin girişi gerçekleştrilmiştir.

3.2.4. Biyolojik mücadele çalışmaları

3.2.4.a. *In vitro* testler

Daha önce farklı çalışmalarda etkililiği test edilmiş biyoajan bakterilerin fitopatojen fungus üzerine etkisini belirlemek için fitopatojen fungus ET 33 izolatının gelişmekte olan 7-8 günlük kültüründen 4 mm çapında disk alınarak PDA içeren petrilerin ortasına yerleştirilmiştir. Test edilmek istenen biyoajan bakteri strainleri ise NA içeren petrilerde geliştirildikten sonra 24 saatlik kültüründen alınarak petrinin kenar kısmına eküvyon çubukla daire şeklinde çizilmiş ve bir hafta süre ile 25°C'de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak sadece patojen fungus kullanılmıştır. Patojen fungusun tüm petri alanını kapladığı gün diğer uygulamalarda disk büyüme çap ölçümü yapılarak o uygulamaya ait ortalama değerler bulunmuştur.

Antibiyosis etkileşimde biyoajanların patojen fungus hifinin gelişimini engellendiği bölgenin (inhibisyon zonu) çapı mm olarak ölçülmüş, bakteriyel biyokontrol ajanın fitopatojen fungus kolonisinin gelişimini yüzde engellenme oranı Mari *et al.* (1996)'ın belirttiği radyal gelişmenin engelleme yüzdesi formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Çalışmada her bir bakteriyel strain için 3'er petri kullanılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

$$\% \text{ Engelleme} = (C - T) \times 100/(C\text{-}M)$$

C: Kontrol uygulamasında patojenin koloni çapı

M: Misel diskin çapı (6 mm)
T: Bakteri uygulamasında patojenin koloni çapı

Böylece, muhtemel biyoajan bakterilerin patojen fungusu antibiyosis etkileşim ile kontrol edip etmediği belirlenmiştir (Marie *et al.* 1996).

3.2.5. Potansiyel biyoajan bakterilerin tanısı

3.2.5.a. Potansiyel biyoajan bakterilerin morfolojik özellikleri

In vitro şartlada en etkili olan ve *in vivo* şartlarda da etkililiği test edilen 5 biyoajan strain NA'da geliştirilerek koloni yapısı ve koloni rengi belirlenmiştir (Kotan 1998; Kotan 2002; Kotan vd 2002; Karagöz 2009; Kotan *et al.* 2009; Erman *et al.* 2010).

3.2.5.b. Potansiyel biyoajan bakterilerin bazı biyokimyasal ve enzim özelliklerinin belirlenmesi

Katalaz Testi: Katalaz enzimin varlığını veya yokluğunu belirlemek için bakteri strainleri YDC ortamında geliştirilmiştir. 24-48 saatlik bakteri kültüründen bir öze alınıp ve üzerine 1 damla hidrojen peroksit (H_2O_2) ilave edildikten sonar kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.* 1990).

Oksidaz Testi: Oksidaz testi için %1 tetra-methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla sdH_2O ile doyurulduktan sonra üzerleri 24-48 saatlik bakteri ile kaplanmıştır. Gözlemlenen mavimsi-mor renk, değişiminin oluşması pozitif, oluşmaması ise negatif olarak kabul edilmiştir (Klement *et al.* 1990).

Kolloidal Kitin Testi: Aktiviteleri Örtücü (2012)'nün tarif ettiği şekilde hazırlanan kolloidal kitinli ortamda hidroliz zonunun milimetre cinsinden ölçülmesi ile

belirlenmiştir. Lee *et al.* (1990)'in kullandığı sıvı üretim ortamına %1,5 agar ilave edilerek hazırlanan katı besiyerlerine bir öze dolusu bakteri çizgi şeklinde inoküle edilmiş, ardından petriler 30°C'de 2 gün boyunca inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda ölçümler mm cinsinden yapılarak kaydedilmiştir.

3.2.5.c. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainlerinin MIS sisteminde tanılanması

Bu çalışmada ilk defa etkililiği test edilen FD 9 bakteri strainin yağ asidi metil esterleri izolasyonu MIS sisteminin kullanım klavuzundaki belirtilen yönteme göre yapılmıştır. Tanılanan bakteriyel strain stok kültüründen steril öze ile alınarak, Triptic Soy Broth Agar (TSBA) katı besi yerine 3 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler, 24-48 saat süreyle 27°C'ye ayarlı bir inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. 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)'dir. Yağ asidi metil esterleri izole edilen örnekler MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra, cihaz çalıştırılarak MIS sistem kılavuzunda belirtildiği gibi analiz edilmiş, bilgisayar ortamında tanı sonuçları alınmıştır (Miller 1982).

3.2.5.d. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajanların tütünde aşırı duyarlılık testi (HR)

Bu çalışmada ilk defa kullanılan 11 adet bakteri strainin tütünde yapılan aşırı duyarlılık testinde saksıda yetiştirilen White Burley tütün (*Nicotina tabacum* L. var. Samsun) çeşidinin taze yaprakları kullanılmıştır. NA besiyerinde 24-48 saat gelişen bakteri kültürleri ile hazırlanan süspansiyon (10^8 hücre/ml) steril bir enjektör ile alınarak, tütün yaprağının iki yan damar arasına enjekte edilmiştir. Belirti oluşumu için incelenmiştir. Tütün yaprağında belirti oluşturmayanlar negatif, oluşturanlar ise pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement 1968).

3.2.6. *In vivo* testler

3.2.6.a. Biyoajan bakteri strainlerinin *in vivo* testler için hazırlanması

NA'ya çizgi ekim yapılan biyoajan bakteri strainleri 28°C'de 48 saat inkubasyona bırakıldıktan sonra NB'ye aktarılarak yatay çalkalayıcıda inkubasyona bırakılmış ve daha sonra elde edilen bakteri süspansiyonun konsantrasyonu $1x10^8$ kob/ml'ye ayarlanmıştır. Bu amaçla spektrofotometrik olarak süspansiyonun absorbansı 600 nm'de 0.1'e ayarlanmıştır.

3.2.6.b. Biyoajan fungus izolatının *in vivo* testler için hazırlanması

Biyoajan fungus izolatları PDA'da yaklaşık olarak bir hafta geliştirildikten sonra spor oluşturması sağlanmış, daha sonra spor oluşturan fungusun geliştiği PDA içeren petrilere steril su dökülerek cam pipetle fungus sporları toplanmıştır. Oluşan süspansiyon behere alınarak mikropipetle homojen olarak karıştırılmış ve hemositometre ile $1x10^6$ konidi/ml spor konsantrasyonu olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca fungus süspansiyona bir damla Tween 20 ilave edilerek sporların homojen dağılması sağlanmıştır.

3.2.6.c. Saksı toprağının hazırlanması

Saksı denemelerinde; organik madde yönünden zengin torf ve perlit eşit hacimlerde karıştırılarak elde edilen karışım bitki geliştirme ortamı olarak kullanılmıştır. Bu karışımdan 1 litrelik plastik saksılara eşit ölçülerde doldurulmuştur.

3.2.6.d. Saksı denemeleri

In vitro şartlarda etkili bulunan bakteri strainlerinin patojene karşı etkinliğinin bitki üzerinde test edilmesi amacıyla, iklim odasında 3'er tekerrürlü olarak patojenite testinde de kullanılmış olan Berceste F1 çeşidi patlıcan bitkileri ile saksı denemesi kurulmuştur.

Çalışmada 3'er saksıya sadece biyoajan bakteri straini (Kontrol 1), 3'er saksıya sadece patojen fungus izolatı (Kontrol 2), 3'er saksıya sadece bakteri uygulamalarında bakteri solüsyonunun geliştirildiği steril NB besiyeri (Kontrol 3) ve 3'er saksıya da patojen fungus ve biyoajan bakteri straini birlikte uygulanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. *In vivo* çalışması deneme planı

Sayı	Uygulamalar	
1	*Kontrol 1(Sadece biyoajan)	TV-87A FDG-37 TV-6F TV-67C FD-9
2	Kontrol 2 (Sadece patojen ET 33)	
3	Kontrol 3 (Sadece sıvı taşıyıcı NB)	
4	TV-87A+ET 33	
5	FDG-37+ET 33	
6	TV-6F+ET 33	
7	TV-67C+ET 33	
8	FD-9+ET 33	

Potansiyel biyoajan bakteri uygulamasında NA'ya çizgi ekim yapılan bakteriler 28°C'de 48 saat inkubasyona bırakıldıktan sonra NB'ye aktarılmış ve yine yatay çalkalayıcıda inkubasyona bırakılmış, daha sonra elde edilen bakteri süspansiyonun konsantrasyonu $1x10^8$ kob/ml'ye ayarlanmıştır. Bu amaçla spektrofotometrik olarak süspansiyonun absorbansı 600 nm'de 0,1'e ayarlanarak kullanılmıştır. Patlıcan fidelerinin gövdesinde açılan yaralı kısma biyoajan bakteriden hazırlanan $1x10^8$ kob/ml bakteri süspansiyonundan 30µl mikropipet yardımıyla verilmiş, PDA'da geliştirilen patojen

fungusun uç kısmından alınan misel disk açılan yaraya yerleştirilmiş ve gövde parafilmle sarılmıştır.

3.2.6.e. Saksı denemelerinin sonuçlarının alınması

Hastalık simptomları oluşuncaya kadar bitkiler 1 hafta süreyle günlük olarak incelenmiştir. Hastalıklı bitkilerin değerlendirilmesi bitkinin belirti durumuna göre patojenite testinde de kullanılan 0-4 skalasına göre yapılmıştır.

3.2.6.f. Sonuçların analiz edilmesi

Elde edilen *in vitro* testi sonuçları ile ilgili değerlere varyans analizi uygulanmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar LSMeans Student testine $P<0,01$ önem seviyesinde karşılaştırılmıştır. Veri analizleri JMP IN (SAS Enstitüsü, cary, NC, %.0 PC versiyonu) istatistik yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.6.g. *In vivo*'da en etkili sonuç veren bakterilerin moleküler tanısı

TV-87A ve FGG-37A bakteri strainleri *in vivo* şartlarda en etkili sonuç vermiş, bunların moleküler karakterizasyonu 16Sr 23Sr DNA bölgesi hedeflenerek gerçekleştrilmiştir. Strainler 50 ml LB besiyerinde 25°C de, 100 rpm de, 24 saat inkübasyona bırakılmış, ardından ticari bir DNA izolasyon kiti ile firma tarafından sağlanan protokole göre DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. İzole edilen DNA'lar bütünlüğü ve saflığı açısından %0,8'lik agaroz jelde 75 V'da 60 dk boyunca yürütülerek değerlendirilmiştir.

Ardından bakterilerin moleküler tanılamasında barkod olarak kullanılan bölgeyi hedef alan 27F(AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) ve 907R (CCGTCAATTCMTTTRAGT TT) (Chandler *et al.* 2011) primerleri kullanılarak çoğaltım yapılmıştır. Bu amaçla, OTU bölgesinin amplifikasyonu için, her iki primerden 1 µl, 5 µl 10x Taq buffer ve 0,5 µl Taq DNA polimeraz, 1 µl dNTP, 4 µl magnezyum klorür, 3 µl kalıp DNA ve 34,5 µl

streril dH_2O ile son hacim 50 µl olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 2 dk, denatürasyon için 94°C'de 1 dk, bağlanma safhası için 53°C'de 1 dk, uzama için 72°C de 1,5 dk 30 döngü olarak ve son uzama ise 72°C'de 10 dk olarak programlanmıştır.

PCR ürünleri %1 lik agaroz jelde, 1X TAE tamponu içinde DNA markırı ile 80 V'da 50 dk boyunca yürütülerek değerlendirildikten sonra PureLinkTM Quick PCR purification kit ile saflaştırılarak ticari bir firma (REFGEN) aracılığıyla her iki primer ile DNA dizi analizi yaptırılmıştır. Elde edilen sekans verileri BioEdit programı ile birleştirildikten sonra BLASTN programı kullanılarak, GenBank'ta (Zhang *et al.* 2000) olan türlerle karşılaştırılarak ve sekans verilerinin girişi gerçekleştirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi

Sürvey çalışması sonucunda elde edilen 4 fungal izolat ile Berceste F1 patlıcan çeşidi kullanılarak patojenite testi yapılmıştır. İnokulasyon yapılan meyvelerde 5. günden itibaren yuvarlak, kahverengi lekeler görülmeye başlanmıştır. 7. gün sonunda meyvede lekeler büyümüş, rengi koyulaşmaya başlamış ve gri renkte küf tabaka oluşmuştur. İzolatlar içerisinde ET 3'ün oldukça virülent olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında ET 33 izolatı kullanılmıştır.

Çizelge 4.1. Çalışmada elde edilen patojen fungus izolatları

İzolat	İzole edildiği bitki	Lokasyon
ET 32	Patlıcan	Antalya
ET 33	Patlıcan	Antalya
ET 34	Patlıcan	Antalya
ET 35	Patlıcan	Antalya

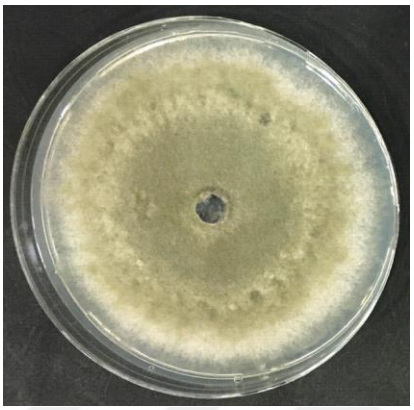
Çizelge 4.2. Patojen fungus izolatlarının virülantlık skalası

İzolat	Hastalık şiddeti (0-4 Skalası)	
ET 33	3,83	A
ET 34	3,00	B
ET 35	2,83	B
ET 32	2,67	B
CV	12,96	
LSD	0,80	

4.2. Patojen Fungususun Morfolojik, Makroskobik ve Mikroskobik Özellikleri

B. cinerea kolonileri makroskobik ve mikroskobik özellikleri dikkate alınarak morfolojik olarak tanılanmıştır.

B. cinerea kolonileri 25°C'de PDA'da 10 günde 8 cm çapa ulaşmaktadır. Başlangıçta misel gelişimi beyaz renkte olup kültür yaşlandıkça kirli beyazgrimsi kahverengine dönmekte ve pamuksu şekildedir (Şekil 4.1, Çizelge 4.3).

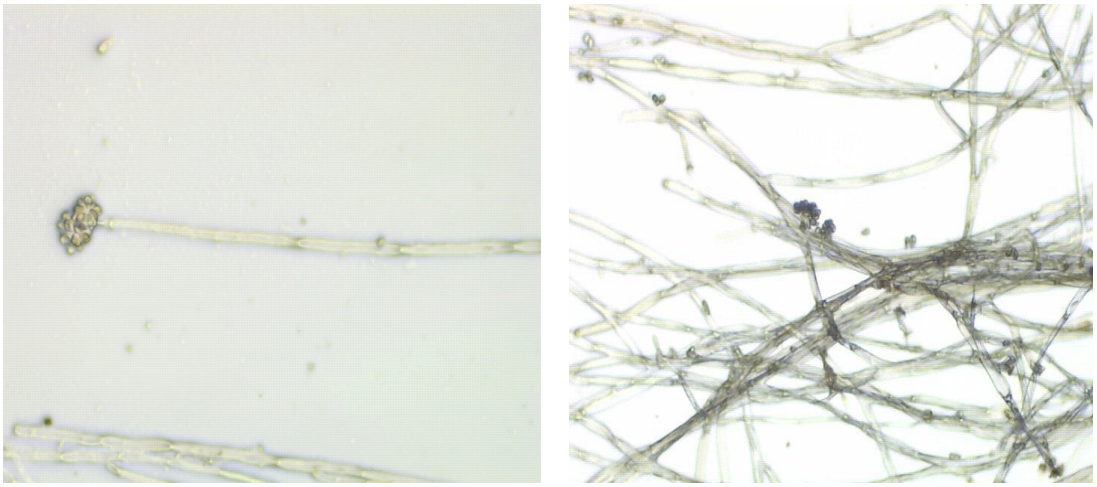


Şekil 4.1. *Botrytis cinerea*'nın PDA'da gelişimi

Çizelge 4.3. *Botrytis cinerea* ET 33 izolatının koloni görünüşü

Koloni görünüşü						
Büyüme şekli		**Renk**		**Şekil**		**Yapısı**
Yuvarlak		Kahverengi		Yuvarlak		Pamuksu

B. cinerea'nın konidileri renksiz veya çok açık renkli, limon veya yuvarlak şekildedir (Şekil 4.2). Mikroskop altındaki miselleri kahverengi, kalın ve bölmeli görünmektedir. Uygun şartlarda etmen fungus sklerotlar oluşturur (Karaçalı 2006).



a **b**

Şekil 4.2. *Botrytis cinerea* ET 33 izolatının misellerinin mikroskobik görüntüsü (a: 40X, b: 60X)

4.3. *Botrytis Cinerea*'nın ET 33 İzolatının Moleküler Tanısı

İzolasyonlar sonucu elde edilen patojen fungus izolatlarından virülanslığı en yüksek olan ET 33 izolatının moleküler teşhisi yapılmış ve yapılan tanı sonucunda %99 benzerlikle "*Botrytis cinerea*"olarak tanılanmıştır (Çizelge 4.4). ET 33 izolatının sekansı Çizelge 4.5'te, sekans yapısı ise Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.4. *Botrytis cinerea* ET 33 izolatının moleküler tanısı, benzerlik indeksi ve erişim numarası

İzole edildiği bitki	ITS tanılama sonucu	Tanısı (%)	Erişim numarası*
Patlıcan	*Botrytis cinerea*	99	MG273689

*GenBank

Çizelge 4.5. *Botrytis cinerea'*nın ET 33 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5,8S ribosomal RNA, ITS 2, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı

1	AGGAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTCTCCGTAGGTGAACCTGCGGAGGGATCATTAC ACAAAT
63	ATGAAGGCGGGCTGGCACCTCCCGGGGTGGCCAGCCTTGCTGAATTATTCCACCCGT GTCTTT
127	TGCGTACTTCTTGTTTCCTTGGTGGGCTCGCCCACCACAAGGACCAACCCATAAACC TTTTTG
191	CAATGGCAATCAGCGTCAGTAACAATGTAATAATTTACAACTTTCAACAACGGATCT CTTGGTT
256	CTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTC AGTGCA
319	TCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATGCCTGTTCGA GCGTCA
383	TTTGTACCCTCAAGCTTTGCTTGGTGTTGGGCGTCTTTTTGTCTCCCCTTGCGGGAGA CTCGC
447	GCCTTAAAGTCATTGGCAGCCGGCCTACTGGTTTCGGAGCGCAGCACAAGTCGCGC TCTCTTC
511	CAGCCCCAAGGTCTAGCATCCACCAAGCCTTTTTTTCAACTTTGACCTCGGATCAGG TAGGA

Çizelge 4.6. *Botrytis cinerea'*nın ET 33 izolatının sekans yapısı

1	54	rRNA	18S ribosomal RNA
55	224	misc RNA	ITS 1
225	383	rRNA	5,8S ribosomal RNA
384	544	misc RNA	ITS 2
545	566	rRNA	28S ribosomal RNA

4.4. Biyolojik Mücadele Çalışmaları

4.4.1. *In vitro* testler

Daha önce yapılan çalışmalarda farklı patojenlere karşı etkililiği belirlenmiş olan 12 bakteri straininin etkililiği bu çalışmada da *B. cinerea*'nın ET 33 izolatına karşı *in vitro* şartlarda test edilmiştir. Test sonuçları Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6'da verilmiştir.

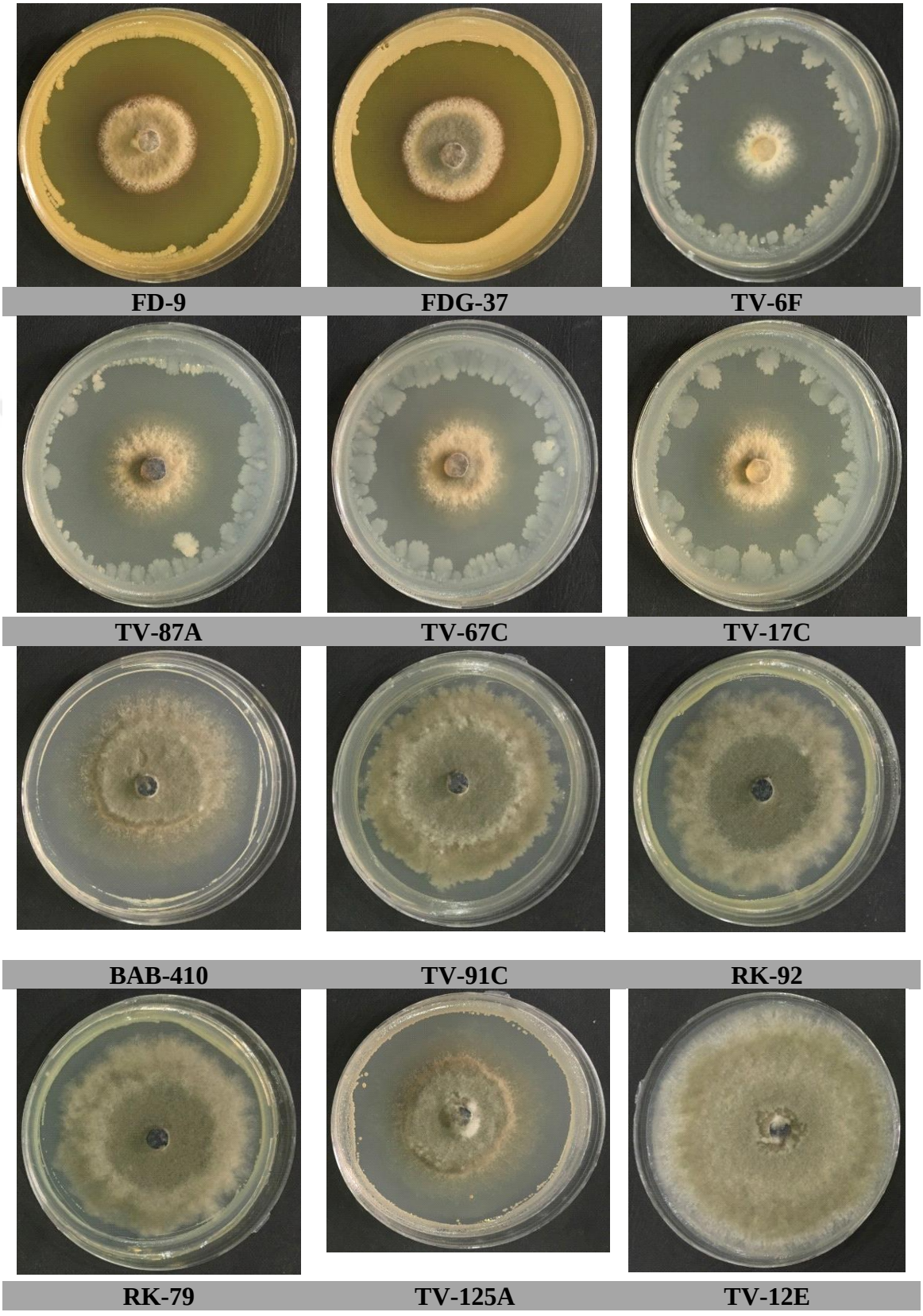
Çizelge 4.7. *In vitro* petri denemelerinde *Botrytis cinerea* ET 33 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin etkililiği

Uygulama	Koloni çapı (mm)		Yüzde engelleme oranı (%)	
FD-9	3,42	A	65,23	A
FDG-37	3,42	A	65,23	A
TV-6F	3,67	A	62,14	A
TV-87A	3,75	A	61,11	A
TV-67C	3,09	A	59,26	A
TV-17C	4,73	AB	48,97	AB
BAB-410	5,83	ABC	35,39	BC
TV-91C	5,88	ABC	34,77	BC
RK-92	6,83	BC	23,05	CD
RK-79	6,93	CD	21,81	CDE
TV-125A	7,02	CD	20,78	CDE
TV-12E	8,07	DE	3,91	DE
Kontrol	8,38	E	0,00	E
CV	**19,55**		**34,88**	
LSD	**1,84**		**22,68**	

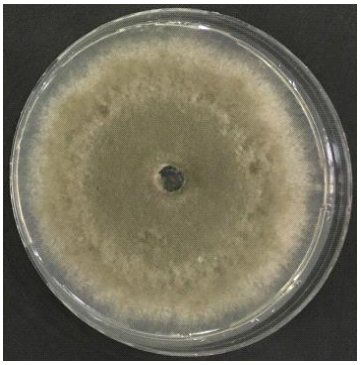
* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz. farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p<0,01$).

In vitro şartlarda test edilen toplam 12 bakteriden 11'i az veya çok oranda *B. cinerea*'nın ET 33 izolatına karşı etkililik göstermiştir. Koloni çaplarına bakıldığında en düşük koloni çapı TV-12E izolatında (0,32 mm), en yüksek koloni çapı ise FD-9 ve FDG-37 strainlerinden (5,28 mm) elde edilmiştir (Çizelge 4.7. Şekil 4.4).

En yüksek etkililiği gösteren FD-9 ve FDG-37 bakteriyel strainleri %65,23 oranında patojen fungusun gelişimini engellerken, en düşük etki görülen TV-12E straini ise %3,91 engelleme oranı ile kontrol ile aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.7. Şekil 4.4).



Şekil 4.3. *In vitro*'da *Botrytis cinerea*'nın Et 33 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA Petri görünümleri (devam)



ET 33

Şekil 4.3. *In vitro*'da *Botrytis cinerea*'nın Et 33 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA Petri görünümleri

4.4.1.a. Potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin bazı morfolojik özellikleri

In vitro denemelerinde etkili bulunan toplam 5 bakteri strainlerinin koloni şekilleri ve renkleri Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. *In vivo* çalışmasında kullanılan bakterilerin koloni şekilleri, renkleri ve kamçı durumları

İzolat*	Koloni rengi	Hücre şekli	Kamçı durumu
FD-9	Krem	Elipsoit	Peritrik
FDG-37	Turuncu	Çubuk	Peritrik
TV-6F	Krem	Elipsoit	Peritrik
TV-87A	Krem	Elipsoit	Peritrik
TV-67C	Krem	Silindirik	Peritrik

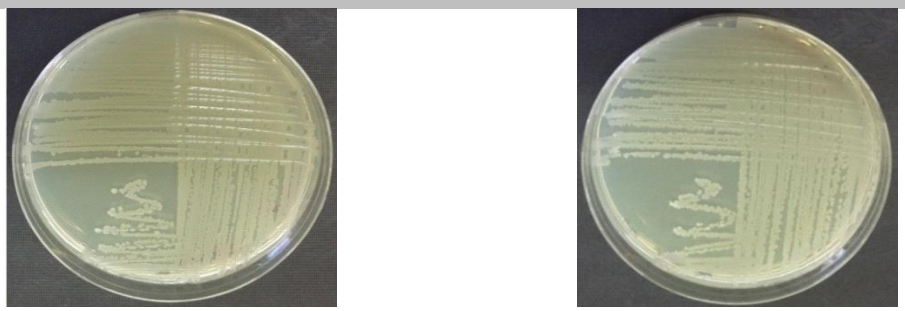
*Bakteriler NA besiyerinde geliştirilmiştir.

Bakteri strainlerinden FD-9, TV-6F, TV-87A ve TV-67C krem rengi koloni oluştururken, FDG-37 strainleri turuncu renkte koloni oluşturmuşlardır. FDG-37 çubuk, TV-67C silindirik şekilde diğerlerinin ise elipsoit koloni yapısı oluşturduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Çalışmada *in vitro* şartlarda etkili olduğu tespit edilen ve *in*

vivo şartlarda da etkililiği test edilmek üzere aktarılan 5 bakteri strainin NA'daki gelişimleri ise Şekil 4.4'te verilmiştir.



FD-9 **FDG-37** **TV-6F**



TV-87A **TV-67C**

Şekil 4.4. *In vitro* şartlarda etkili bulunan bakteri strainlerinin NA besin ortamındaki gelişimleri

4.4.1.b. Çalışmada kullanılan bakteri strainlerinin bazı biyokimyasal ve enzim testleri

Elde edilen bakteriyel strainlerinin biyokimyasal test sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Çalışmada kullanılan biyoajan bakterilerin biyokimyasal ve enzim testleri

İzolat	Katalaz	Oksidaz	Kitinaz
TV-87A	+	-	-
RK-79	+	-	-
TV-67C	+	-	-
TV-17C	+	-	-
TV-6F	+	-	-
FDG-37	+	-	-
FD-9	+	-	-
RK-92	+	-	-
TV-91C	+	+	-
TV-12E	+	-	-
BAB-410	+	-	+
TV-125A	+	-	-

Pozitif: +, Negatif:-

Çalışmada kullanılan TV-91C bakteri straininn oksidaz test sonucu pozitif, diğer izolatların hepsi negatif, kitin testinde de BAB-410 bakteri straini pozitifken diğerleri negatif sonuç vermiştir. Çalışmada kullanılan etkili bakterilerin hepsinin katalaz testi sonuçları ise gram pozitif olmuştur (Çizelge 4.9).

İlk defa bu çalışmada etkililiği test edilen FD-9 bakteri straininin mikrobiyal tanı sistemine (MIS) göre tanısı yapılmış ve %62,6 benzerlikle *Bacillus pumilus* olduğu belirlenmiştir. Tütünde yapılan aşırı duyarlılık testi sonucu ise negatif çıkmıştır(Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. İlk defa bu çalışmada etkililiği test edilen FD-9 bakteri strainininin mikrobial tanılama sisteminde (MIS) tanısı, benzerliği ve aşırı duyarlılık testi sonucu.

İzolat	İzole edildiği material	MIS Tanısı	B	HR	Kaynak
FD-9	*Bemisia tabaci*	*Bacillus pumilus*	0,626	-	Bu çalışma

***B:** Benzerlik oranı, **N:** Azot fiksasyonu, **P:** Fosfat çözünürlüğü, **HR:**Aşırı duyarlılık, ***:**Test edilmedi

4.4.2. *In vivo* testler

4.4.2.a. Saksı denemeleri

Ümitvar biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan fungus ve bakterileri strainlerinin *in vitro* testi sonucunda oluşturdukları simptomlar değerlendirilmiş ve Çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Uygulamaların patlıcan bitkisinde kurşuni küf hastalık şiddeti üzerine etkisi

Uygulamalar		Hastalık şiddeti (0-4 skalası)
Kontrol 1 (Sadece patojen)		4,00 B
Kontrol 2 (Sadece biyoajan)	FD-9	0,00 A
	FDG-37	0,00 A
	TV-6F	0,00 A
	TV-87A	0,00 A
	TV-67C	0,00 A
Kontrol 3 (Sadece NB)		0,00 A
TV-87A+ET 33		0,00 A
FDG-37+ET 33		0,67 A
TV-6F+ET 33		3,33 B
TV-67C+ET 33		3,33 B
FD-9+ET 33		3,67 B
	CV	**36,18**
	LSD	**0,77**

** Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz. farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p<0,01$).

Yapılan çalışmada sadece NB ve sadece biyoajan TV-87A uygulaması yapılan kontrol 1 ile patojenin birlikte uygulandığı saksılardaki patlıcan bitkilerinde simptoma rastlanılmamış ve istatistiki olarak bu uygulamalar aynı grupta yer almıştır (Çizelge

4.11). Bu uygulamaları FDG-37 (0,67) ve TV-6F (3,33), TV-67C (3,33) ve FD-9 (3,67) bakteriyel strainlerinin patojenle birlikte uygulandığı saksılar takip etmiştir. En fazla simptom ise, sadece patojen uygulaması olan ET 33'ün tek başına uygulandığı saksılarda tespit edilmiştir (Çizelge 4.11).

In vivo şartlarda test edilen bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri Şekil 4.5'de verilmiştir.

In vivo çalışmada TV-87A ve FDG-37 bakteriyel biyoajan uygulaması yapılan saksılarda 7. gün sonunda sadece patojen uygulanan kontrol 1 saksılarında hastalık görülmüş, diğer saksılarda ise herhangi bir hastalık simptomuna rastlanılmamıştır (Şekil 4.6;4.7). TV-6F, TV-67C ve FD-9 uygulaması yapılan saksılarda ise, 7. gün sonunda kontrol 1 ve patojen ve biyoajanın birlikte uygulandığı saksılarda hastalık simptomu görülmüştür (Şekil 4.7;4.8:4.9).



Kontrol 1 **Sadece patojen**	**Kontrol 2** **Sadece biyoajan**	**Kontrol 3** **Sadece NB**	**ET 33+TV-87A**

Şekil 4.5. *In vivo* şartlarda test edilen TV-87A bakteri strainin saksı denemesi görüntüleri



Kontrol 1 Sadece patojen	Kontrol 2 Sadece biyoajan	Kontrol 3 Sadece NB	ET 33+FDG-37

Şekil 4.6. *In vivo* şartlarda test edilen FDG-37 bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri



Kontrol 1 Sadece patojen	Kontrol 2 Sadece biyoajan	Kontrol 3 Sadece NB	ET 33+TV-6F

Şekil 4.7. *In vivo* şartlarda test edilen TV-6F bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri



Kontrol 1 Sadece patojen	Kontrol 2 Sadece biyoajan	Kontrol 3 Sadece NB	ET 33+FD-9

Şekil 4.8. *In vivo* şartlarda test edilen FD-9 bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri



Kontrol 1 Sadece patojen	Kontrol 2 Sadece biyoajan	Kontrol 3 Sadece NB	ET 33+TV-67C

Şekil 4.9. *In vivo* şartlarda test edilen TV-67C bakteriyel strainlerinin saksı denemesi görüntüleri

4.4.2.b. *In vivo*'da en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları

Hem *in vitro* hem de *in vivo* şartlarda etkili olduğu tespit edilen 2 biyoajan bakteri straininin saf kültürlerinden moleküler tanı yapılmış, moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri Çizelge 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.12. *In vivo* şartlarda en etkili bulunan bakterilerin moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri

İzolat	İzole edildiği material	ITS tanı sonucu	Benzerlik indeksi (%)	Erişim numarası*
FDG-37	Toprak	*Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens*	98,7	NR114473
TV-87A	Şekerpancarı	*Bacillus amyloliquafaciens*	95	MN507862

*GenBank

Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda en etkili bulunan bakteri strainlerinden FDG-37'nin %98,7 *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aureofaciens*, TV-87A'nın ise %%95 benzerlik indeksi ile *Bacillus amyloliquafaciens* olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.12). Bakteri strainlerinin sekans sonuçları Çizelge 4.13 ve 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.13. FDG-37'nin ITS1+5,8S rDNA+ITS2 sekansı

1	TCGGAGCGGTAGAGAGAAGCTTTGCTTCTCTTGAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTG
74	GTAGTGGGGTATCAACGTCCGGAAACGGACCCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTC
148	GGGCCTTTCCCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGACGATC
222	CGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
295	GTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGGCGTATKKTKTKAAGAAGGTCTTCGGA
368	TTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGTACTTACCTAATACGTGAGTATTTTGACGTTACCGACAGAATAA
443	GCACCGGCTTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGT
517	AAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAAC
591	TGGCGAGCTAGAGTATGGTAGAGGGTGGTGGAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAA
665	CACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGA
737	TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAGCTCTTAGTGGCGCAG
812	CTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGC
886	ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATCCAATGAACT
960	TTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAG
1035	ATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTACCAGCACGTCATGGTGGGCACTCTAAGG
1110	AGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTACA
1184	CACGTGCTACAATGGTCGGTACAGAGGGTTGCCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCCCATAAAACCGATCGTAG
1258	TAGTCCGGATTGCAGTCTGCAACTCGACTGCGTGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGG
1333	TGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCACCAGAAGTAGCTAGTCT
1408	TAACCTTCGGGAG

Çizelge 4.14. TV-87A'nın ITS1+5,8S rDNA+ITS2 sekansı

1	AGAGCGGGATCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCCTAACACTTAG CA
78	CTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTCGCTCCTCAGCGTCAGTT AC
156	AGACCAGAGAGTCGCCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCACATCTCTACACATTTCACCGCTACACGTGGAATTCCACT CT
235	CCTCTTCTGCACTCAAGTTCCCCAGTTTCCAATGACCCTCCCCGGTTGAGCCGGGGGCTTTCACATCAGACTTAAG AA
313	ACCGCCTGCGAGCCCTTTACGCCCAATAATTCCAGACAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCAC GT
390	AGTTAGCCGAGGCTTTCTGGTTAGGTACCGTCAAGGTGCCCCCTATTTGACGGTACTTGTTCTTCGCTATCACAGA GC
468	ITTACGATCCGAAAACTTCGTCACTCACGCGGCGTTGCTCCGTCAGACTGTTCGTCCATTGCAGGAGATTGCCTAC G
545	TCTGCCTCCCGAAGGAGTCTGGTCCGCGTCTCAGTCCCAGTGTGACCGATCACCTGCTCAGGTCTTCACGCATCGT C
622	GCCTTGGTGAGCGGTACCTCACCACTAGCTAATGCCCCTGCGGTCCATCTGTAATCGTACCGAAGCAACCTTTTAT GT
670	CTGATCATGAGGTCAGACAACATTCCGGTATTAACCCCGCTTTCCGGATTATCCAGTCTAACGGCAGGTTACCCA GTG
778	TACTCACCGGCCGCCGTAACTTCAGGAGGAGTACCCTTCTGTCCGTCGATTGGATGATTAGGCACGCCCCACCGT TC
854	GTCCTGAACAAGAACAAACTCAAA

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yürütülen bu çalışmada Antalya'nın Serik İlçesi'nde hastalık görülen patlıcan bitkilerinin meyve ve gövdesinden izole edilen izolatların klasik ve moleküler tanı yöntemleri kullanılarak *B. cinerea* olduğu ortaya konulmuş ve biyolojik kontrolünü belirlemek amacıyla da hastalık etmenine karşı (2 *B. megaterium,* 2 *P. agglomerans,* 2 *B. pumilus,* 2 *B. subtilis,* 1 *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens,* 1 *P. polymxa,* 1 *B. thuringiensis* ve 1 *B. cereus* straini) 12 adet bakteri strainin *in vitro* şartlarda etkililiği test edilmiştir. Bakteri strainlerinden petri denemelerinde patojene karşı etkili bulunan 5 adedinin *in vivo* şartlarda da saksı denemelerinde patlıcanda kurşuni küf hastalığının kontrolü üzerine etkinlikleri araştırılmıştır. Yapılan çalışmada *B. cinerea*'nın ET 33 izolatına karşı *P. chlororaphis* subsp. *aureofaciens* (FDG-37) %65,23 ve *B. amyloliquefaciens* (TV-87A) %61,11 oranlarında *in vitro* şartlarda etkili olmuş, *in vivo* şartlarda ise FDG-37 bakteri straini uygulanan fidelerde hastalık hiç görülmemiş, TV87A uygulanan saksılarda ise düşük oranda hastalık tespit edilmiş, ancak yapılan istatistik analiz sonucunda her iki bakteri straini de aynı grupta yer almıştır.

Kurşuni küf hastalığı etmeninin biyolojik mücadelesini araştırmak amacıyla çok sayıda yerli ve yabancı araştırıcı tarafından çalışmalar yürütülmüştür. Dönmez *et al.* (2011) yaptıkları çalışmada; Doğu Anadolu Bölgesi'nde çeşitli toprak kaynakları ve bitki türlerinden izole ettikleri 186 bakteri türünü çilekte kurşuni küf hastalığını kontrol altına almak açısından değerlendirmişlerdir. *In vitro* şartlarda 186 bakteri türünün 36'sı *B. cinerea*'nın gelişimini durdurmuş, bu strainlerden *Bacillus lentimorbus, B. megaterium, B. pumilis, B. subtilis, Enterobacter intermedius, Kurthia sibirica, P. polymyxa* ve *P. agglomerans* biyokontrol ajanı olarak tanımlanmıştır. Yapılan bu çalışmada da *in vitro* şartlarda *B. cinerea*'ya karşı *B. subtilis* (TV-6F) ve *B. megaterium* (TV-87A) strainlerinin yüksek oranda etkili olduğu, *B. pumilis* (TV-67C) strainin orta derecede etkili olduğu belirlenmiştir. *P. polymyxa* (TV-12E), *P. agglomerans* (RK-92) ve *B. megaterium* (TV-91C) strainlerinin ise etkili olmadığı kaydedilmiştir.

Fasulye ve domateste kurşuni küfe neden olan *B. cinerea*'nın sporulasyonunu ve enfeksiyon şiddetini azaltmak amacıyla yapılan bir çalışmada, 60 mikroorganizma denenmiş, *Xanthomonas maltophila*, *B. pumilis, Lactobacillus* sp., *Pseudomonas* sp. ve *Gliocladium catenulatum* strainleri başarılı bulunmuştur (Elad *et al.* 1994).

Yıldız (1990) yaptığı çalışmada; *B. cinerea*'nın biyolojik ajanlarla kontrolü için Ege ve Akdeniz Bölgelerindeki sebze seralarından 756 adet farklı mikroorganizma izole etmiş, bu mikroorganizmaların *in vitro* şartlarda *B. cinerea*'ya karşı etkililiklerini denemiş ve test bitkisi olan baklada aldığı sonuçlardan yola çıkarak, *Paecilomyces lilacinus* (F-8), *Bacillus firmus* (B-19) ve *Actinomycetes* (A-2)'in *B. cinerea*'nın gelişimini engellediğini kaydetmiştir. Yine aynı çalışmada, antagonistler ile domates, hıyar, biber ve patlıcan bitkilerinde saksı denemeleri yapılmış, patlıcanda *P. lilacinus*'un %82,9, *B. firmus'*un %60-7, *Actinomycetes* (A-2)'in ise %11,08 oranında hastalığın gelişimini engellediği kaydedilmiştir.

Çilek bitkisinde, *B. cinerea*'nın *B. mycoides* ve *Pichia guilermondii* tarafından baskılanmasında 14 farklı vitamin, aminoasit ve besin takviyesi kombinasyonunun etkisinin test edildiği bir çalışmada, besin takviyelerinin bazılarının *B. cinerea* gelişimini düşürdüğü ve biyokontrol etkinliğini geliştirdiği tespit edilmiştir (Guetsky *et al.* 2002).

B. cinerea ile biyolojik mücadelede *Bacillus* cinsine ait türlerin kullanıldığı çalışmalar yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. *Bacillus* türleri, patojenlere karşı antibiyotik üretmelerinin (Loeffler *et al.* 1986; Krebs *et al.* 1998) yanı sıra, spor oluşturmaları (Bochow 1995), hemen her tip toprakta bulunmaları ve bitkilerde endofitik olarak kolonize olabilmelerinden (Hardoim *et al.* 2008; Tiwari *et al.* 2014) dolayı da biyoajan olarak giderek yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmışlardır.

Bacillus strainlerinin SG08-09 ve SG09-12 kurşuni küf hastalığına neden olan *B. cinerea*'ya karşı etkililiklerinin belirlendiği bir çalışmada, bu strainlerin biyolojik kontrol ajanı olarak etkinliği ve domates bitkisinin büyümesini destekleme yetenekleri

hem laboratuarda hem de sera koşullarında değerlendirilmiştir. Sera denemelerinde her iki strainde *B. cinerea*'yı kontrol etmiş, kök ve sürgünlerde %10-42 büyüme artışı sağlamış. Ayrıca hastalık şiddetini de sırasıyla %67 ve %66 oranında azaltmıştır (Sheng *et al.* 2016). Bu çalışmada da *Bacillus* türüne ait 8 strain test edilmiş ve %20,78-65,23 oranında hastalık şiddetinde azalma tespit edilmiştir.

Bu cinse ait *B. subtilis* türünün ise patojenler üzerinde geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olduğu (Grover *et al.* 2009), bu durumun da antibiyotik üretimi ve besin için patojen ile rekabet açısından avantaj sağladığı vurgulanmıştır (Akhtar *et al.* 2010).

B. subtilis S1-0210 straininin çilekte *B. cinerea*'ya karşı *in vitro* ve *in vivo* şartlarda test edildiği bir çalışmada *in vitro* şartlarda enfeksiyon şiddetinin %70'den %5'e indirildiği, saksı denemelerinde ise çilek meyvesinde kurşuni küf oluşumunun %85-89 oranında kontrol edildiği kaydedilmiştir. Aynı çalışmanın tarla denemelerinde ise kurşuni küf oluşumunun %70 oranda kontrol edildiği belirlenmiştir. Sonuç olarak *B. subtilis* S1-0210 straininin çilekde kurşuni küfü kontrol etmek için potansiyel bir biyolojik kontrol ajanı olabileceği kaydedilmiştir (Hung *et al.* 2005). *B. subtilis*'in TV-6F ve TV-17C strainlerinin test edildiği bu çalışmada da sırasıyla %62,14; %48,97 engelleme oranları tespit edilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda kırmızı lahanada *S. sclerotiorum*'a (%76,46) (Tozlu *et al.* 2016), ahudududa *B. cinerea*'ya (%95,24) (Tekiner *et al.* 2018), hıyar ve çilekte *Alternaria alternata*'ya (%77,61 ve %77,11) (Tozlu *et al.* 2017; Tozlu *et al.* 2018), ayvada *Alternari alternata*'ya (%77,61) (Tekiner *et al.* 2019), mandalinada *Penicillium digitatum*'a (%69) (Mohammadi *et al.* 2017) ve domateste *Alternaria solani*'ye (%69) (Çamlıca and Tozlu 2019) karşı TV-6F straini test edilmiş *in vitro* şartlarda başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmada da TV-6F straini patlıcandan izole edilen *B. cinerea*'nın in vitrodaki gelişimini %62,14 oranında engellemiştir.

Mari *et al.* (1996) tarafından yürütülmüş bir çalışmada. antagonistik bakteriler domateste kurşuni küf hastalık etmeninin kontrolünde etkinlik bakımından test edilmiş, 5PVB (*B. amyloliquefaciens*) strainin*in B. cinerea*'yı baskıladığı belirtilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada, *Bacillus velezensis*'in 5YN8 ve DSN012 iozlatlarının biberde kurşuni küf hastalığını önemli ölçüde kontrol ettiği ve biber gelişimini artırdığı belirtilmiştir (Jiang *et al.* 2018).

B. megaterium'un TV 87A strainin daha önce yapılan bir çalışmada hıyar ve çilekten izole edilen *A. alternata*'ya karşı test edilmiş ve sırasıyla %77,61 ve %77,11 oranlarında patojenin gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Tozlu *et al.* 2017; Tozlu *et al.* 2018). Bu çalışmada da *in vitro*'da %61,11 oranında *B. cinerea*'nın gelişimini engelleyen strain, *in vivo*'da patlıcan bitkilerinde patojen gelişimini tamamen durdurmuştur.

B. megaterium TV-87A strainin buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana*'nın kontrolünde önemli derecede rol oynadığını ve bitki gelişim parametrelerinde de önemli artışlara sebep olduğu da yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (Gökçe ve Kotan 2016). Ayrıca bu strainin bitki gelişimine önemli katkı sunduğu da tespit edilmiştir.

Aynı şekilde bu çalışmada da etkililiği test edilmeye çalışılan *B. pumilus*'un TV 67C straini hıyar ve çilekten izole edilen *A. alternata*'ya karşı test edilmiş ve sırasıyla %87,63 ve %65,89 oranlarında etkili bulunmuştur (Tozlu *et al.* 2017; Tozlu *et al.* 2018). Ayrıca Çamlıca ve Tozlu (2019) yaptıkları çalışmada da TV 67C strainin domateste *Alternaria solani*'nin gelişimini *in vitro*'da %69 oranında engellediğini tespit etmişlerdir.

Hastalık etmenine karşı bakteriler kullanılarak yapılan araştırmalarda; bazı fluoresent *Pseudomonas* türleri ile sera şartlarında marul ve domates bitkisinde etkili bir kontrol sağlandığı da bildirilmiştir (Gould *et al.* 1996; Card *et al.* 2002; Lee *et al.* 2006; Yıldız *et al.* 2007). Antagonistik etkili *P. fluorescens* bakteriyel strainleri ile Fenhexamid etken maddeli bir fungisitin düşük dozlarının birlikte uygulandığıbir çalışmada %65-75

oranlarında hastalığın önlenebildiği kaydedilmiştir (Yıldız *et al.* 2007). Walker *et al.* (2001) ise yaptıkları çalışmada, *Pseudomonas antimicrobica* strainininin *B. cinerea* konidial çimlenmesini engellediğini tespit etmişlerdir.

Sağlıklı domates bitkisinden izole edilen *Pseudomonas* QBA5 strainininin *B. cinerea*'ya karşı test edildiği bir çalışmada ise bakteri strainininin etkili olduğu belirlenmiştir (Gao *et al.* 2018). Yapılan bu çalışmada da *P. fluorescens* FDG-37 straini *in vitro* şartlarda kurşuni küf hastalığını %65,23 oranında engelleyerek en yüksek etkiyi göstermiştir.

Tozlu (2016), *P. fluorescens*'in FDG 37 izolatının havuçlarda acı çürüklük hastalığı yapan *G. candidum*'un gelişimini *in vitro*'da %26,85 oranında, Gökçe ve Kotan (2016) ise buğday kök çürüklüğüne neden olan olan *B. sorokiniana*'nın gelişimini %66,39 engellediğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise aynı izolat patlıcandan izole edilen *B. cinerea*'ya karşı %70,63 oranında etkili olmuştur.

Biyolojik mücadelede önemli yeri olan *Paenibacillus* cinsine ait *Paenibacillus terrae* ile yapılan bir çalışmada da AY-38 strainin sekonder metabolit üretmedeki rolü belirlenmeye çalışılmış ve *P. terrae* (AY-38) strainin önemli miktarda IAA (indol-3-asetik asit) (109,57 +/- 3,2 ugm (-1) salgıladığı ve bitki büyümesini artırdığı, ayrıca *B. cinerea*'yı kontrol etmede başarılı olduğu belirlenmiştir (Kim *et al.* 2017)..

Helbig (2001) çilekte kurşuni küf üzerine yaptığı çalışmada *Paenibacillus polymyxa* bakteriyel biyoajanını kullanmış çilek bitkisinin kurşuni küf hastalığına yaklaşık olarak %15 daha az yakalandığı sonucunu ortaya koymuştur. Ancak bu çalışmada kullanılan TV-12E (*P. polymyxa*) straini ise %3,91 oranda düşük etkili olmuştur. Yine çilekte, *B. cinerea'*ya karşı *Paenibacillus elgii* HOA73 strainin izole edilen protokatejik asidin (PCA) saflaştırılması, tanımlanması ve özelliklerinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada, PCA'nın *B. cinerea*'ya karşı güçlü antifungal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Nguyen *et al.* 2014).

Biyolojik mücadele kapsamında kullanılan bakteriler arasında en çok çalışılan grup kök yüzeyine kolonize olan ve kök çevresindeki toprakla yakın ilişkide bulunan rizobakteriler oluşturmaktadır. Bitkinin farklı kısımlarından elde edilseler de bitki büyümesini sağlamak, bitkiyi stresten korumak ve patojenleri kontrol altında tutmak için aynı mekanizmaları kullanırlar. Bunlar; yaşam alanı ve besin için rekabet, gelişim engelleyici kimyasalların üretimi ve bitkide teşvik edilmiş dayanıklılığın harekete geçirilmesini kapsamaktadır (Compant *et al.* 2005). Bitkide büyümeyi artırırken ya da patojen gelişimini engelleyici rol oynarken kullandıkları mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmamakla birlikte bu mekanizmaların; (1) indol asetik asit, giberallik asit, sitokinin ve etilen gibi bitkisel hormonların üretimi veya bunların konsantrasyonlarının değiştirilmesi; (2) topraktaki serbest azotun bağlanması; (3) siderefor, β-1,3-glukanaz, antibiyotik ve siyanit üretimi ile patojenlerin gelişiminin engellenmesi; (4) toprakta alınamayacak formdaki fosfor ve diğer besin elementlerinin alımının sağlanması ve (5) besin yoluyla olduğu düşünülmektedir (Cattelan *et al.* 1999).

Biyolojik preparatların *in vivo* şartlarda başarılı olabilmeleri içeriğindeki biyolojik ajanın canlılığını sürdürebilmesine bağlı olmaktadır. Bu nedenle, sıcaklık, nispi nem, rüzgar, yağış gibi bir çok çevresel faktörün biyolojik ajanın optimum isteklerine uygun olması gerekmektedir. Aynı zamanda uygulanan preparatın kullanılma sıklığı, toprağın ve bitkinin yeşil gübreler ve besin elementleri ile sürekli takviye edilmesi biyopreparatların hastalığı önlemesindeki başarıyı artıran etkenler arasında yer almaktadır (Andrews 1992; Paulitz and Belanger 2001). Patojenlerinin kontrolünde biyoajan bakterilerinin kitinaz enzimi üretmesinin önemli bir etken olduğu da bilinmektedir (Rocha and Moura 2013). Şenol *et al.* (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada kullanılan BAB 410 bakteri strainin *B. cinerea*'ya karşı etkililiği bu çalışmada test edilmiş, strainin kitinaz enzimi ürettiği ve *in vitro*'da patojenin %35,39 oranında gelişimini engellediği tespit edilmiştir.

Hızla artan dünya nüfusu ve buna bağlı olarak ürün yelpazesindeki çeşitlilik göz önünde bulundurulduğunda hastalıklardan doğacak ürün kayıplarına yönelik yapılan çalışmalar da giderek artmaktadır. Üretici açısından kısa yollu ve kesin çözüm gibi görünen

kimyasal mücadele yöntemleri kapsamında kullanılan fungisitler sadece doğayı kirletmekle kalmayıp, bitkilerde meydana getirdiği kalıntı riskiyle de insan, hayvan ve çevre sağlığını tehdit etmektedir. Tüm bu olumsuzluklar, araştırmacıları biyolojik mücadele veya biyolojik ajanların entegre mücadele kapsamında kullanılmasına ilişkin araştırmalara yöneltmiştir.

Sonuç olarak, elde edilen veriler değerlendirildiğinde bundan sonra yapılacak çalışmalarda, *B. cinerea*'nın biyolojik mücadele ajanları kullanılarak arazi koşullarında da etkinliğinin belirlenmesi ve yetiştirilen diğer kültür ve yabani bitkilerle olan ilişkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

Akhtar, M.S., Shakeel U. and Siddiqui Z.A., 2010. Biocontrol of Fusarium wilt by Bacillus pumilus, Pseudomonas alcaligenes, and Rhizobium sp. on lentil. Turkish Journal of Biology 34 (1): 1-7.

Akutsu, K., Hirata A., Yamamoto M., Mirayae K., Okuyama S. and Hibi T., 1993. Growth inhibition of *Botrytis* spp. by *Serratia marcescens* B2 isolated from Tomato Phylloplane. Annals of the phytopathological society of Japan 59 (1): 18- 25.

Altınok, H.H., Can C., Boyaci, H.F. and Topcu V., 2014. Genetic variability among breeding lines and cultivars of eggplant against *Fusarium oxysporum* f. sp. melongenae from Turkey. Phytoparasitica. 42: 75–84.

Andrews, CH., 1992. Biological control in the phyllosphere. Ann Rev Phytopathol 30:603635.

Anonim, 2019a. https://www.tarim.bayer.com.tr/tr/bilgi-tarlasi/ortu-alti-patlicanda-kursuni-kuf-tehlikesi/ (06.02.2019).

Anonim, 2019b. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Patlıcan Hastlık ve Zararlılarıyla Mücadele. http://www.tohumcu. org/UserFiles/teknik%20bilgi/9-Patlican-tarim.pdf (07.02.2019).

Aydoğdu, N., Büschbell T. and Kural D., 2001. TELDOR SC 500- Yeni bir kimyasal grubun ilk ürünü. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri. 3-8 Eylül. Tekirdağ, 586-589.

Babadost, M., 2000. Gray-Mold rot or *Botrytis* Blight of vegetables. Plant Diseases RPD No.942. University of Illinois. Urbana – Champaign.

Başer, KHC., 2008. Biological and pharmacological activities of carvacrol ve carvacrol bearing essential oils. Current Pharmaceutical Design. 14 (29): 3, 106-119. Chapeland. F.. Desbrosses. D.. Gredt. M. 1999. Patterns of Cross-resistance to Fungicides in Botryotinia fuckeliana (*Botrytis cinerea*) İsolates from French vineyards. Crop protection, (18): 687-697.

Beever, R.E., Laracy E.P. and Pak H.A., 1989. Strains of *Botrytis cinerea* resistant to dicarboximide and benzimidazole fungicides in New Zealand Vineyars. Plant pathology, (38): 427-437.

Belgüzar, S., Yılar M., Yanar Y., Kadıoğlu I. and Doğar G., 2014. Thymus vulgaris (Kekik) ekstrakt ve uçucu yağının *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* üzerine etkisinin belirlenmesi. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat, Antalya, 362.

Bochow, H., 1995. Mode of action and practical use of the *Bacillus subtilis* as complex acting bioproduct. In: Manka M, ed. Environmental Biotic Factors in Integrated Plant Disease Control. Poznan, Poland: The Polish Phytopathological Society, 97-104.

Boyacı, H.F., 2008. Bilinmeyen yönleri ile patlıcan. Meyve Sebze Dünyası, 7:56-57.

Burçak, A. A. ve Delen N., 2001. Üzümlerden izole edilen kurşuni küf *(Botrytis cinerea* Pers.) izolatlarına bazı fungisitlerin etkileri üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 41(3-4): 183-194

Card, S., Jaspers M.V., Walter M. and Stewart A., 2002. Evaluation of micro-organisms for biocontrol of Grey Mould on lettuce. New Zealand Plant Protection, 55: 197-201.

Cattelan, A.J., Hartel P.G. and Fuhrmann J.J., 1999. Screening for plant growth–promoting Rhizobacteria to promote early soybean growth. Soil Sci. Soc. Am. J. 63:1670–1680.

Chandler, J.A., Lang J.M., Bhatnagar S., Eisen J.A. and Kopp A., 2011.Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: Ecological Context of a Host-microbe Model System. Plos Genetics 7:e1002272.

Chet, I., Barak Z. and Oppenheim A., 1993. Genetic engineering of microorganisms for improved biocontrol activity. Biotechnology in Plant Disease Control. J. Wiley (ed). New York USA, 397.

Compant, S., Duffy B., Nowak J., Clement C. and Aıtbarka E., 2005. Use of plant growth-promoting Bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles. Mechanisms of Action. and Future Prospects. Applied and Environmental Microbiology. 71:4951-4959.

Courderchet, M., 2003. Benefits and problems of fungicide control of *Botrytis cinerea* in vineyards of champagne. Vitis, 42:165-171.

Çakmakçı, R., Erman M., Kotan R., Çığ F., Karagöz K. and Sezen M., 2010. Growth promotion and yield enhancement of sugar beet and wheat by application of plant growth promption rhizobacteria. International Conference on Organic Agriculture in Scope of Environmental Problems., 03-07 February. Famagusta, Cyprus Island, 198-202.

Çamlıca, E. and Tozlu E., 2019 Biological Control of *Alternaria solani* in Tomato Ataturk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection 7092-7100.

Çığ, F., Sönmez F., Karagöz K., Erman M., Çakmakçı R., Kotan R. and Amak Z., 2014. Investigation of theimpacts of nitrogen fixingand phosphate dissolving bacteria isolated in Lake Van Basin on the development of Kirik Wheat within the context of sustainable agriculture. International Congress on Green Infrastructure and Sustainable Societies/Cities, 8-10 May 2014, Izmir, Turkey, 205p.

Çiftçi, G. ve Altınok H.H., 2019. Patlıcan tohumlarında bitki büyüme düzenleyici Rizobakteri uygulamalarının kurşuni küf (*B. cinerea* Pers.: Fr.) Hastalığına etkileri. KSÜ Tarım ve Doğu Dergisi 22(3): 421-429.

Daferera, D.J., Ziogas B.N. and Polissiou M.G., 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*. *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganenesis* subsp. *michiganenesis*. Crop Protection. 22: 39-34.

Dekker, J., 1982. Countermeasures for avoiding fungicide Resistance. In: dekker. J.. Georgopoulos. S.G. eds. Fungicides Resistance in Cop Protection. Pp: 177-186. Center for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen.

Delen, N., 2003. Türkiye' de Tarım İlacı Kullanımından Kaynaklanan Sorunlar ve Çözüm Önerileri. Tarımsal Savaş Uygulamalarında Sorunlar ve Çözümler Çalıştayı 8-9 Aralık, İzmir.

Delen, N., 2006. Kurşuni küf hastalığı etmeni *B. cinerea* 'nın bağdaki epidemiyolojisi ve savaşımı. Başak Tarım Dergisi, 4: 68-72.

Delen, N., Koplay C., Yıldız M., Güngör N., Kınay P., Yıldız F. and Çoşkuntuna A., 2004. Sensitvity in *Botrytis cinerea* İsolates to some Fungicides with Spesific Mode of Action. XIII. *Botrytis* Symposium. 25-31 Octaber, Antalya. Abstracs. 131.

Delen, N., Tosun N., Yıldız Z. ve Köycü N. D., 1998. *Botrytis cinerea* izolatlarının bazı DMI 'ü fungisitlere duyarlılığı. Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 21- 25 Eylül, Ankara, 437-442.

Delen, N., Yıldız M. and Maraite H., 1984. Benzimidazole and Dithiocarbamate resistance of *Botrytis cinerea* on greenhouse crops in Turkey. Mededelingen in Viticulture ed Enologia Universita Torino. 9: 278-279.

Dik, J. A. and Wubben P. J., 2004. Epidemiology of *B. cinerea* diseases in greenhouse. Y. Elad *et al.* (eds.). *Botrytis*: Biology. Pathology and Control, 319-333.

Dimitra, J.D., Ziogas B.N. and Polissiou M.G., 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *B. cinerea.Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* Crop Protection 22: 39-44.

Dönmez, M.F., Esitken A., Yildiz H. and Ercisli S., 2011. Bıocontrol of *B. cınerea* on strawberry fruit by plant growth promotıng bacterıa. The Journal of Animal & Plant Sciences. 21(4): 2011. p. 758-763

Elad, Y., 1996. Mechanisms involved in the biological control of *B. cinerea* incited diseases. Eurpean Journal of Plant Pathology, 102(8). 719- 732.

Elad, Y., Kohl J. and Fokkema N.J., 1994. Control of infection and sporulation of *B. cinerea* on bean and tomato by saprophytic bacteria and fungi. European Journal of Pathology, 100 (5): 315-336.

Elad, Y., Malathrakis N.E. and Dik A.J., 1996. Biological control of *Botrytis*-incited diseases and powdery mildews in greenhouse crops. Crop Protection, 15:(3), 229-240.

Elad, Y., Shtienberg D., Albajes R. and Carnero A., 1997. Integrated management of foliar diseases in greenhouse vegetables occording to principles of a decision support system-greenman. Integrated Control in Protected Crops "Mediterranean Climate". Proceedings of The Meeting at Tanerife. Canary İslands. 3-6 November. Bulletin-OILB-SROP 20 (4). 71-76.

Elad, Y. and Stewart A., 2004. Micrbial conrol of *Botrytis* spp. Y Elad *et al.* (eds.). *Botrytis:* Biology. Pathology and Control. ©2004 Kluwer Academic Publişhers. Printed in The Netherlands. Pp. 223-236.

Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes, Commonwealth Mycol. Ins. Kew, England. 608 p.

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

Eşiyok, D. ve Bozokalfa M.K., 2007. Patlıcan Yetiştiriciliği ve Besin İçeriği. Dünya Yayıncılık. GIDA. Bağcılar/İstanbul, 7: 91-91.

FAO, 2017. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Fiddaman, P.J., Neill T.M. and Rossall S., 2000. Screening of bacteria for the suppression of *B. cinerea* and *R. solani* on Lettuce (*Lactuca sativa*) using leaf disc bioassays. Annual Apply Biology, 137: 223-235.

Gao, P., Qin JX., Li DL. and Zhou SY., 2018. Inhibitory effect and possible mechanism of a *Pseudomonas* strain QBA5 against gray mold on tomato leaves and fruits caused by *B. cinerea*. 13 (1).

Gould, A.B., Kobayashi D.Y. and Bergen M.S., 1996. Identification of bacteria for biological control of *B. cinerea* on petunia using a petal disk assay. Plant Disease, 80:1029-1033.

Gökçe, A.Y. ve Kotan R., 2016. Buğday Kök Çürüklüğüne neden olan *Bipolaris Sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması. Bitki Koruma Bülteni, 56(1): 49-75.

Göktürk, T., Tozlu E. and Kotan R., 2018. Investigation of prospects of entomopathogenic bacteria and fungi for biological control of *Ricania simulans* (Walker 1851) (Hemiptera: Ricaniidae). Pakistan Journal of Zoology 50(1):75-82.

Grover, M., Nain L. And Saxena A.K., 2009. Comparison between Bacillus subtilis RP24 and its antibiotic defective mutants. World Journal of Microbiology and Biotechnology 25 (8): 1329-1335.

Guetsky, R., Elad Y., Shtienberg D. and Dinoor A., 2002. Improved biocontrol of *B. cinerea* on detached strawberry leaves by adding nutritional supplements to a mixture of *Pichia guilermondii* and *Bacillus mycoides.* Bıocontrol Science and Technology, 12: 625-630.

Gullıno, M.L., Aloı C. and Garıbaldı A., 1989. Influence of spray schedules on fungicide resistant populations of *Botrytis cinerea* pers. on grapevine. Neth. J. Pl. Path. 95 Suplement 1: 87-94.

Gullino, M.L., 1992. Chemical control of *Botrytis* spp. In: Verhoeff.. K.. Malathrakis. N. E. and Wikkiamson. B.. eds. Recent Advences in *Botrytis* Reserarch. Pudoc Sci. Publisher Wageninger. Pp: 217-222.

Güngör, N., 2006. Bağda ve Domateste Kurşuni Küf Hastalığına Ruhsatlı Etkili Maddelere Ait Değişik Preparatların *B. cinerea*'ya Etkinliği Konusunda Çalışmalar. Ege Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisan Tezi.

Hardoim, P.R., van Overbeek L.S. and van Elsas J.D., 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* 16 (463)-471.

Helbıg, J., 2001. Bıological Control of *B. cinerea* Pers ex Fr. In Strawberry *P. polymyxa* (Isolate 18191). J. Phytopathology, 149. Berlin. 265-273.

Hung, N.T.T., Ok S.O., Kim G.H., Hur J.S. and Koh Y.J., 2005. *B. subtilis* S1-0210 as a biocontrol gent against *B. cinerea* in strawberries. Plant Pathol. J. 21(1): 59-63.

Jarvis, W.R. 1977. Botryotinia and Botrytis species: Taxonomy, Physiology and Pathogenicity Guide to the Literature, Monograph No, 15, Canada Department of Agriculture, Ottawa, Canada. 195 p.

Jiang, CH., Liao MJ., Wang HK., Zheng MZ., Xu, JJ. and Guo JH., 2018. *Bacillus velezensis*. a potential and efficient biocontrol agent in control of pepper gray mold caused by *B. cinerea.* bıological control. 126: 147-15.

Johnson, K.B., Sawyer T.L. and Powelson M.L., 1994. Frequency of benzimidazole and dicarboximide resistant strains of *Botrytis cinerea* in western oregon small fruit and snap bean plantings. Plant Disease, 78(6): 572-578.

Karaçalı, İ., 2006. Bahçe Ürünlerinin Muhafaza ve Pazarlanması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, İzmir. No: 494,

Karagöz, K., 2009. Bazı PGPR Bakterilerin Marulun Gelişimi ve Marul Yaprak Leke Hastalığı Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.

Karagöz, K., Kotan R., Dadaşoğlu F. and Dadaşoğlu E., 2016. Identification and characterisation of potential biofertilizer bacterial strains. International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences. 020024: 114-118.

Kim, A.Y., Shahzad R., Kang S,M., Khan A.L., Lee S.M., Park Y.G., Lee W.H. and Lee I.J., 2017. *Paenibacillus terrae* AY-38 resistance against *B. cinerea* in *Solanum lycopersicum* L. plants through defence hormones regulation. Journal of Plant Interactıons. 12(1): 244-253.

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

Klement, Z., Rudolph K. and Sands D.C., 1990. Methods in Phytobacteriology Akademia Kıado. Budapest. 547p.

Kotan, R., 1998. Biological and Chemical Control of Bacterial Leaf Spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye.) on Pepper and Tomato. Atatürk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Departmentof Plant Protection, Master Thesis.

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.

Kotan, R., Şahin F., Demirci E. and Eken C., 2009. Biological control of the potatodry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. Biological Control. 50:194-198.

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 İmkânlarının Araştırılması. Türkiye V. Biyolojik Mücadel Kongresi, Eylül 2002, Erzurum, 381-390.

Kömürcü, N., 2006. Patlıcan Yetiştiriciliği. 11 Mayıs 2010. http://www.samsun tarim.gov.tr/teknikbilgiler/liftletler/bahce/patlican.pdf

Köycü N. D., 2007. Bağlarda kursuni küf hastaliği etmeni (*Botrytis cinerea* pers. ex. fr.)'nđn kullanılan fungisitlere karsı duyarlilik düzeylerinin belirlenmesi ve kimyasal mücadelesi üzerine arastırmalar. Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Lisans Tezi.

Krebs, B., Hoding B., Kübart S., Alemayehu Workie M., Junge H., Schmiedeknecht G., Grosch R., Bochow H. And Hevesi M., 1998. Use of Bacillus subtilis as biological control agent. I. Activities and characterization of Bacillus subtilis strains. Journal of Plant Disease and Protection 105, 181-97.

Lee, J.P., Lee S.W., Kim C.S., Son J.H., Song J.H., Lee K.Y., Kim H.J., Jung S.J. and Moon B.J., 2006. Evaluation of formulations of *Bacilllus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *B. cinerea*. Biological Control, 37(3): 329-337.

Lee, K.P., Kim C.N., Yu J.H. and Oh D.H., 1990. The production and Purification of Chitinase from *Aeromonas salmonicida* YA7-625. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotech. 18: 599-606

Lelliot, R.A. and Stead D.E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Black Well Scientific Puplication. Oxford. USA. 157 p.

Leroux, P., 1995. Progrees and problems in the control of *Botrytis cinerea* in grapevine. Pesticide Outlook, October. 13p.

Leroux, P., 2004. Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. *Botrytis*: Biology and Control (Editörler: Elad. Y.. Williamson. P.. Tudzynski. P.. Delen. N.). Kluwer Academic Publishers London, 195-222.

Leroux, P., Chapeland F., Desbrosses D. and Gredt M., 1999. Patterns of cross-resistance to fungicides in Botryotinia fuckeliana (*Botrytis cinerea*) isolates from french vineyards. Crop Protection. 18: 687-697.

Leroux, P., Yanar Y., Belgüzarı S. ve Telci İ., 2016. *Origanum* spp., *Mentha* spp. ve *Lippia* sp. Türlerine Ait Uçucu Yağların *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve *Botrytis cinerea'*ya Karşı Antimikrobiyal Etkisi. Turkish Journal of Weed Science. Araştırma Makalesi. 19(1): 18-25.

Li, Q., Ning P., Zheng L., Huang J., Li G. and Hsiang T., 2012. Effects of volatile substances of *Streptomyces globisporus* JK-1 on control of *B. cinerea* on tomato fruit. Science Direct. Biological Control, 61(2): 113-120.

Lichter, A., Zutkhy Y., Sonego L., Dvir O., Kaplunov T., Sarig P. and Ben-Arie R., 2002. Ethanol controls postharvest decay of table grapes. Postharvest Biology and Technology, 24: 301-308.

Loeffler, W., Tschen S.M., Vanittanakom N., Kugler M., Knorpp E., Hsieh T.F. and Wu T.G., 1986. Antifungal effects of bacilysin and fengymycin from *Bacillus subtilis* F-29-3: a comparison with activities of other *Bacillus* antibiotics. Journal of Phytopathology 115, 204-13.

Mari, M., Guizzardi M., Brunelli M. and Folchi A., 1996. Postharvest biological control of grey mould (*B. cinerea* Pers.: Fr.) on fresh-market tomatoes with *B. amyloliquefaciens.* Science Direct, 15(8): 699-705.

Mennella, G., Lo Scalzo, R., Fibiani M., D'Alessandro A., Francese G., Toppino L., Acciarri N., Almeida A.E and Rotino G., 2012. Chemical and bioactive quality traits during fruit ripening in eggplant (*Solanum melongena* L.) and allied species. Journal of Agricultural and Food Chemistry, Nov 28;60(47): 11821-31.

Miller, L.T., 1982. Single derivatization method for routine analysis of bacterial wholecell fatty acid methyl esters. İncluding Hydroxy Acids, Journal of Clinical Microbiology, 16: 584-586.

Nguyen, X.H., Lee Y.S., Lee J.H., Naing K.W., Moon J.H. and Kim K.Y., 2014. Isolation and characteristics of protocatechuic acid from *Paenibacillus elgii* HOA73 against *B. cinerea* on strawberry fruit. Journal of Microbiology 55:(5).

Nicot, P.C., Morrison N. and Decognet V., 1996. Protection of pruning wounds on greenhouse tomatoes by saprophytic microorganisms against infection by *Botrytis cinerea*. XI th internatıonal *Botrytis* symposium. Wageningen, The Netherlands, 70.

Nigro, F., Ippolito A. and Lima G., 1998. Use of UV-C Light to reduce *Botrytis s*torage rot of table gapes. Postharvest Biology and Technology 13: 171-181.

Örtücü, S., 2012. İki Noktalı Kırmızı Örümcek [(*Tetranychus urticae* (Acari, Tetranychidae)] İle Biyolojik Mücadelede Kullanılabilecek Entomopatojen Fungusların İzolasyonu Ve Biyopestisit Olarak Kullanılabilme Potansiyellerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Doktora Tezi.

Paulitz, C. and Belanger R., 2001. Biological control in greenhouse systems. Ann Rev Phytopathol 39:103133.

Tiwari, N., Thakur A.K., Kumar V., Dey A. and Kumar V., 2014. Therapeutic Targets for Diabetes Mellitus: An Update. Clinic Pharmacol Biopharmaceut 3: 117.

Quilken, Mc., Whipps M.P. and Lynch J.M., 1994. Effects of water extracts of a composted manurestraw mixture on the plant pathogen *Botrytis cinerea*. World Journal of Microbiology and Biotecnology 10(1): 20-26.

Walker, R., İnnes C.M.J. and Allan E.J., 2001. The potential biocontrol agent *Pseudomonas antimicrobica* inhibits germination of Conidia and Outgrowth of *Botrytis cinere.* Letters in Applied Microbiology, Department of Agriculture & Forestry, University of Aberdeen, UK. 32: 34-348.

Rebordinos, L., Vallejo I., Carbu M. and Cantoral J.M., 2003. Control of agricultural diseases and Pests: The Case of *Botrytis cinerea*. Mikroorganisms for Health Care. Food and Enzyme Production, 269-287.

Retamales, J., Defilippi B.G., Arias M., Castillo P. and Manriquez D., 2003. High-CO2 controlled atmospheres reduce decay incidence in Thompson Seedless and Red Globe Table Grapes. Postharvest Biology and Technology, 29: 177-182.

Rocha, D.A. and Moura, A.B., 2013. Biological control of tomato wilt caused by *Ralstonia solanacearum* and *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* by rhizobacteria. Tropical Plant Pathology, 38 (5): 423-430.

Romanazzi, G., Nigro F., Ippolito A. and Salerno M., 2001. Effect of short hypobaric treatments on postharvest rots of sweet cherries. Strawberries and Table Grapes, Postharvest Biology and Technology, 22: 1-6.

Şenol, M., Nadaroglu H., Dikbas N. and Kotan R., 2014. Purification of Chitinase enzymes from *Bacillus subtilis* bacteria TV-125. investigation of kinetic properties and antifungal activity against *Fusarium culmorum*. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 13: 35-42.

Sever, S., 2018. Patlıcan Esaslı Alternatif Çerez Gıdaların Geliştirilmesi. Bursa Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Sheng, J.X., Duck H.P., Kim J.Y. and Byung Sup.K., 2016. Biological control of gray mold and growth promotion of tomato using *Bacillus* spp. isolated from soil. Trop. Plant Pathol., 41:169-176.

Soylu, S., Soylu EM., Baysal Ö. and Zeller W., 2006. Antibacterial activities of the essential oils from medicinal plants against the growth of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis.* proceedings of the 1st ınternational symposium on biological control of bacterial plant diseases. Seeheim. Darmstadt, Germany, October. 23-26.

Tekiner, N., Tozlu E., Kotan R. and Dadaşoğlu F., 2018. Biological Control of *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* with Bioagent Bacteria and Fungi Under *In vitro* Conditions. UMTEB - 2. International Congress on Vocational and Technical Sciences, 10-13 May, Batumi, GEORGIA, 97p.

Tekiner, N., Kotan R., Tozlu E. and Dadaşoğlu F., 2019. Determination of Some Biological Control Agents Against *Alternaria* Fruit Rot in Quince. Alinteri J. of Agr. Sci., 34(1): 25-31.

Topçu, V. ve Boyacı H.F., 2008. Patlıcan Yetiştiriciliğinin Dünya ve Türkiyedeki Durumu. Tarımın Sesi, 20:18-21.

Tozlu, E., 2016. Bazı Bakteriyel Biyokontrol Ajanlar ile Havuç Acı Çürüklük Hastalığı (*Geotrichum candidum* Link)'nın Biyolojik Mücadelesi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 47 (1): 1-9.

Tozlu, E., Mohammadi P., Senol Kotan M., Nadaroglu H. and Kotan, R., 2016. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, the causal agent of white mould disease in red cabbage,by some bacteria. Plant Protection Science, 52(3): 188-198.

Tozlu, E., Tekiner N., Kotan R. and Örtücü S., 2017. The investigation of the biological control of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912). International Conference on Agriculture, Forest, Food, Sciences and Technologies (ICAFOF), 15-17 May 2017, Cappadocia, Turkey, 514 p.

Tozlu, E., Tekiner N., Kotan R. and Örtücü S., 2018. Investigation on The Biological Control of *Alternaria alternata.* Indian Journal of Agricultural Sciences 88 (8): 1241–1247

Tozlu, E., Şenol Kotan M., Tekiner N., Dikbaş N. and Kotan R., 2019. Biological Control of Postharvest Spoilage in Fresh Mandarins (*Citrus reticulata* Blanco) Fruits Using Bacteria During Storage. Erwerbs-Obstbau, 61:157–164.

TÜIK, 2017, Türkiye İstatistik Kurumu. http://www.tuik.gov.tr.

Utkhede, R.S. and Mathur S., 2002. Biological control of stem canker of greenhouse tomatoes caused by *Botrytis cinerea*. Canadian Journal of Microbiology, 48(6): 550-554.

Vitoratos, A., Bilalis D., Karkani A. and Efthimiadou A., 2013. Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*. *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. Not Bot Horti Agrobo,41(1): 86-92.

White, T.J., Brauns T., Lee S. and Taylor J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: M.A. INNIS, D.H. GELFAND, J.J. SNINSKY, T.J. WHITE, eds. PCR Protocols. A guide to Methods and Applications. Academic Press, San Diego, 315-322.

Yiğit, F., 2005. Domateslerde don zararı sonucu oluşmuş nekrotik yaprak dokularının *B. cinerea*'ya karşı *Cladosporium shaerospermum* Penz. ile korunması. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 6(1): 51-54.

Yıldız, F. ve Yıldız M., 1991. Kurşuni küf (*B. cinerea*) hastalığı ile savaşımda antagonist ve fungisit etkileşimleri üzerinde araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi 7-11 Ekim, İzmir.

Yıldız, F., 1990. Serada Yetiştirilen Sebzelerde *B. cinerea* pers.'nın Biyolojik Kontrolu Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

Yıldız, M., Yıldız M., Delen N., Çoşkuntuna A., Kınay P. and Türküsay H., 2007. The effects of biological and chemical treatment on gray mold disease in tomatoes grown under greenhouse conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 31: 319-325.

Yılmaz, M., Kavak S. ve Baysal Ö., 2014. Bazı ticari sabit ve uçucu yağların domates bakteriyel kanser ve solgunluk etmeni üzerine antibakteriyel etkileri. Araştırma Makalesi/Research Article Derim, 31(1): 50-60.

Zhang, Y., Bell A., Perlman P.S. and Leibowitz M.J., 2000. Pentamidine inhibits mitochondrial intron splicing and translation in *Saccharomyces cerevisiae*. RNA. 6(7): 937-51

Zoffoli, J.P., Latorre B.A., Rodriguez E.J. and Aldunce P., 1999. Modified atmosphore packaging using chlorine gas generators to prevent *Botrytis cinerea* on table grapes. Postharvest Biology and Technology, 15:135-142.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Antalya'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Antalya'da tamamladı. 2011 yılında kayıt yaptırdığı Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nden 2015 yılında mezun oldu ve aynı yıl Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen lisansüstü eğitimine devam etmektedir.