



**PATATES KURU ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ
Fusarium oxysporum Schlecht. Emend Snyder & Hans. 'IN
BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ
ARAŞTIRILMASI**

Gözdenur ÇAKAR

**Yüksek Lisans Tezi
Bitki Koruma Anabilim Dalı
Fitopatoloji Bilim Dalı
Doç. Dr. Elif TOZLU
2020
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PATATES KURU ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ
Fusarium oxysporum Schlecht. Emend Snyder & Hans. 'IN
BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Gözdenur ÇAKAR

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
Fitopatoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2020

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

PATATES KURU ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ
***Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend Snyder & Hans.** **İN**
BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Doç. Dr. Elif TOZLU danışmanlığında, Gözdenur ÇAKAR tarafından hazırlanan bu çalışma 19/02/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı – Fitopatoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (3/0)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Elif TOZLU

İmza :

Üye : Doç. Dr. Fatih DADAŞOĞLU

İmza :

Üye : Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 20.02.2020 tarih ve 08.89 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

PATATES KURU ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend Snyder & Hans. 'IN BİYOLOJİK MÜCADELE İMKANLARININ ARAŞTIRILMASI

Gözdenur ÇAKAR

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

Danışman: Doç. Dr. Elif TOZLU

Bu çalışma, patatesten verim kaybı meydana getiren toprak kökenli kuru çürüklük hastalığı etmeni *Fusarium oxysporum* ile biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması amacıyla *in vitro* ve *in vivo* şartlarda yürütülmüştür. Çalışmada, daha önce yapılan farklı çalışmalarda da etkililikleri test edilmiş, 2 *Pantoea agglomerans* (BRTB ve RK92), 2 *Bacillus pumilus* (RK103 ve TV67C), 7 *Bacillus subtilis* (BAB140, TV12H, TV6F, EK7, TV17C, CP1 ve TV125A), 3 *Bacillus megaterium* (TV103B, TV87A ve TV91C), 1 *Ochrobactrum anthropi* (A16B), 1 *Agrobacterium radiobacter* (A16) ve 1 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstakii* (BAB410) straini ve 2 *Trichoderma harzianum* (ET 4 ve ET 14) izolatu kullanılmıştır. *In vitro* çalışmalarda test edilen biyoajan bakteri strainlerinin etkinliği en fazla çıkan 5 biyoajan bakteri straini (BRTB %66,22; RK103, %50,90; BAB140 %50,00; TV103B %49,10; TV12H %48,65 ve TV6F %48,20) ve iki biyoajan fungus izolatu (ET 4 %69,44; ET 14 %66,66) ile *in vivo* şartlarda saksı denemeleri kurulmuştur. Bu denemelerde en etkili sonuç elde edilen BRTB biyoajan bakteri straininin kontrollü şartlarda hastalık etmeninin gelişimini tamamen engellediği tespit edilmiştir. Bu strainin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla kurulan denemede de bakteri solüsyonuna daldırıldıktan 4 saat sonra patojen solüsyonuna daldırılarak dikilen yumrulardan elde edilen bitkilerde hastalık görülmemiştir. Depo şartlarında kurulan denemede ise yine BRTB bakteri straininin diğer biyoajanlarla kıyaslandığında en etkili sonucu verdiği görülmüştür. Sonuç olarak; *P. agglomerans*'ın BRTB straininin *F. oxysporum*'un biyolojik mücadelesinde kullanılabileceği, patates yumruları dikilmeden önce bakteri uygulaması yapıldığında daha etkili sonuç alınacağı kanaatine varılmıştır.

2020, 59 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Fusarium oxysporum*, Kuru Çürüklük, Patates, Biyoajan, Biyolojik Mücadele

ABSTRACT

Master Thesis

THE INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL CONTROL POSSIBILITIES OF *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend Snyder & Hans.

Gözdenur ÇAKAR

Atatürk University
Natural Sciences Institute
Department of Plant Protection
Department of Phytopathology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif TOZLU

This study was carried to investigate the biological control possibilities with soil born dry rot disease agent *Fusarium oxysporum* causing yield losses in potatoes in *in vitro* and *in vivo* conditions. In this study, 2 *Pantoea agglomerans* (BRTB and RK 92), 2 *Bacillus pumilus* (RK 103 and TV 67C), 7 *Bacillus subtilis* (BAB140, TV12H, TV6F, EK7, TV17C, CP1 and TV125A), 3 *Bacillus megaterium* (TV103B, TV87A and TV91C), 1 *Ochrobactrum anthropi* (A16B), 1 *Agrobacterium radiobacter* (A16) and 1 *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstakii* (BAB410) bacterial strains and 2 *Trichoderma harzianum* (ET4 and ET14) fungal isolates tested efficacy in previous studies were used. *In vivo* pot treatments was established with the most effective five of bacterial strains (BRTB 66,22%; RK103, 50,90%; BAB140 50,00%; TV103B 49,10%; TV12H 48,65% and TV6F 48,20%) and two fungal isolates (ET 4 69,44%; ET 14 66,66%). It was determined that BRTB which was the most effective bacterial strain completely prevented the development of the pathogen in controlled conditions. In other treatment was established to determine the application time of BRTB. No disease was observed in the plants obtained from tubers planted by dipping into the pathogen solution 4 hours after dipping into the bacterial solution. Bu strainin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla kurulan denemede de bakteri solüsyonuna daldırıldıktan 4 saat sonra patojen solüsyonuna daldırılarak dikilen yumrulardan elde edilen bitkilerde hastalık görülmemiştir. In storage treatments, BRTB was the most efficacy compared with others. As a result; it was determined that BRTB strain of *Pantoea agglomerans* can be used in the biological control of *F. oxysporum* and it will be more effective when bacteria are applied before planting potato tubers.

2020, 59 pages

Keywords: *Fusarium oxysporum*, Dry Rot, Potatoes, Bioagent, Biological Control

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca derslerimin ve çalışmalarımın tüm aşamalarını takip edip yol gösteren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif TOZLU'ya, bakteri kültür koleksiyonunu kullanmamı sağlayan hocam Sayın Prof. Dr. Recep KOTAN'a laboratuvar çalışmalarında destek olan Sayın Arş. Gör. Nasibe TEKİNER'e ve eğitim sürecimde desteklerini esirgemeyen Sayın Yük. Zir. Müh. Adnan CANBAY, Sayın Arş. Gör. Ersin KARAKAYA'ya, bu süreçte maddi-manevi destekleri ile sabır ve anlayışlarından dolayı aileme teşekkür ederim.

Gözdenur ÇAKAR

Şubat, 2020

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un Sınıflandırmadaki Yeri.....	2
2. KAYNAK ÖZETLERİ	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal.....	16
3.1.1. Yararlanılan cihazlar	16
3.1.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı.....	17
3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus	18
3.1.4. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteriler.....	18
3.1.5. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan funguslar.....	19
3.1.6. Çalışmada kullanılan bitki çeşidi	20
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Patojen fungus izolasyonu.....	20
3.2.2. Patojen fungus izolatlarının patojenite testi	20
3.2.3. Patojen fungusun tanılanması.....	21
3.2.3.a. Patojen fungusun makroskobik ve mikroskobik tanısı.....	21
3.2.3.b. Patojen fungusun moleküler tanısı	21
3.2.4. Biyolojik mücadele çalışmaları	22
3.2.4.a. <i>In vitro</i> testler.....	22
3.2.4.b. <i>In vivo</i> testler	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	29
4.1. Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi.....	29
4.2. Patojen Fungusun Tanılanması	30

4.2.1. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un ET 81 izolatının morfolojik tanısı	30
4.2.1.a. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un ET 81 izolatının makroskopik özellikleri	30
4.2.1.b. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un ET 81 izolatının mikroskopik özellikleri	30
4.2.2. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un moleküler tanısı.....	31
4.3. Biyolojik Mücadele Çalışmaları.....	32
4.3.1. <i>In vitro</i> testler	32
4.4.1.a. Depo denemesi	42
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	44
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	60

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
da	Dekar
dH ₂ O	Distile su
dk	Dakika
g	Gram
HR	Hypersensitive Reaction
kg	Kilogram
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
LB	Luria Broth
mg	Miligram
MIS	Microbial İdentification System
ml	Mililitre
N	Azot
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
P	Fosfat
PDA	Potato Dextrose Agar
PDB	Potates Dextrose Broth
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacter
sa	Saat
sdH ₂ O	Steril ve distil su
sH ₂ O	Steril su
sn	Saniye
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. <i>Fusarium oxysporum</i> PDA'daki koloni	10
Şekil 3.1. Patojen fungus miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi	24
Şekil 4.1. Patojenite testi sonucu hastalık etmeninden etkilenmiş yumruların görüntüsü (Orijinal).....	29
Şekil 4.2. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un PDA'da gelişimi (Orijinal)	30
Şekil 4.3. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un (a) mikrokonidi ve makrokonidi, (b) klamidosporları	31
Şekil 4.4 <i>In vitro</i> petri denemelerinde <i>Fusarium oxysporum</i> ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin etkinlikleri	35
Şekil 4.5. <i>In vitro</i> petri denemelerinde <i>Fusarium oxysporum</i> ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungus izolatlarının etkinlikleri.....	36
Şekil 4.6. Hastalığı tamamen engelleyen BRTB bakteri straini ve kontrollerin görünümü	38
Şekil 4.7. BRTB bakteri straininin uygulama zamanının hastalık şiddeti üzerine etkisi	40
Şekil 4.8. Uygulama yapılan yumrularda kuru çürüklük görüntüleri	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çalışmada elde edilen patojen fungus izolatları	18
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainleri, MIS tanıları, benzerlik oranları ve aşırı duyarlılık test sonuçları	19
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan fungus izolatları	19
Çizelge 3.4. <i>In vivo</i> çalışma	26
Çizelge 3.5. BRTB bakteri straininin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla kurulan <i>in vivo</i> çalışma.....	26
Çizelge 3.6. Skala değerleri	27
Çizelge 3.7. Yumrulara biyoajan etkililiğinin belirlenmesi.....	28
Çizelge 4.1. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un ET 81 izolatının moleküler tanısı, benzerlik indeksi ve erişim numarası	31
Çizelge 4.2. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un ET 81 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5,8S ribosomal RNA, ITS 4, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı	32
Çizelge 4.3. <i>In vitro</i> petri denemelerinde <i>Fusarium oxysporum</i> ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin etkililiği.....	32
Çizelge 4.4. <i>In vitro</i> petri denemelerinde <i>Fusarium oxysporum</i> 'un ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungal izolatların hiperparazitik etkileri.....	35
Çizelge 4.5. Uygulamaların patates bitkisinde kuru çürüklük hastalık şiddeti üzerine etkisi	37
Çizelge 4.6. BRTB bakteri straininin uygulama zamanının hastalık şiddeti üzerine etkisi	39
Çizelge 4.7. <i>In vivo</i> depo uygulamalarının patates bitkisindeki hastalık şiddeti	42

1. GİRİŞ

Patates (*Solanum tuberosum* L.) bitkisi, Solanaceae (Patlıcangiller) familyasının üyesidir. Tek yıllık kültür bitkisi olan patates bitkisinin orjini ve kültüre alındığı bölge Alp Dağları'dır. Günümüzde patates bitkisinin iki yüz civarında tür, dört binden fazla çeşit içerdiği bilinmektedir. On altıncı yüzyılın sonlarına doğru sömürgeci İspanyol gemiciler Güney Amerika Bölgesi'nde bulunan Alp Dağları'ndan aldıkları patates bitkisini kendi ülkelerinde bulunan botanik bahçelerine getirmişlerdir. Daha sonra sırası ile İngiltere, İrlanda, İskoçya, Avrupa'nın diğer ülkeleri ve nihayetinde de diğer ülkelere yayılmıştır. Türkiye'de ise ilk kez 19. yüzyılın sonlarında kültüre alınmıştır. Bölgeler bazında ise ilk olarak Doğu Karadeniz Bölgesi'nde, sonrasında ise Batı Trakya Bölgesi'nde kültüre alınmıştır. Daha sonra da tüm Türkiye'ye buradan yayılmış ve ekimi yapılmaya başlanmıştır (Abed ve Demirhan 2018).

Günümüzde Asya kıtası, dünya genelinde patates üretiminde birinci sıradadır. Dünyada en önemli patates üreticisi olan ülkeler Çin, Hindistan, Rusya, ABD ve Ukrayna'dır. Sayılan ülkelerin dünya patates üretimindeki payları %50'yi aşmaktadır. 2017 yılında Türkiye 4.7 milyon tonluk üretimi ile 16. sırada yer almaktadır (Abed ve Demirhan 2018). Patates Türkiye'nin her tarafında yetiştirilen en önemli tarımsal ürünler arasında yer almaktadır. Bu bitkinin ekim alanı ve üretim miktarı buğdaygillerden sonra gelmektedir. Türkiye'de en fazla patates üretiminin %70 oranında Niğde, Konya, Afyonkarahisar, Kayseri, İzmir, Adana, Nevşehir ve Sivas illerinde gerçekleşmektedir. Halkımızın günlük beslenmesinde fazla miktarda kullanılmasının yanı sıra, çiftçilerimize gelir ve yurdu muza döviz kaynağı olarakta önem taşımaktadır (Gündüz 1977). Erzurum ilinde ise 2018 yılı üretim sezonunda 35.124 da alanda 85.729 ton patates üretimi gerçekleştirilmiştir (Anonim 2019a).

Patates bitkisi büyüme ve gelişmesi süresince birçok hastalık ve zararlının etkisine maruz kalmaktadır. Bu etkinin derecesine göre yumru verimi önemli miktarda değişmektedir. Patatesten şu ana kadar yapılan çalışmalarda en önemli bakteriyel hastalıkların; Bakteriyel Solgunluk ve Patates Kahverengi Çürüklüğü Hastalığı (*Ralstonia solanacearum*), Patates

Halka Çürüklüğü Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*), Patateste Bakteriyel Yumuşak Çürüklük Karabacak Hastalığı (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, *E. carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. chrysanthemi*), Patateste Adi Uyuz Hastalığı (*Streptomyces scabies*), fungal hastalıkların; Patateste Erken Yanıklık Hastalığı (*Alternaria solani*), Patates Siğil Hastalığı (*Synchytrium endobioticum*), Siyah Siğil Hastalığı (*Rhizoctonia solani*), Patates Mildiyösü Hastalığı (*Phytophthora infestans*), Patates Kuru Çürüklük Hastalığı (*Fusarium* spp.), viral hastalıkların ise Patates Y Virüsü (Potato Y potyvirus, PVY), Patates Yaprak Kıvrılma Virüsü (Potato leafroll luteovirus, PLRV), Patates X Virüsü (Potato X potexvirus, PVX), Patates A Virüsü (Potato A potyvirus, PVA) (Anonim 2019b).

Bu hastalık etmenleri içerisinde yer alan toprak kökenli fungal patojenlerden fide kök çürüklüğü (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Pythium* spp.) ve *Verticillium* solgunluğu (*Verticillium dahliae*) oldukça tahripkardır ve ekonomik olarak önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Erdoğan 2015). Fitopatojen olan *Fusarium* türleri, kutuplardan Ekvator'a kadar organik materyal içeren her tip toprakta yaşayabilen oldukça yaygın funguslardır. Bitki türleri ve organlarına göre *Fusarium* belirtileri farklılık göstermesine rağmen, genellikle bitkide kök çürüklüğü ve solgunluğa neden olmaktadır (Özer ve Soran 1991). *Fusarium* türlerinden bitkilerde vasküler solgunluğa neden olan *Fusarium oxysporum* ise ekonomik açıdan önemli kayıplar meydana getirmektedir. Bu fungus türünün gelişmesi için ideal koşulların; 27-28 °C toprak sıcaklığı, düşük toprak nemi ve pH'sı, kısa gün uzunluğu, düşük ışık yoğunluğu, azot ve fosforca düşük potasyumca zengin toprak yapısı olduğu bildirilmiştir (Yücel 1989).

1.1. *Fusarium oxysporum* 'un Sınıflandırmadaki Yeri

F. oxysporum 'un sınıflandırmadaki yeri Index Fungorum'a göre şu şekilde bildirilmiştir:

Alem: Fungi

Şube: Ascomycota

Altşube: Pezizomycotina

Sınıf: Sordarromycetes

Alt Sınıf: Hypocreomycetidae

Takım: Hypocreales

Aile: Nectriaceae

Cins: *Fusarium*

Tür: *Fusarium oxysporum* Schlecht. Emend Snyder & Hans.

F. oxysporum türünün farklı izolatları, hiflerinin birleştiği yerde heterokaryon form oluşturmak üzere eşeysiz bir üreme şekli göstermektedir. Yoğun havai misel gelişimi olarak gözlenen bu heterokaryon form iki hifin birleştiği yerde anastomosis yapılarak meydana gelmektedir (Leslie 1996). Anastomosis sonucu oluşan hücrenin çekirdekleri genetik olarak birbirinin benzeri ise bu tip hücreler homokaryon olarak adlandırılırken, hücrenin çekirdekleri genetik olarak farklı bireylerden geliyor ise bu tip hücrelere de heterokaryon olarak adlandırılmaktadır (Katan 2000).

F. oxysporum 120-150 kadar konukçuya özel bitki patojenik formları olan kozmopolit ve oldukça karmaşık bir türdür (Attitalla *et al.* 2004; Bogale *et al.* 2007). Bu formlardan her birisi bir veya birçok vejetatif uyum grubundan ibarettir ve ayrıca birçok ayrı patojenik ırklar içermektedir. *F. oxysporum*'a ait formae speciales'in büyük bir kısmı sadece bir konukçu türünü enfekte etme özelliğindedir. Bunlardan domateste solgunluk yapan ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan sırasıyla, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ve *F. oxysporum* f. sp. *radicislycopersici* gibi morfolojik olarak ayrılmış iki patojenik spesiyal form belirlenmiştir (Çolak ve Biçibi 2011).

F. oxysporum'un saprofitik popülasyonu sık sık hastalıklı bitki parçaları üzerinde özellikle de kökte etkin sekonder koloniler oluşturur ve morfolojik olarak primer kolonilerden (patojen) ayırt edilmesi olanaksızdır. Bu sebeple patojenite testi bitkilerde patojen *F.oxysporum* popülasyonlarının tespiti için esastır. Hastalıklı kök dokularından izole edilen popülasyonların çoğunda sekonder koloni görülmektedir (Delen 2007). Popülasyonun artması bitkide vasküler solgunluğa (Beckman 1987), köklerde, taçta, yumruda, soğanda çürüklüklere (Nelson *et al.* 1981) sebep olmaktadır.

Patates kuru çürüklük hastalığı, kök çürüklüğü ve bilhassa da kazık kök çürüklüğü ile başlamakta ve nihayetinde de aşırı bir ürün kaybına neden olmaktadır. Toprak üstü aksamdaki belirtileri ise genellikle ya bileşik yaprağın bir kesiminde ya da bitkide tek taraflı olarak görülmektedir. Solgunluk belirtileri alt yapraklardan başlamakta ve yukarı doğru ilerlemektedir (Anonim 2019c). Zamanla alt yapraklar sararmakta, üst yapraklarda ise sarı benekler oluşmakta ve bitki solarak kurumaktadır (Anonim 2019d). Yumrulara meydana gelen kuru çürüklük ise yaralanmış ya da ezilmiş dokulardan patojenin giriş yapmasıyla başlamakta ve yumruda dışta bükülmüş gibi görünen alanlarda beyaz veya pembe menekşe rengi bir fungal gelişim göstermektedir. Hastalıklı yumruların çimlenme gücü düştüğü için çıkışlarda aksamalar görülmektedir (Anonim 2019a). Çürüklük ilerleyince lekelerin olduğu yerlerde bir oyukluk oluşmaya başlamakta ve patates yumruları çukur şeklinde çürümektedir (Anonim 2019f). Yumruların iletim demetlerinde açık kahverengiden, siyaha kadar değişen renklerde nekrotik alanlar veya göbek bağından başlayan koyu renkli çökük lekeler meydana gelmekte, çürüklük ilerledikçe yumru içinde boşluklar oluşmakta, yumru yüzeyi buruşmakta ve fungusun miselleri ipliksi şekilde görülmektedir (Anonim 2019d).

Bu hastalık etmeni genellikle toprakta misel ve spor formunda ve özellikle dayanıklı kışlık yapıları olan klamidosporları ile canlı kalabilmektedir. Patates çeşitlerinin bu hastalığa karşı duyarlılıkları *Fusarium* türüne bağlı olarak değişmektedir. Patojen depolarda tohumluk yumruları etkilemektedir. Patatesler uygun olmayan şekilde depolandıkları (sıcaklık, nem, havalandırma vs. bağlı olarak) takdirde hastalık hızla yayılmakta ve %60'dan fazla yumruyu enfekte edebilmektedir. Hastalıklı tohumluk yumrular ekildiğinde *Fusarium* türleri, gelişen patates filizlerini öldürerek ürünü azaltmakta, hasatta %25'in üzerinde ürün kaybına neden olmaktadır (Anonim 2019f). Hastalık etmeni toprakta çürümüş bitki artıklarında spor veya miselyum halinde canlılığını sürdürmektedir. Yetiştirilen ve yaygın olarak ekimi yapılan bütün patates çeşitleri bu hastalığa karşı duyarlıdır. Enfeksiyon için optimum sıcaklık 10-20°C arasındadır, *Fusarium* türlerinin çoğu bu sıcaklıklarda yüksek nem ile birlikte hızla gelişmektedirler. Kuru çürüklük çoğunlukla bir depo hastalığıdır, diğer etmenlerin ve

yumuşak çürüklük bakterilerinin enfeksiyonu için de uygun ortam sağlamaktadır (Anonim 2019e).

Fusarium türleri içerisinde patatesten önemli ürün kayıplarına neden olan *F. oxysporum* ile farklı yöntemlerle mücadele edilmeye çalışılmaktadır. Ancak, kontrolü zor olan bir hastalık etmeni olduğu bildirilmektedir (Küçük vd 2006). Mevcut mücadele şekillerinden kültürel önlem olarak yaralı yumruların depoya konulmaması ve tohumluk olarak dikilmemesi önemli bir önlem olarak görülmektedir. Yumrular yaralanmalara karşı daha duyarlı olduğu için 7°C'nin altındaki sıcaklıklarda hasat yapmaktan kaçınılmalı, hasatta yaralanmadan dolayı meydana gelebilecek bulaşmaları önlemek için hasat sonrası kabuğun pişkinleşip yaraların iyileşmesi amacıyla iki hafta 13-18°C'de havadar bir yerde yumrular bekletilmelidir. Ayrıca, depolarda havalandırma ve hava sirkülasyonunun iyi yapılmasına da önem verilmelidir. Bu etmenle kimyasal mücadele için yumru ilaçlaması da yapılmaktadır (Anonim 2019c). Kullanılan fungusitler ise fitotoksisite, dayanıklılık, çevre kirliliği ve insan sağlığına zararlı etkileri nedeniyle sorun oluşturmaktadır (Erdoğan 2015).

Tarımsal üretimde kalite ve verimi artırmak amacıyla kullanılan kimyasalların uzun vadede oluşturabileceği olumsuz etkilerin farkına varan araştırmacılar yıllardır kimyasallara alternatif çözüm arayışı içerisine girmişlerdir. Ayrıca, "Organik Tarım", "Entegre Mücadele" ve "İyi Tarım Uygulamaları" gibi başlıklar altında kimyasal ilaçların kullanımını minimuma indirmeyi amaçlayan araştırmalar da oldukça geniş yer almaya başlamıştır (İmriz vd 2014). Bu araştırmalar içerisinde çevre kirliliği problemleri, kullanılan tarımsal ilaçların insan sağlığına, doğaya verdiği zararlar, kullanılan ilaçlara bir süre sonra dayanıklılık kazanılması ve tüketicilerin organik ürünleri tüketme eğilimleri göz önüne alındığında biyolojik mücadele çalışmaları önem kazanmıştır (Özaktan vd 2010).

Bitki hastalıklarıyla biyolojik mücadele 1920'li yıllarda dikkat çekmeye başlamış, 1940'lı ve 1950'li yıllar patojen-antagonist ilişkilerinin laboratuvar şartlarında gözlenmesi şeklinde geçmiştir. Daha sonraki yıllarda saksıda steril topraklarda çalışmalar

yürütülmüş, 1980’li yıllarda çalışmalar artık doğal şartlara aktarılmış ve günümüze kadar hem laboratuvar hem de doğal şartlarda hastalık etmenleri ile mücadelede mikroorganizmaların kullanıldığı çok sayıda çalışma yapılmıştır (Özaktan vd 2010). Patojen ve antagonist arasındaki etkileşimin bilinmesi başarılı biyolojik mücadele için gereklidir. Bu etkileşim anlaşıldıktan sonra biyolojik mücadele stratejisinin hangi koşullarda başarılı olacağı tespit edilebilecektir. Antagonistler antibiyotik üreterek, patojen ile besin ve/veya yer rekabetine girerek, patojen üzerinde hiperparazit olarak yaşayarak patojenin gelişimini engellemekte veya baskılamaktadırlar. Antagonist, bu etki mekanizmalarından bir veya birkaçını kullanarak hastalığı yüksek oranda engelleme etkisine sahip olmalı ve bu etki uzun sürmelidir (Özaktan vd 2010). Ayrıca, bir antagonist yaşadığı ortamda diğer antagonistlerle uyumlu olmalı, diğer faydalı mikroorganizmalara olumsuz etkisi olmamalı, yetiştirme mevsimi boyunca yüksek popülasyonda yaşamını devam ettirebilmeli, olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürebilmeli, konukçu bitkinin olabildiğince çok sayıda patojenine karşı etkili olmalıdır (Özaktan vd 2010). Değişik çevre koşullarında bekletildiğinde ya da biyopreparatı yapıldığında genetik yapısında değişim olmamalı, standart fungusitlerden ve özellikle hasat sonrası hastalıklar için kullanılan fiziksel ve kimyasal uygulamalardan etkilenmemelidir. Antagonist, kolay kültüre alınabilmeli ve kitle üretimi için pahalı olmayan ortamlarda gelişebilme özelliğinde olmalıdır. Depolama esnasında özelliğini uzun süre korumalıdır. İnsan sağlığına zararlı ikincil metabolitler üretmemeli ve hedef dışı canlılara zararlı etkisi olmamalıdır. Biyopreparat haline getirildiğinde pazar potansiyeli olmalıdır (Özaktan vd 2010).

Fusarium gibi kimyasallarla kontrol edilmesi zor olan hastalık etmenlerinin kontrol altına alınmasında da biyolojik mücadele çalışmalarının ayrı bir önemi bulunmaktadır. Bitkinin rizosfer bölgesinde yaşayan, saprofitik karakterdeki bazı bakterilerin ve fungusların rekabetçi özellikte oldukları ve bazı metabolik maddeler üreterek bu patojenlere baskılayıcı etki gösterdikleri bilinmektedir. Bitki kök ve kök boğazında hastalık meydana getiren *Fusarium* cinsi hastalık etmenleri ile biyolojik savaşında çeşitli bakteriyel antagonistlerin ve *Trichoderma* türlerinin başı çektiği pek çok çalışmada görülmektedir (İmriz vd 2014).

Bu çalışmada da patatestede önemli verim kaybına neden olan kuru rklk hastalığı etmeni *F. oxysporum*'un biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için 2 adet *Pantoea agglomerans*, 2 adet *Bacillus pumilus*, 7 adet *Bacillus subtilis*, 3 adet *Bacillus megaterium*, 1 adet *Ochrobactrum anthropi*, 1 adet *Agrobacterium radiobacter* ve 1 adet *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstakii* olmak üzere 17 biyoajan bakteri straininin ve 2 adet *Trichoderma harzianum* fungal biyoajan izolatının *in vitro* şartlarda hastalık etmeninin biyolojik mücadelesinde kullanılabilişliği test edilmiş, *in vitro* test sonuçlarına göre en etkili olan 5 adet biyoajan bakteri straini ve 2 adet biyoajan fungus izolatı ile *in vivo* denemeler kurulmuştur. Ayrıca, depolanan yumrular da hastalık etmeninin üzerinde biyoajan bakteri strainlerinin ve fungus izolatlarının etkililiği test edilmiş, en etkili olan bakteri straininin uygulama zamanı belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kültür bitkilerinde önemli hastalıklara sebep olan etmen gruplarından biri olan fungusların hücre yapısı bitki hücrelerinin yapısına benzemektedir. Funguslar; klorofil içermezler, spor oluşturabilirler, eşeyli ve eşeysiz olarak üreyebilirler, hücrelerinde gerçek bir çekirdek bulundurlar ve hücre zarının yapısında kitin ve selüloz olan organizmalardır. Bitkilerde hastalıklara neden olan fungusların üremeleri neticesinde oluşturdukları sporların hastalıkların çevreye yayılmalarında önemli derecede rolleri bulunmaktadır. Fungal etmenler konukçu dokusuna giriş yaptıktan hemen sonrasında konukçada bazı sitolojik-histolojik farklılıkların yanı sıra fizyolojik değişikliklere sebep olmaktadır. Enfeksiyon oluşturduktan sonra, bitki dokusunda yaptıkları farklılıklar gözle görülür dereceye gelmekte ve bu hastalık belirtilerine ‘simptom’ adı verilmektedir. Fungal etmenler hastalandırdıkları bitki ve bitki organlarına göre değişen hastalık belirtileri gösterebilmektedirler (Yeğen 1987).

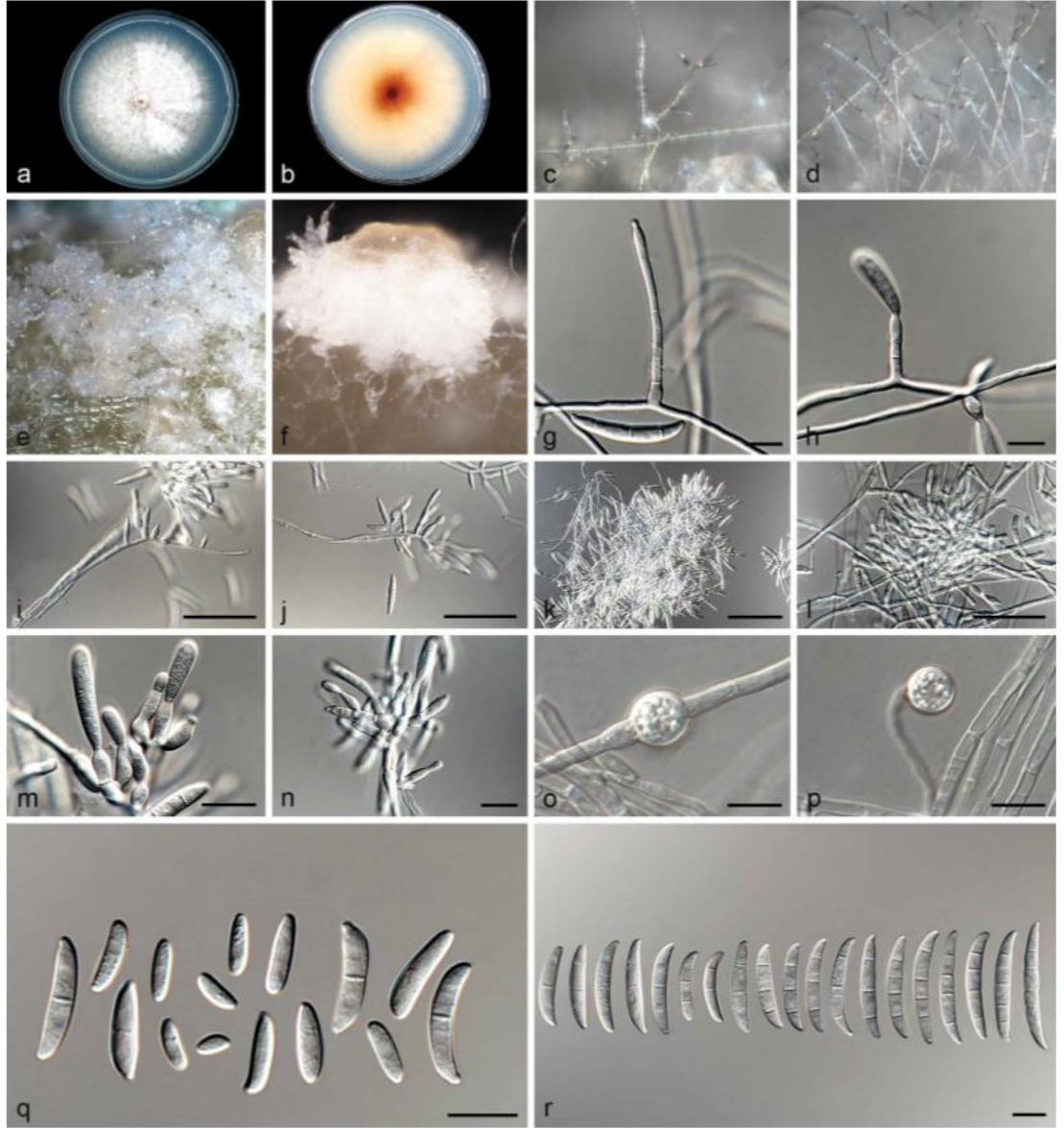
Kuru çürüklük hastalığı etmeni olan *Fusarium*’a ait 31 patojen tür 53 konukçada saptanmıştır (Özer ve Soran 1991). *Fusarium* cinsine ait fungusların konukçada neden olduğu solgunluk belirtilerinin fungusun ürettiği nonspesifik bir toksin olan fusarik asit (FA)’den dolayı ortaya çıktığı bildirilmektedir (Davis 1969; Toyada *et al.* 1988). FA ile yürütülen araştırmalarda, oluşturduğu toksinin konukçada hücre zarının seçici geçirgenliğini farklılaştırdığı, mitokondrinin aktivitesini ve ATP sentezini düşürdüğü ve bitki kök gelişiminin gerilemesine sebep olduğu tespit edilmiştir (Bouizgarne *et al.* 2004; Bouizgarne *et al.* 2005; Bouizgarne *et al.* 2006; Wu *et al.* 2008). Toksin, *F. oxysporum* başta olmak üzere birçok *Fusarium* türü (*F. moniliforme*, *F. crookwellense*, *F. subglutinans*, *F. sambucinum*, *F. napiforme*, *F. heterosporum*, *F. solani* ve *F. proliferatum*) tarafından üretilmektedir (Bacon *et al.* 1996). Ayrıca, toksinin yumrulardaki kuru çürüklük (*F. oxysporum*) hastalığında da önemli rolü olduğu bildirilmiştir (Venter and Steyn 1998). Kuru çürüklük hastalığı hasat sonrası patates yumrularında görülen ve dünyada önemli bir hastalıktır ve ülkemizde bu hastalığa *F. equiseti*, *F. coeruleum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. sulphureum* etmenleri sebep olmaktadır (Bacon *et al.* 1996).

Önemli bir hastalık etmeni olan *F. oxysporum* ilk defa 1824 yılında Diederich F.L. von Schlechtendal tarafından Almanya'nın Berlin kentinde toplanan çürük patates yumrularından (*S. tuberosum*) izole edilmiştir (Wollenweber 1913).

Geniş bir konukçu çevresine sahip olan *F. oxysporum* yaklaşık 120-150 konukçuya özel virülanslık formları olan kozmopolit ve oldukça karmaşık bir türdür (Attitalla *et al.* 2004; Bogale *et al.* 2007). Formların her biri bir ya da birden çok vejetatif uyum grubundan oluşur ve birçok farklı patojenik ırklara sahiptir. Alt türlerinin birçoğu sadece bir konukçu türünü enfekte edebilme özelliğindedir. *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL), kök ve kök boğazı çürüklüğü etmeni *F. oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* (FORL) olarak bilinmektedir (Farley *et al.* 1975). Bu iki patojen morfolojik olarak ayırt edilemez (Attitalla *et al.* 2004). Domateste FOL ve FORL, patlıcanda *F. oxysporum* f.sp. *melongenae*, biberde *F. oxysporum* f.sp. *vasinfectum* hastalık oluşturmaktadır (Miller *et al.* 1996).

F. oxysporum'un form spesiyelerini de içeren vasküler solgunluk oluşturan funguslar, toprak kökenli patojenlerin çok önemli bir grubunu oluşturmaktadırlar (Yücel 1989). *F. oxysporum* üç tip aseksüel spor üretmektedir. Bunlar; mikrokonidi, makrokonidi ve klamidospor'dur. Mikrokonidiler bir veya iki hücrelidir ve fungus çoğu koşulda en çok bu spor tipini oluşturmaktadır. Makrokonidiler ise 3 veya 5 hücrelidir, şekil olarak eğik ve uca doğru sivrilen bir şekli vardır. Makrokonidiler çoğunlukla patojenin öldürdüğü bitkilerin üzerinde bulunmaktadırlar (Agrios 1988). FORL'nin yayılmasında ve hayatta kalmasında bu spor tiplerinden ikisi göze çarpmaktadır. Klamidosporlar ise kalın duvarlara sahiptirler ve fungus toprakta uzun periyodlar boyunca hayatta kalabilmektedirler (Ozbay and Newman 2004). Etmen soğuk seralarda, erkenci yetiştiricilikte ve topraksız kültürde kullanılan çeşitli substratların içerisinde veya bitki artıkları üzerinde klamidospor formunda da varlığını sürdürmektedir. Ayrıca, fungusun mikrokonidilerinin bulaşık seralarda havada yaygın olarak mevcut olduğu da bildirilmiştir (Rowe and Farley 1978; Rowe 1980). O₂'ye çok ihtiyaç duymadıklarından 30-40 cm'e kadar toprak derinliklerinde yaşamlarını süredürebilirler. Gelişimlerinde uygun pH 5-7, en iyi sıcaklık ise 24-32°C aralığındadır (Özer ve Soran 1991).

F. oxysporum Patates Dekstroz Agar (PDA) gibi katı ortamda çoğaltılabilirler. Genel olarak, havai miselleri önce beyaz renkte olup, daha sonra ırk ya da türe göre mordan koyu pembeye kadar değişebilmektedir. Eğer sporlar çok yoğunsa kültür, krem ya da turuncu renge görünmektedir (Gonsalves *et al.* 1993) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Fusarium oxysporum* PDA'daki koloni

(a-b); konidiosporlar (c-d), sporodokyalar (e-f), hava miselyum üzerindeki konidioforlar (g-j), sporodokya konidioforlar (k-n), klamidospor (o-p), mikrokonidi (q), makrokonidi (r) yapıları (Rowe and Farley 1978; Rowe 1980)

Fungusun ana kaynağı toprak ya da hastalıklı patates tohumudur. Ülkemizde iyi depolama yapılmayan yerlerde hastalık ortaya çıkmaktadır. Depolarda %25-70 arasında kayba neden olabilmektedir (Turkensteen 2005). Patojen doğrudan yumruya giriş yapamamakta, bu nedenle hasat sırasında yumru zedelenmedikçe genelde hastalık belirtisi görülmemektedir. Yumru yüzeyindeki toprakta yer alan fungus, hasatta meydana gelen ezilmelerden dolayı fungusun yumruya girişini sağlamaktadır. Yumruda koyu renkli çökük yüzeysel lekeler halinde başlayan belirtiler, hasattan sonra birkaç hafta içinde belirgin bir şekilde ortaya çıkmaktadır (Turkensteen 2005). Açık kahverenginden, siyah renge kadar değişen renklerde nekrotik alanlar şeklinde görülmektedir. Çürüklük arttıkça yumru içinde boşluklar oluşturmakta ve yumru yüzeyi buruşmaktadır. Patates yumrusu içerisinde oluşturduğu boşluklar ve hastalıklı alanlar üzerinde mor, beyaz, sarı veya pembemsi renklerde fungal yapı gözle görülmektedir. Bulaşık yumrulara kuru çürüklüklere neden olmaktadır (Turkensteen 2005). Nemli ortamda yumuşak çürüklüğün yanı sıra bakteriler tarafından meydana getirilen sekonder enfeksiyonlarda gelişebilmektedir. Uzun süre depolanmış yumrulara ileri derecede hastalanmış yumruda tamamen çürüme, buruşma ve mumyalaşma görülmektedir. Bu yumruların tohumluk olarak kullanılmaları durumunda toprağı bulaştırmakta ve toprak patojeni olan etmen burada yıllarca kalabilmektedir (Turkensteen 2005). Turkensteen (2005), çürümenin depolama yapılan süreye, depolama sıcaklığına, depo nemine ve deponun havalandırmasına göre gittikçe ilerlediğini ve hasta olmayan yumrulara da enfekte olarak sağlam yumruların sayılarını azalttığını bildirmiştir.

Bitki hastalıkları tarım ürünlerinin verim ve kalitesini azaltmakta, aynı zamanda tarıma dayalı üretime olumsuz etkide bulunmaktadır. Bütün bu olumsuzlukların en aza indirilmesi veya tamamen ortadan kaldırılması için hastalık etmenleri ile mücadele edilmesi gerekmektedir. Bu etmenin mücadelesine yönelik de farklı araştırmacılar tarafından yapılan bazı çalışmalardan aşağıda bahsedilmiştir.

Kültürel önlem olarak, yaralı yumrular seçilerek ayıklanmalı, depoya konulmamalı ve tohumluk olarak dikilmemelidir. *Fusarium* türleri sporları toprakta en az yedi yıl canlılığını sürdürebilmektedir. Bu nedenle aynı tarlaya yedi yılda bir patates dikilmesi

önerilmektedir (Cooke 2014). Dikimlerde yumruların kesilmemesi gerekmektedir (Taylor 2014). Hasat sıcaklığı, yumrular zedelenmelere karşı dayanıksız olduğu için 7°C'nin üstünde olmalıdır. Hasatta zedelenmelerden kaynaklı bulaşmayı engellemek için hasat sonrası kabuğun pişkinleşip yaraların iyileşmesi amacıyla yumrular 14 gün boyunca 13-18°C'de havadar bir ortamda muhafaza edilmeli, tohumluk patates çeşitlerinden hastalığa dayanıklı olanları tercih edilmelidir (Çakır 2015).

Agrios (1997), tohum yatağı sterilizasyonunun yapılması ve ürün rotasyonu sayesinde *Fusarium*'un neden olduğu enfeksiyonun azaltıldığını bildirmiştir. Ayrıca, Jones and Overman (1971) 5-7 yıla kadar yapılan rotasyonların toprak inokulum düzeylerini önemli ölçüde azaltabileceğini bildirmişlerdir. Kimyasal mücadele, depolamada yumru ilaçlaması şeklinde yapılmalıdır (Çakır 2015).

Alternatif olabilecek diğer bir mücadele yöntemi ise doğal ve genetiği değiştirilmiş organizmalar ve ürettikleri metabolitlerle patojen ve zararlıların yok edilmesi veya popülasyonlarının 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).

Biyolojik mücadele, hastalık etmenleriyle antagonistik organizmalar arasındaki etkileşimin bir ürünüdür. Bu etkileşim mekanizmalarından antibiyosis, antagonistlerin toksin, antibiyotik ve enzim gibi metabolik salgılarıyla patojenlerin gelişimini engelleme ya da patojeni öldürme durumudur. Yarışma, patojen ve antagonistin aynı ortamda sınırlı bulunan aynı faktöre ihtiyaç duyarak rekabet oluşması durumudur. Bu rekabet çeşitli besin elementleri için olabileceği gibi yer için de olabilir. Bir antagonizm şekli olan hiperparazitizmde ise, antagonist mikroorganizma patojen fungusu parazitlemekte, biyolojik savaş mekanizması olan hipovirulens ise, düşük virülanslık yeteneği olan genlerin yüksek virülanslık yeteneğine sahip genleri taşıyan organizmalara aktarılmasıyla bu virulent patojenlerin hastalık oluşturmamasına dayalı bir etkileşim mekanizmasıdır. Antagonistin bazı salgıları veya içerdiği bazı kimyasal maddeler bitkinin patojene karşı dayanıklılık sistemlerinin çalışmasını sağlar. Sistemik dayanıklılık kök bakterileri

tarafından uyarılmışsa uyarılmış sistemik dayanıklılık (Induced Systemic Resistance-ISR) olarak ifade edilir. Uyarılmış dayanıklılık, bazı kimyasallar, non-patojenler, patojenlerin avirulent formları, patojenlerin uyumsuz ırkları tarafından ya da çevre koşulları yoluyla enfeksiyonun durdurulduğu durumlarda virulent patojenler tarafından başlatılıyorsa kazanılmış sistemik dayanıklılık (Systemic Acquired Resistance-SAR) olarak adlandırılır. SAR da salisilik asit (SA) ve hastalık oluşumu ile ilişkili proteinlerin (Pathogenesis related proteins-PR) birikimi söz konusudur (Aslan ve Özaktan 2005).

Birçok ülkede bazı bitki çeşitlerinde *Fusarium* solgunluğu etmeninin yeterli patojen inokulumu bulunmasına rağmen hastalık şiddeti çok düşük çıktığı belirlenmiştir. Bu durumun, o alanlarda toprak kaynaklı mikroorganizmalardan kaynaklandığı, bu mikroorganizmalar içerisinde ise virülans olmayan *Fusarium* ve floresan *Pseudomonas* türlerinin önemli olduğu belirlenmiştir (Larkin *et al.* 1993). Yine, yapılan bir başka çalışmada hastalığın baskı altına alınmasına neden olan en önemli grubun toprakta bulunan patojenik olmayan *F. oxysporum* ırkları olduğu tespit edilmiştir (Alabouvette *et al.* 1993). Başka bir çalışmada ise domateste *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*'ye karşı virülans olmayan *Fusarium* türlerinin toprağa ve enfeksiyon bölgesine verilmesiyle hastalığın biyolojik kontrolü sağlanmıştır (Yigit vd 2007). Saprofitik gelişen virülans olmayan *Fusarium* türleri patojenle yer ve besin rekabeti içerisinde. En büyük rekabet kaynağı ise karbondur. Virülans olmayan *Fusarium* türleri sadece bu etki mekanizması ile değil aynı zamanda konukçu bitkinin dayanıklılığını uyarması ile de biyolojik kontrolü sağlayabilmektedir (Yigit vd 2007). Yapılan bir çalışmada, domateste *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*'ye karşı virülans olmayan *Fusarium* ırkının kullanılması sonucunda başarılı sonuç elde edilmiş ve bitkide glukonaz, peroksidaz ve polifenoloksidaz gibi enzimlerin aktivitesinde bir artış tespit edilmiştir ((Smith and Snyder 1971; Kloepper *et al.* 1980; Scher and Baker 1980; Sneh *et al.* 1984).

Biyolojik mücadele ajanları kullanılarak hastalık etmenlerinin kontrolünün sağlandığı çok sayıda çalışma mevcuttur. Özellikle toprak kaynaklı bitki patojenlerinin biyolojik kontrolünde *Trichoderma* türleri birçok fungal bitki patojenine karşı en umut verici biyolojik kontrol etmenleri arasında yer almaktadır. *Trichoderma harzianum* kitinaz, β -

1-3 glükanaazlar ve β -1-4 glükanaazların üretimi, antibiyotikler, rekabet, inorganik bitki besinlerinin çözünürlüğü, patojen enzimlerinin inaktif hale getirilmesi ve dayanıklılığın teşvik edilmesi de dahil olmak üzere birden fazla etki mekanizmasına sahiptir (Elad and Kapat 1999; Harman 2006). *Trichoderma* türlerinin bitki kök yüzeylerine kolonize olarak bitki metabolizmasında değişikliklere neden oldukları yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Kleifeld and Chet 1992; Howel 2003). Ayrıca, bitki patojenlerinin gelişimlerini engelleyerek hastalığı azaltması, hormon benzeri metabolitler üretmesi, toprak veya organik maddeden besinleri çözebilmesiyle de bitki gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (Kleifeld and Chet 1992; Vinale *et al.* 2006).

Bitki kök ve kök boğazında çeşitli hastalıklara yol açan *Fusarium* gibi hastalık etmenleri ile de biyolojik mücadelede *Trichoderma* türlerinin pek çok çalışmada yer aldığı görülmektedir (İmriz vd 2014). Yine, *T. harzianum*'un *F. oxysporum* (Grodona *et al.* 1997; Hjeljord *et al.* 2000; Cotxarrera *et al.* 2002; Verma 2007; Sallam *et al.* 2008; John *et al.* 2010; Akrami 2015; Altınok ve Erdoğan 2015; Saravanakumar *et al.* 2016)'un kontrolünde etkili olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur.

Trichoderma türleri gibi funguslara ilaveten *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Enterobacter* ve *Bacillus* cinslerine mensup bakteri türlerinin de patates kuru çürüklüğü hastalığı etmenine karşı potansiyel biyokontrol ajanları olarak kullanılabileceğini gösteren birçok çalışma yapılmıştır (Schisler 1994; Schisler *et al.* 1997; Sadfi *et al.* 2001, 2002; Van den Boogert and Luttikhof 2004; Kotan *et al.* 2009; Tozlu *et al.* 2018).

Pseudomonas, *Enterobacter* ve *Pantoea* cinsine mensup türlere ait bakteri strainlerinin patates yumrularındaki uygulamalarında *F. sambucinum* etmenine karşı öldürücü etkisinin olduğu da belirlenmiştir (Schisler and Slininger 1994; Schisler *et al.* 1997).

Khalil and Mughrabi (2010), *Pseudomonas fluorescens* (B-21133) ve *Enterobacter cloacae* (B-21050)'nin *Fusarium* kuru çürüklüğüne karşı etkinliğini değerlendirmek için tarla şartlarında uygulama yapmışlar, biyokontrol strainlerinin uygulandığı yumrular üzerinde hastalık şiddetinde azalma belirlemişler, bu strainlerin patateslerde *Fusarium*

kuru çürüklüğü hastalığını kontrol altına almada fungusitlere alternatif olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Elad and Baker (1985), yaptıkları bir çalışmada, topraktaki *F. oxysporum*'un klamidospore çimlenmesinin engellenmesinde, floresan *Pseudomonas*'ların siderofor üretiminin etkisinin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Patates yumrularının *Bacillus licheniformis* (I32) ve *Bacillus cereus* (X16) strainleri ile muamele edilerek sera koşullarında kuru çürüklük hastalığı etmeni *F. roseum* var. *sambucinum*'a etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada ise, bakteri strainlerinin etkisi ile hastalık şiddetinin azaldığı ve verim parametrelerinin arttığı kaydedilmiştir (Sadfi *et al.* 2002).

Hasat sonrası önemli kayıplara neden olan hastalık etmenlerini kontrol altına almak amacıyla da biyolojik mücadele çalışmaları yürütülmüş, hastalığı kontrol altına almak için antagonistik mikroorganizmaların geliştirilmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Funguslar, bakteriler ve mayalar gibi farklı biyokontrol ajanları ile kuru ve yumuşak çürüklerin biyolojik kontrollerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Bartz and Eckert 1987; Wilson and Wisniewski 1992; Schisler 1994; Schisler *et al.* 1997; Kotan *et al.* 1999, 2002; Sadfi *et al.* 2002).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Yararlanılan cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır.

- Sterilizatör (Nüve, TÜRKİYE, FN 500, SN 303–3051)
- Otoklav (Hirayama, JAPAN, 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, GERMANY, SN 4002319)
- Otomatik pipetler (Eppendorf, GERMANY)
- Magnetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE, MK–418, SN 05–1083)
- pH metre (Hana, PORTUGAL, HI 9321, SN 396202)
- Derin dondurucu (Nuaire, U. S. A, -86 Ultralow Freezer, SN P07K–476316-PK)
- Hassas terazi (Scaltec, GERMANY, SPB42, SN SPB42–90908239)
- Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)
- Saf su cihazı (Ateks, 7x35, Eu)
- Mini karıştırıcı (IKA, U.S.A., M51, SN 03017581)
- İklimlendirme odası (Digital ayarlanabilir oda)
- Vorteks (Velp Scientifica)
- Plastik petri kapları (90 mm, 60 mm)
- Çeşitli kimyasal malzemeler

3.1.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı

Araştırma süresince kullanılan besiyerleri ve çözeltilerin hazırlanışı detaylı olarak aşağıda verilmiştir:

PDA (Patates Dekstroz Agar): Hassas terazide 39 g PDA (Difco) tartılarak 1L dH₂O 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 katılaşmaya bırakılmıştır (20 ml). Genel besiyeri olup, fungusların geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

NA (Nutrient Agar): 23 g NA (Difco) 1 L dH₂O içinde çözülüp 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 dH₂O 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.

Lauryl Broth (LB): 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 900 µl olarak dağıtılmıştır. Bakteri stok kültürü hazırlarken kullanılmıştır.

%70’lik Etil Alkol: 70 ml etil alkol, sdH₂O ile 100 ml’ye tamamlanarak solüsyon hazırlanmış ve hazırlanan çözeti -20°C’de muhafaza edilmiştir. Dezenfektasyon amacı ile kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus

Erzurum İlinde patates depo alanlarında yapılan surveylerde kuru çürüklük semptomu gösteren yumrular alınarak laboratuvara getirilmiş ve izolasyonları yapılmıştır. Elde edilen patojen fungus izolatlarından virülanslığı en fazla olan izolat çalışmanın materyalini oluşturmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada elde edilen patojen fungus izolatları

İzolat	İzole edildiği bitki	Lokasyon
ET 81	Patates	Erzurum
ET 82	Patates	Erzurum
ET 83	Patates	Erzurum
ET 84	Patates	Erzurum

3.1.4. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan bakteriler

Yapılan bu çalışmada kullanılan 17 biyoajan bakteri straini Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nün Mikroorganizma Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiştir. Bu bakteri strainlerinin daha önce yapılan çalışmalarda fosfat çözme, azot fiksasyonu, hormon ve aminoasit üretimi yönünden özellikleri belirlenerek farklı bitki türlerinde bitki büyüme düzenleyicisi olarak kullanılabilirliği kaydedilmiş, birçok bakteriyel ve fungal bitki patojeni ile zararlıya karşı biyoajan olarak etkililiği test edilmiştir. Bu bakteriler içerisinde belirlenen strainler çalışmanın biyoajan bakteri materyallerini oluşturmuştur (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainleri, MIS tanıları, benzerlik oranları ve aşırı duyarlılık test sonuçları

Strain	MIS TANI	MBI*	İzole edildiği materyal	HR	Kaynak
BRTB	<i>Pantoea agglomerans</i>	0,572	Toprak	-	Kotan <i>et al.</i> 2005
RK103	<i>Bacillus pumilus</i>	0,626	Toprak	-	Kotan R., 2000
BAB140	<i>Bacillus subtilis</i>	0,598	Toprak	-	Kotan R., 1998
TV103B	<i>Bacillus megaterium</i>	0,514	Toprak	-	Tozlu <i>et al.</i> 2016
TV12H	<i>Bacillus subtilis</i>	0,744	Buğday	-	Çakmakcı <i>et al.</i> 2010
TV6F	<i>Bacillus subtilis</i>	0,831	Toprak	-	Çakmakcı <i>et al.</i> 2010
EK7	<i>Bacillus subtilis</i>	0,624	Kuşburnu, testereli arı	-	Tozlu <i>et al.</i> 2017
TV67C	<i>Bacillus pumilus</i>	0,630	Ahududu	-	Erman <i>et al.</i> 2010
TV17C	<i>Bacillus subtilis</i>	0,677	Ahududu	-	Çakmakcı <i>et al.</i> 2010
A16	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0,786	Elma	-	Mohamadi <i>et al.</i> 2017
CP1	<i>Bacillus subtilis</i>		<i>Ricania simulans</i>	-	Tekiner <i>et al.</i> 2018a
RK92	<i>Pantoea agglomerans</i>	0,889	Armut-Dal	-	Karagöz <i>et al.</i> 2010
A16B	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0,318	Toprak	-	Tozlu <i>et al.</i> 2017
TV87A	<i>Bacillus megaterium</i>	0,467	-	-	Erman <i>et al.</i> 2010
TV91C	<i>Bacillus megaterium</i>	0,474	-	-	Ekinci <i>et al.</i> 2014
TV125A	<i>Bacillus subtilis</i>	0,786	-	-	Aktaş S., 2015
BAB410	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstakii</i>	0.62	<i>Ricania simulans</i>	-	Göktürk <i>et al.</i> 2018

*MBI: MIS Benzerlik oranı, HR: Aşırı duyarlılık

3.1.5. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan funguslar

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde Mikroorganizma Kültür Koleksiyonu'nda bulunan, daha önce farklı patojenler üzerinde etkililiği test edilmiş ve moleküler tanısı yapılmış olan 2 potansiyel biyoajan fungus izolatu kullanılmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan potansiyel biyoajan fungus izolatları

İzolat	İzole edildiği materyal	ITS tanı sonucu	B*	Erişim numarası*	Kaynak
ET 4	At kestanesi	<i>Trichoderma harzianum</i>	87	KT897696	Tozlu <i>et al.</i> 2017a
ET 14	Sarı çam	<i>Trichoderma harzianum</i>	97	LN864822	Tozlu <i>et al.</i> 2017a

B*: Benzerlik oranı, *GenBank

3.1.6. Çalışmada kullanılan bitki çeşidi

Saksı ve depo denemelerinde test bitkisi olarak Erzurum ili Pasinler ilçesinden temin edilen Granola çeşidi patates yumruları *in vivo* denemelerinde kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Patojen fungus izolasyonu

Erzurum ilinde bulunan patates depolarından hastalıklı patates yumruları toplanmıştır. Laboratuvara getirilen örnekler musluk suyunda yıkandıktan sonra laminar kabinde yumrunun enfekteli kısmından alınan 1 cm'lik parçalar tekrar 3 dakika musluk suyunda yıkanmıştır. Daha sonra %1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde 1-2 dk yüzeysel olarak dezenfekte edilip, steril dH₂O ile yıkanarak 5 dk kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuş ve PDA içeren petrilere yerleştirilerek, 20-25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Doku parçasından 4-5 gün içerisinde gelişen kolonilerin uç kısmından alınan 6 mm çapındaki misel diskler PDA içeren petrilere aktararak saf kültürler elde edilmiştir. Bu izolatlar daha sonra PDA içeren test tüplerine aktararak, çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Patojen fungus izolatlarının patojenite testi

Patojenite için Granola çeşidi patates yumruları kullanılmıştır. Kullanılan yumrular %10'luk sodyum hipoklorit (NaClO) ile 3 dk dezenfekte edilmiş, steril dH₂O ile durulanıp 5 dk kurutulmuş ve kürdanla zedelenmiştir. Sürvey sonucunda elde edilen ve PDA'da 10 gün geliştirilen ET 81, ET 82, ET 83 ve ET 84 patojen izolatlarının hemositometre ile 10⁶ konidi/ml'ye ayarlanan spor solüsyonunda zedelenen yumrular 10 dk bekletilerek inoküle edilmiştir. Kontrol yumruları ise steril dH₂O'da 10 dk bekletilmiştir. Yumruların inokulasyonundan 10 gün sonra yumruda hastalık belirtisi görülen kısımlardan re-izolasyon yapılarak Koch Postulatları tamamlanmıştır.

Ayrıca, *in vivo* şartlarda da patojenin etkisini belirlemek amacıyla organik maddece zengin torf ve perlitin eşit hacimde karışımı bulunan plastik saksılara (5 numara) aynı şekilde zedelenerek fungus solüsyonunda 10 dk bekletilmiş yumruların ve steril dH₂O'da 10 dk bekletilen kontrol yumrularının dikimleri yapılmış ve bu yumrular 24°C'de 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyotta bitki büyütme kabininde tutulmuştur. İnokulasyondan 30 gün sonra da fidelerde hastalık belirtisi görülen kısımlardan re-izolasyon yapılarak patojen fungus tekrar izole edilmiş ve Koch Postulatları tamamlanmıştır.

Yumrulara yapılan patojenite testi sonucunda patates kuru çürüklük hastalığı (*Fusarium* spp.) için oluşturulmuş 0-4 skalası (Çiftçi ve Altınok 2019) modifiye edilerek kullanılmıştır. Patojen izolatlar arasından en virülant olanları seçilmiş çalışmanın bundan sonraki aşamaları belirlenen bu izolat ile yürütülmüştür.

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 81 izolatı PDA'da geliştirilmiş, kolonilerinin kültürel ve morfolojik özellikleri dikkate alınarak Hasenekoğlu (1991)'na göre tanısı yapılmıştır. Tanısı yapılan fungus kültürü PDA içeren test tüplerine aktararak ilerideki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.b. Patojen fungusun moleküler tanısı

ET 81 izolatının moleküler karakterizasyonu ITS1-ITS4 bölgesi hedeflenerek gerçekleştirilmiştir. ET 81 patojen fungus izolatı 50 ml Patates Dekstroz 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 tanılmasında yaygın olarak kullanılan ITS1-ITS4 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 steril 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 PureLink™ Quick PCR purification kit ile saflaştırılmış, ticari bir firma (REFGEN) aracılığıyla her iki primer ile DNA dizi analizi yaptırılmıştır. Elde edilen sekans verileri BioEdit programı ile birleştirildikten sonra BLASTN 2.2.26+ programı kullanılarak, GenBank'ta (www.ncbi.nlm.nih.gov) (Zhang *et al.* 2000) olan türlerle karşılaştırılarak, sekans verilerinin girişi gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Biyolojik mücadele çalışmaları

3.2.4.a. *In vitro* testler

Önceki çalışmalarda etkililiği test edilmiş biyoajan bakterilerin patojen fungus üzerine etkisini belirlemek için ET 81 patojen fungus izolatının gelişmekte olan 9-10 günlük kültüründen 6 mm çapında diskler alınarak PDA içeren petrilerin ortasına yerleştirilmiştir. Test edilmek istenen biyoajan bakteri strainleri ise NA içeren petrilerde 24 saat geliştirildikten sonra steril eküvyon çubukla alınarak patojen izolatın yerleştirildiği petrinin kenar kısımlarına çizilmiş (Mohammadi *et al.* 2017) ve bir hafta

süre ile 25°C’de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Sadece patojen fungus izolatının yerleştirildiği petride fungus izolatu tüm petri yüzeyini kapladığında uygulamalarda büyüme çap ölçümü yapılarak o uygulamaya ait değerler elde edilmiştir (Tozlu *et al.* 2017b).

Antibiyosis etkileşiminde biyoajanların patojen fungus hifinin gelişimini engellendiği bölgenin (inhibisyon zonu) çapı mm olarak ölçülmüş, bakteriyel biyoajanların patojen fungus kolonisinin gelişimini yüzde engellenme oranı Mari *et al.* (1996)’ın belirttiği radyal gelişmenin engelleme yüzdesi formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Çalışmada her bir bakteriyel izolat için 3’er petri kullanılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Böylece, muhtemel biyoajan bakterilerin patojen fungusu antibiyosis etkileşim ile kontrol edip etmediği belirlenmiştir (Marie *et al.* 1996).

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

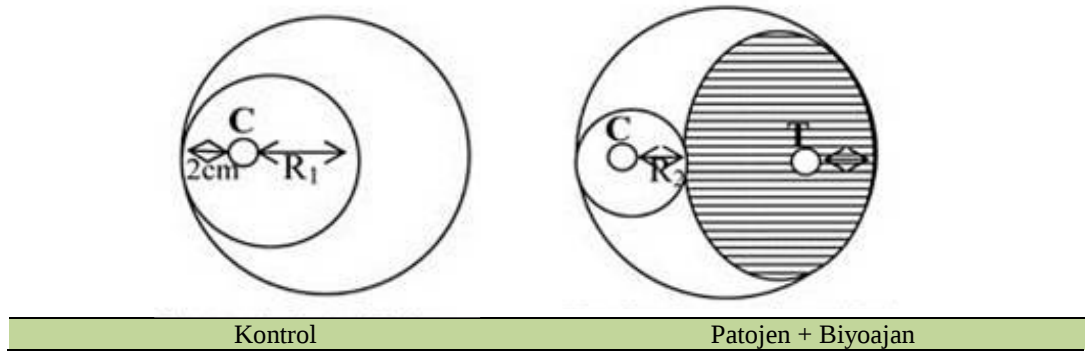
C: Kontrol uygulamasında patojenin koloni çapı

M: Misel diskin çapı (6 mm)

T: Bakteri uygulamasında patojenin koloni çapı

Daha önce biyoajan olarak etkinliği test edilmiş olan biyoajan fungus izolatları ET 4 ve ET 14’ün patojen fungus üzerine etkisini belirlemek için 6 mm çapındaki misel diskleri ile patojen fungus izolat ET 81 PDA içeren petrilere aralarında 5 cm uzaklık olacak şekilde karşılıklı olarak yerleştirilerek inkübasyona bırakılmıştır.

Fungal biyoajan ajanlarının hiperparazitik etkisini belirlemek için ise kontrol petrideki patojenin yarıçapı (R₁) ve biyoajan ve patojen ekilen petrideki patojenin yarıçapı (R₂) ölçülerek Skidmore and Dickinson (1976)’a göre radyal gelişimin yüzde engellenmesi hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Patojen fungus miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi

$$\text{Yüzde engelleme oranı (\%)} (\text{YEO}) = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

R_1 = Kontrol petrideki patojen fungus miselinin yarıçapı

R_2 = İkili kültür petrideki patojen fungus miselinin yarıçapı (ET 4 veya ET 14 ve patojen fungus)

$\text{YEO} \leq \%50$: Az

$\%50 < \text{YEO} \leq \%60$: Orta

$\%60 < \text{YEO} \leq \%75$: Yüksek

$\text{YEO} > \%75$: Çok yüksek

Böylece, muhtemel biyoajan bakteri ve fungusların patojen fungusu antibiyosis ve hiperparazitizm etkileşim ile kontrol edip etmediği belirlenmiştir (Skidmore and Dickinson 1976; Marie *et al.* 1996).

3.2.4.b. *In vivo* testler

1. Biyoajan bakteri strainlerinin *in vivo* testler için hazırlanması

NA'ya çizgi ekim yapılan biyoajan bakteri strainleri 28°C'de 48 saat inkübe edildikten sonra NB'ye aktarılarak yatay çalkalayıcıda inkubasyona bırakılmış ve daha sonra elde edilen bakteri süspansiyonlarının konsantrasyonu 1×10^8 kob/ml'ye ayarlanmıştır. Bu

amaçla spektrofotometrik olarak süspansiyonun absorbansı 600 nm’de 0.1’e ayarlanarak kullanılmıştır.

2. Biyoajan fungus izolatları ve patojen fungusun *in vivo* testler için hazırlanması

PDA’da 10 gün geliştirilen patojen fungusun petrileri 10 ml steril dH₂O dökülerek yıkanmış ve fungus spor süspansiyonu hemositometre ile 10⁶ konidi/ml’ye ayarlanmıştır. Oluşan süspansiyonlar beherlere alınmış, içerisine bir damla Tween 20 ilave edilerek mikropipetle karıştırılmış ve sporların homojen dağılması sağlanmıştır.

3. Saksı toprağının hazırlanması

Saksı denemelerinde; organik madde yönünden zengin torf ve perlit eşit hacimlerde karıştırılarak elde edilen karışım bitki gelişme ortamı olarak kullanılmıştır. Bu karışımdan 5 numara plastik saksılara eşit ölçülerde doldurulmuştur.

4. Saksı denemeleri

In vitro şartlarda etkili bulunan bakteri strainleri ve fungus izolatlarının patojene karşı etkililiğinin *in vivo* şartlarda test edilmesi amacıyla patojenite testinde de kullanılmış olan Granola çeşidi patates yumruları ile 3’er tekerrürlü olarak saksı denemeleri kurulmuştur.

İnokulasyon öncesi dezenfekte edilen patates yumruları kürdanla zedelenip önce sadece patojen fungus solüsyonunda 10 dk bekletilmiş, daha sonra 5 dk kurutulmuş ve sonra biyoajan fungus veya bakteri solüsyonlarında 10 dk bekletilerek uygulamalar yapılmış ve daha sonra yumrular saksılara dikilmiştir.

Çalışmada bakteri strainlerinin geliştirildiği steril NB besiyeri, fungus izolatlarının geliştirildiği steril dH₂O ve sadece patojen fungus kontrol uygulaması olarak kullanılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. *In vivo* çalışma

Sayı	Uygulamalar
1	KONTROL 1 (Sadece NB)
2	KONTROL 2 (Sadece steril dH ₂ O)
3	KONTROL 3 (Sadece patojen)
4	ET 81+BRTB
5	ET 81+RK103
6	ET 81+BAB140
7	ET 81+TV103B
8	ET 81+TV12H
9	ET 81+ET 4
10	ET81+ET14

In vivo çalışma sonucunda etkili bulunan bakteri straini BRTB'nin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla ikinci defa *in vivo* şartlarda deneme kurulmuş, patojen uygulamadan 4 saat önce, patojen uygulaması ile aynı anda ve patojen uygulandıktan 4 saat sonra biyoajan bakteri straini uygulanmıştır. 4 saat önce uygulamasında; biyoajan solüsyonunda 10 dk bekletilen yumrular 4 saat sonra patojen solüsyonunda 10 dk bekletilmiş, aynı anda uygulamasında; biyoajan solüsyonunda 10 dk bekletilen yumrular 5 dk kurutulduktan sonra, 10 dk patojen fungus solüsyonunda bekletilip, 4 saat sonra uygulamasında ise; patojen fungus solüsyonlarında 10 dk bekletilen yumrular 4 saat sonra biyoajan solüsyonunda 10 dk bekletildikten sonra ekimleri yapılmıştır. Bu çalışmada da kontrol uygulaması olarak steril NB, patojen fungus kullanılmış, deneme 3 tekerrürlü olarak her bir tekerrürde 3'er bitki olacak şekilde kurulmuştur (Çizelge 3.5).

Çizelge 3.5. BRTB bakteri straininin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla kurulan *in vivo* çalışma

Sayı	Uygulamalar
1	KONTROL 1 (Sadece NB)
3	KONTROL 2 (Sadece patojen)
4	ET 81+BRTB
	patojen uygulamasından 4 saat önce BRTB uygulaması
	patojen uygulaması ile aynı anda BRTB uygulaması
	patojen uygulamasından 4 saat sonra BRTB uygulaması

5. Saksı denemelerinin sonuçlarının alınması

Hastalık belirtileri oluşuncaya kadar bitkiler günlük olarak incelenmiştir. Hastalıklı bitkiler Çizelge 3.6'da verilen 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.6. Skala değerleri

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

6. Depolanan yumrulara biyoajan etkililiğinin belirlenmesi

Depo şartlarında da biyoajanların kullanılabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada, yumrular %10'luk sodyum hipoklorit (NaClO) ile 3 dk dezenfekte edilmiş, steril dH₂O ile durulanıp 5 dk kurutulmuştur. PDA içeren petrilere steril su dökülerek cam pipetle fungus sporları toplanmış, oluşan süspansiyon behere alınmış ve daha sonra mikropipetle homojen olarak karıştırıldıktan sonra hemositometre ile 1x10⁶ konidi/ml spor konsantrasyonuna ayarlanmıştır. Dezenfekte edilen yumrular zedelendikten sonra hazırlanan patojen fungusun spor solüsyonunda 10 dk bekletilerek inoküle edilmiştir. Kontrol olarak ise sadece NB, sadece steril dH₂O ve spor konsantrasyonu 10⁶ konidi/ml'ye ayarlanmış sadece patojen solüsyonlarında yumrular 10'ar dakika bekletilmiştir. Daha sonra 250 ml'lik şeffaf plastik kutularda 5°C'de, %70 bağıl nemde ve karanlık ortamda 4 hafta süreyle bekletilen yumrular çürüklük belirtisi görülen alanlarının çapları ölçülerek değerlendirilmiştir. Tüm uygulamalar 3'er tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. (Çizelge 3.7).

Çizelge 3.7. Yumrulara biyoajan etkililiğinin belirlenmesi

Sayı	Uygulamalar
1	KONTROL 1 (Sadece NB)
2	KONTROL 2 (Sadece steril dH ₂ O)
3	KONTROL 3 (Sadece patojen)
4	ET 81+BRTB
5	ET 81+RK103
6	ET 81+BAB140
7	ET 81+TV103B
8	ET 81+TV12H
9	ET 81+ET 4
10	ET 81+ET 14

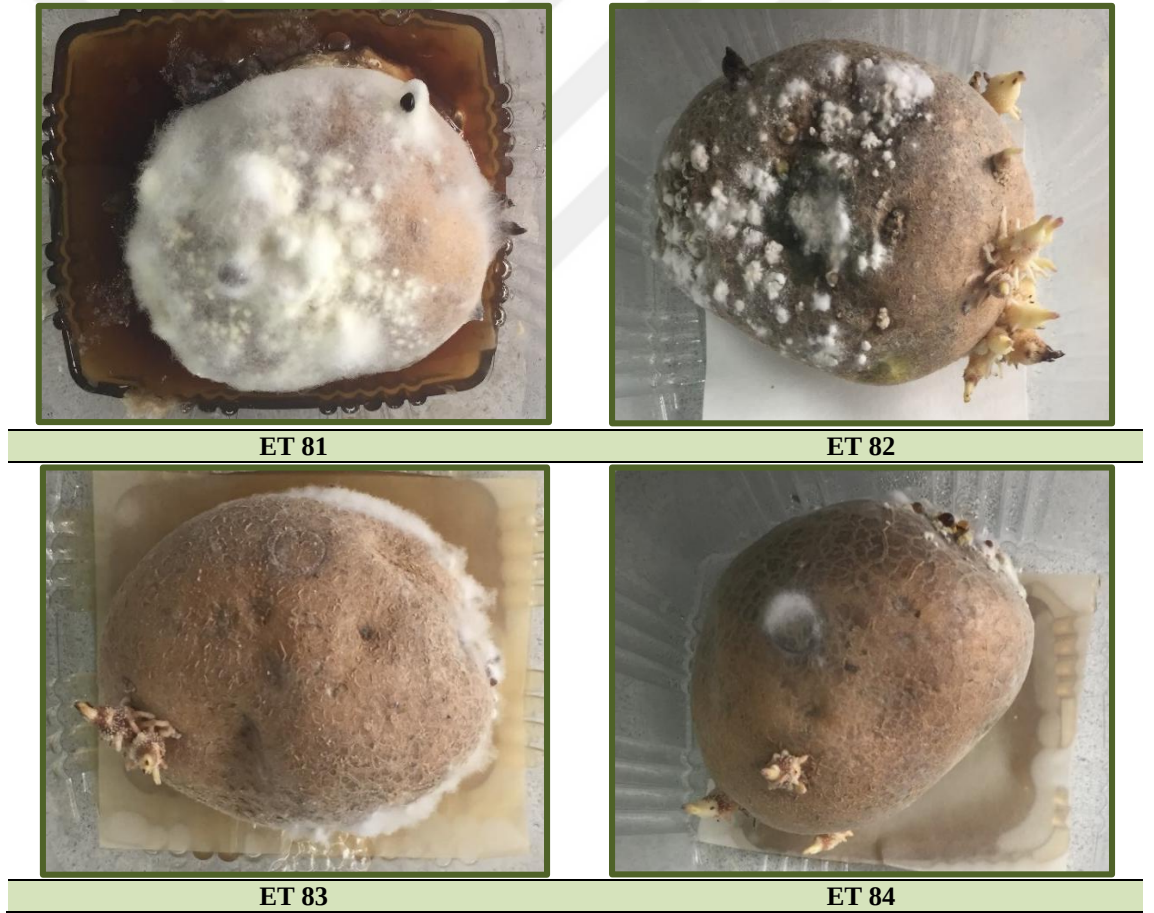
7. Sonuçların analiz edilmesi

Denemeler sonucunda elde edilen değerler JMP istatistik programında varyans analizine (ANOVA) göre değerlendirilmiş, uygulamalar arasındaki farklılık “LS Means Differences Student's” çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi

Yapılan patojenite testi sonucunda yumrularda 10. günden itibaren kuru çürüklük görülmeye başlanmıştır. Patojenite sonuçları yumrularda meydana gelen çürüklüğe göre değerlendirilmiş, ET 81 patojen izolatının 15 gün sonra yumruları tamamen çürüttüğü ve oldukça virülent olduğu görülmüştür (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Patojenite testi sonucu hastalık etmeninden etkilenmiş yumruların görüntüsü (Orijinal)

4.2. Patojen Fungusun Tanılanması

4.2.1. *Fusarium oxysporum*'un ET 81 izolatının morfolojik tanısı

Fungus kolonileri makroskobik ve mikroskobik özellikleri dikkate alınarak morfolojik olarak tanılanmıştır.

4.2.1.a. *Fusarium oxysporum*'un ET 81 izolatının makroskobik özellikleri

F. oxysporum kolonileri 25°C’de PDA’da 10 günde 8 cm çapa ulaşmaktadır. Miselleri pembemsi beyaz renkte ve pamuksu şekildedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Fusarium oxysporum*'un PDA'da gelişimi (Orijinal)

4.2.1.b. *Fusarium oxysporum*’un ET 81 izolatının mikroskobik özellikleri

Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamında genelde beyazdan pembe-açık mora kadar değişen renkte yuvarlak koloniler oluşturan bu etmenin mikrokonidileri oval veya böbrek şeklinde, genelde tek hücreli olup, makrokonidiler kıvrık, kano şeklinde, 3-5 hücrelidir.

Klamidosporlar tek hücreli olup, tek, çift, kısa zincir veya küme şeklinde oluşabilmektedirler (Leslie and Summerell 2006).



Şekil 4.3. *Fusarium oxysporum*'un (a) mikrokonidi ve makrokonidi, (b) klamidosporları (Erincik 2015)

4.2.2. *Fusarium oxysporum*'un moleküler tanısı

İzolasyonlar sonucu elde edilen patojen fungus izolatının moleküler teşhisi yapılmış ve yapılan tanı sonucunda ET 81 patojen izolatı %99 benzerlikle *Fusarium oxysporum* olarak tanılanmıştır (Çizelge 4.1). ET 81 izolatının sekansı Çizelge 4.1'te, sekans yapısı ise Çizelge 4.2'te verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Fusarium oxysporum*'un ET 81 izolatının moleküler tanısı, benzerlik indeksi ve erişim numarası

İzole edildiği bitki	ITS tanılama sonucu	Tanısı (%)	Erişim numarası*
Patates	<i>Fusarium oxysporum</i>	99	MN796122

*GenBank

Çizelge 4.2. *Fusarium oxysporum*'un ET 81 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5,8S ribosomal RNA, ITS 4, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı

1	AAACCCCTGTGAACATACCACTTGTTGCCTCGGCCGGATCAGCCCGCTCCCGT
54	AAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCT
107	CTGAGTAAAACCATAAAATAAAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT
161	GGCATCGATGAAAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATT
213	CATGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGC
268	ATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCACAGCTTGGTGTGGGACTC
321	CGTTAATTCGCGTTCCTCAATTGATTGGCGGTCACTCACTTCCTACGTAAATA
375	AAGCCCTCGTACGGTAATCCCGGCCACCTGACGATTACCAGTAACTTTCCGCT
428	TTACTACTACAAGATGGAAGCTCGACGTGACCGCCAATCAATTTGAGGAACGC
481	GAATTAACGTTAGCCCCAACACCAAGCTGTGCTTGTGTTGAAATGACGCTC
554	GAACAGGCATGCCCCGCCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATT
608	CATGATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTGCTGCGTTCT
655	TCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTATTTATG
709	GTTTTACTCAAAAGTTACATATAAAACAGAGTTTAGGGTCCTCTGGCGGGCCG
762	TCCCGTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCACGAGGCAACAAGTGGTATGTTAC
816	AGGGTTTG GGATTGTAAAC

4.3. Biyolojik Mücadele Çalışmaları

4.3.1. *In vitro* testler

Daha önce yapılan çalışmalarda farklı patojenlere karşı test edilmiş ve etkililiği belirlenmiş olan 17 bakteri straini ve 2 fungal izolat bu çalışmada da *F. oxysporum*'un ET 81 izolatına karşı *in vitro* şartlarda test edilmiştir. Test sonuçları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4'da verilmiştir.

Çizelge 4.3. *In vitro* petri denemelerinde *Fusarium oxysporum* ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin etkililiği

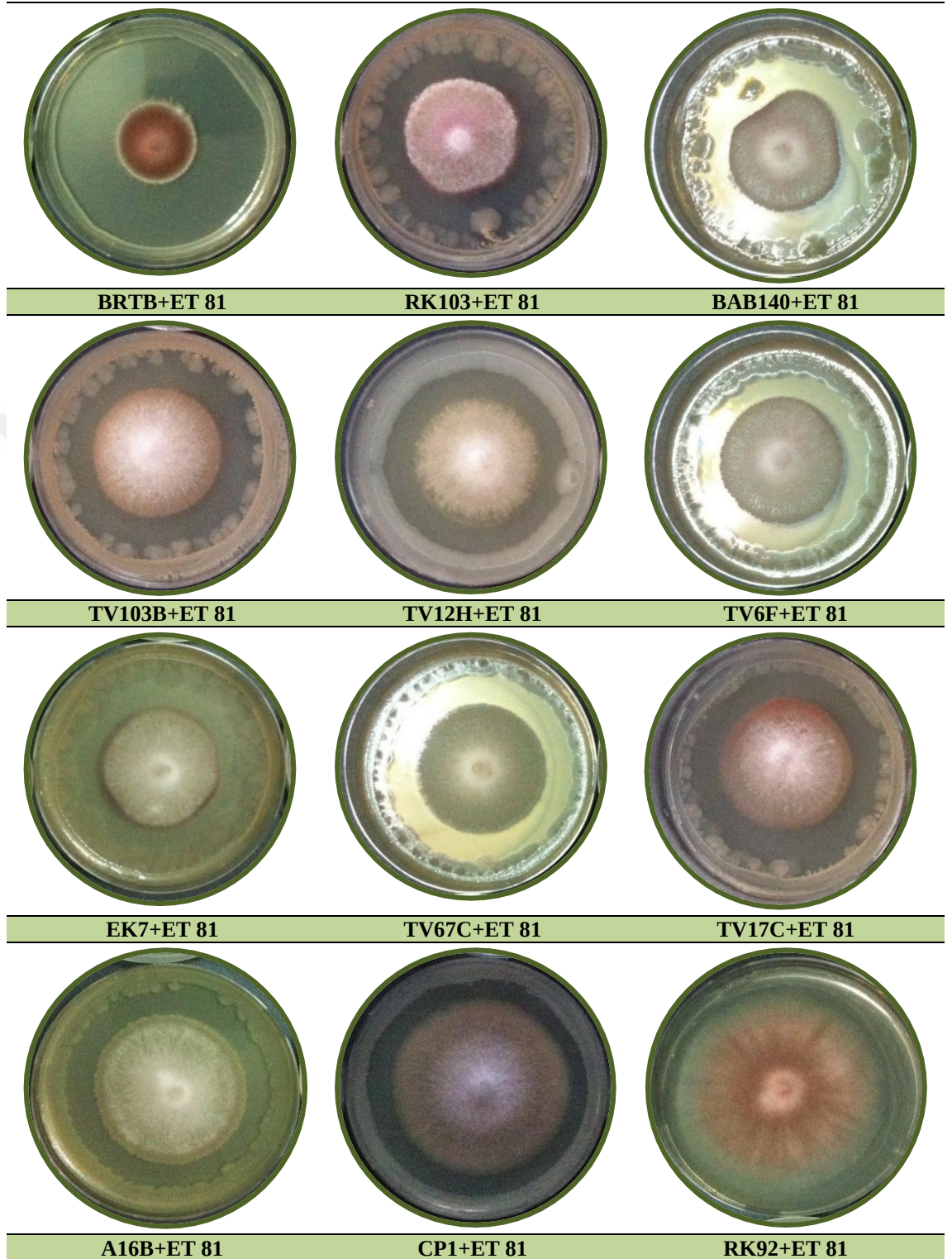
İzolat no	Yüzde engelleme*	Engelleme zonu (mm)
BRTB	66,22 A	23,00 A
RK103	50,90 B	12,00 B
BAB140	50,00 BC	10,33 BC
TV103B	49,10 BC	10,33 BC
TV12H	48,65 BC	9,33 CD
TV6F	48,20 BC	7,00 EF

Çizelge 4.3. (devam)

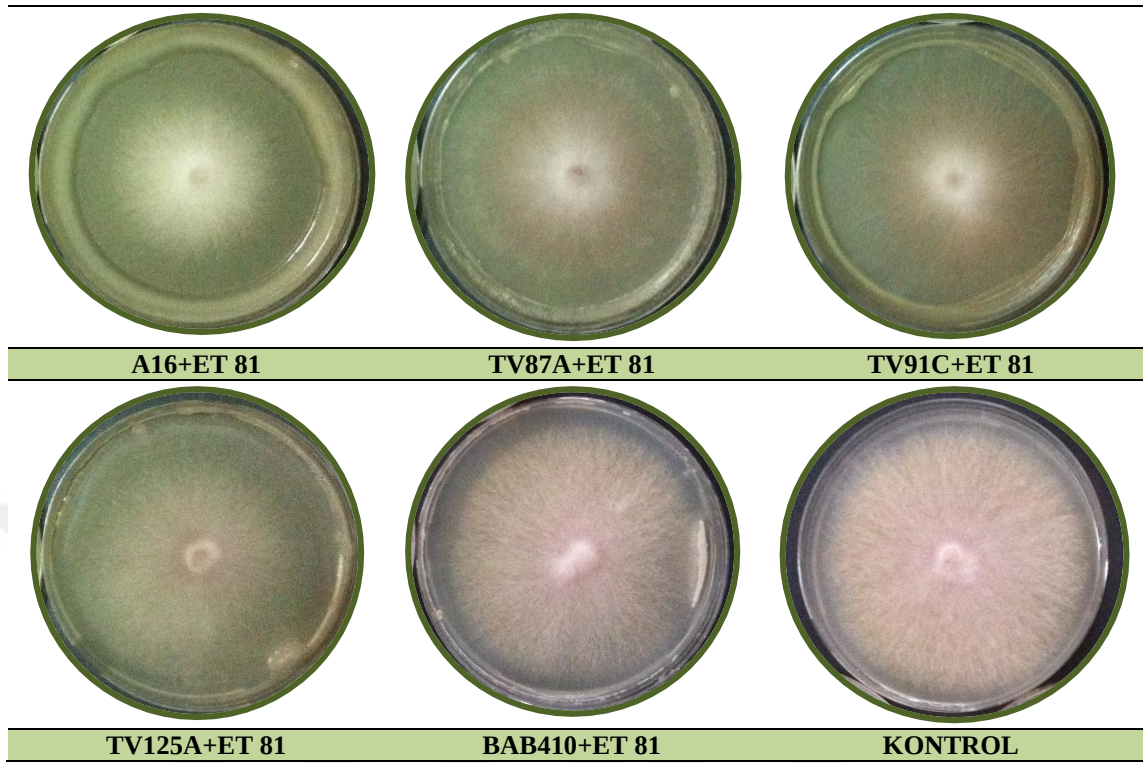
EK7	47,75 C	7,33 DE
TV67C	47,30 C	7,33 DE
TV17C	43,92 D	8,00 DE
A16B	36,94 E	7,00 EF
CP1	25,23 F	5,00 FG
RK 92	14,86 G	3,33 G
A16	14,41 G	0,00 H
TV87A	7,66 H	0,00 H
TV91C	0,90 I	0,00 H
TV125A	0,90 I	0,00 H
BAB410	0,00 I	0,00 H
ET 81	0,00 I	0,00
LSD	3.02	2.12
CV	5.92	20.97

* Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0.01).

Biyoojan bakteri strainlerinin yüzde engelleme oranlarında en iyi sonucu BRTB straini (%66,22) vermiş, bunu sırasıyla RK103 (%50,90), BAB140 (%50,00), TV103B (%49,10), TV12H (%48,65) ve TV6F (%48,20) takip etmiştir. EK7 (%47,75) ve TV67C (%47,30) istatistiki olarak aynı grupta yer alırken TV17C (%43,92), A16B (%36,94), CP1 (%25,23) strainleri farklı, RK92 (%14,86) ile A16 (%14,41) ise aynı istatistiki grupta yer almışlardır. TV87A (%7,66) düşük yüzde engelleme gösterirken, TV91C (%0,90) ve TV125A (%0,90), BAB410 (%0,00) ve sadece ET 81'in bulunduğu kontrol (%0,00) uygulaması aynı grupta yer almışlardır. (Çizelge 4.5, Şekil 4.6).



Şekil 4.4. In vitro petri denemelerinde *Fusarium oxysporum* ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin etkinlikleri (devam)



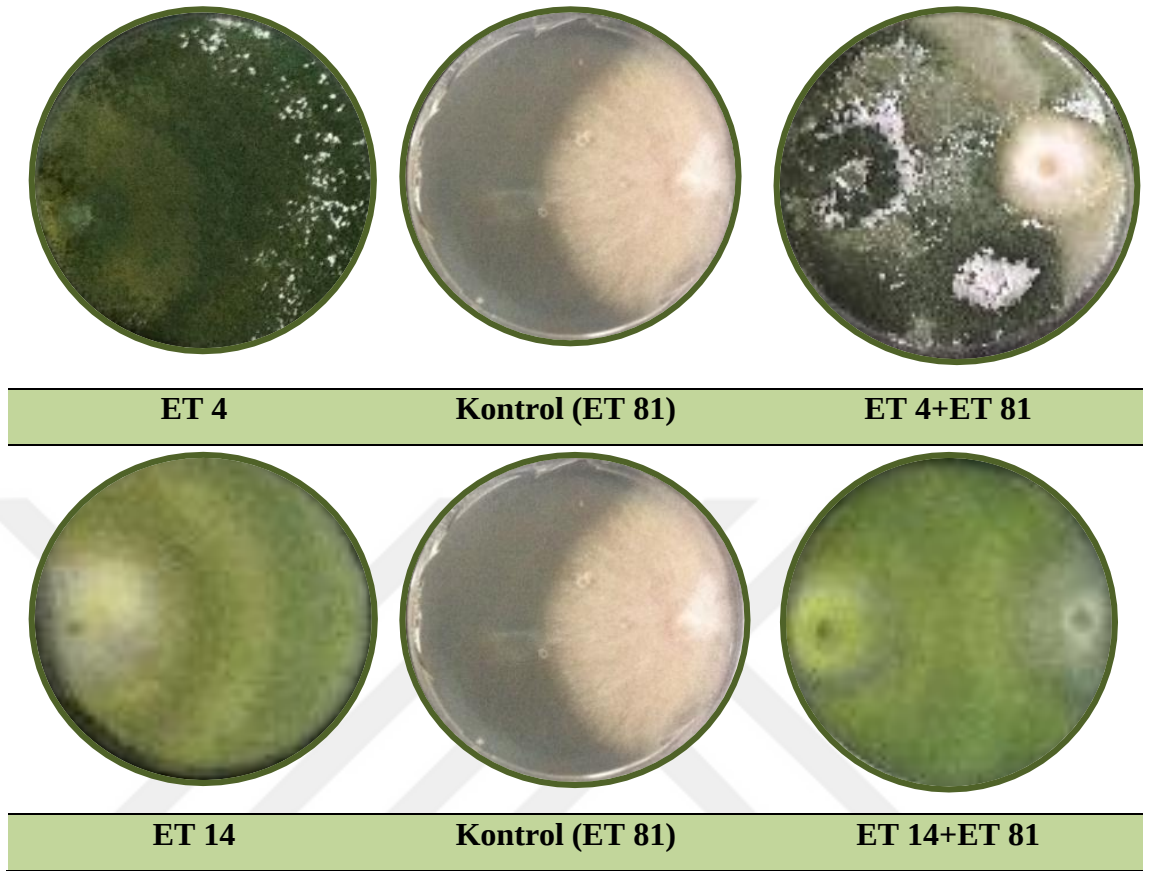
Şekil 4.4. *In vitro* petri denemelerinde *Fusarium oxysporum* ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan bakteri strainlerinin etkinlikleri

Çizelge 4.4. *In vitro* petri denemelerinde *Fusarium oxysporum* ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungal izolatların hiperparazitik etkileri

Uygulama	YEO (%)*	HS
ET 4	66.66	+++
ET 14	63.88	+++

*Yüzde Engelleme Oranı (%), HS: Hiperparazitik seviye, +: Az, ++: Orta, +++: Yüksek, ++++: Çok yüksek, -: Etkisiz

Yapılan çalışmada test edilen fungal biyoajanların hiperparazitik etkilerinin ET 4’de %66.66, ET 14’de ise %63.88 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.7).



Şekil 4.5. *In vitro* petri denemelerinde *Fusarium oxysporum* ET 81 patojenine karşı test edilen potansiyel biyoajan fungus izolatlarının etkinlikleri

In vitro şartlarda etkiliği en fazla olan ümitvar biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan bakteri strainleri ve fungus izolatlarının *in vivo* testleri sonucunda oluşturdukları belirtiler değerlendirilmiş ve Çizelge 4.5 ile Şekil 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Uygulamaların patates bitkisinde kuru çürüklük hastalık şiddeti üzerine etkisi

Uygulamalar	Hastalık şiddeti*
KONTROL 1 (Sadece NB)	0.00 A
KONTROL 2 (Sadece steril dH ₂ O)	0.00 A
KONTROL 3 (Sadece patojen ET 81)	4.00 D
ET 81+BRTB	0.00 A
ET 81+ET 4	3.13 B
ET 81+RK103	3.30 BC
ET 81+BAB140	3.47 C
ET 81+TV103B	3.57 C
ET81+ET14	3.57 C
ET 81+TV12H	3.93 D
CV:	6.59
LSD:	0.28

*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0.01).

Uygulamaların patates bitkisindeki kuru çürüklük hastalık şiddeti üzerine etkisi değerlendirildiğinde, sadece taşıyıcı NB'nin uygulandığı kontrol 1 (0.00), sadece steril dH₂O'nin uygulandığı kontrol 2 (0.00) ve patojen fungus izolatı ET 81 ile biyoajan bakteri straini BRTB (0.00)'nin uygulandığı bitkilerde hastalık görülmemiştir. Diğer uygulamalarda ise az veya çok oranda hastalığın meydana geldiği belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Hastalığı tamamen engelleyen BRTB bakteri straini ve kontrollerin görünümü



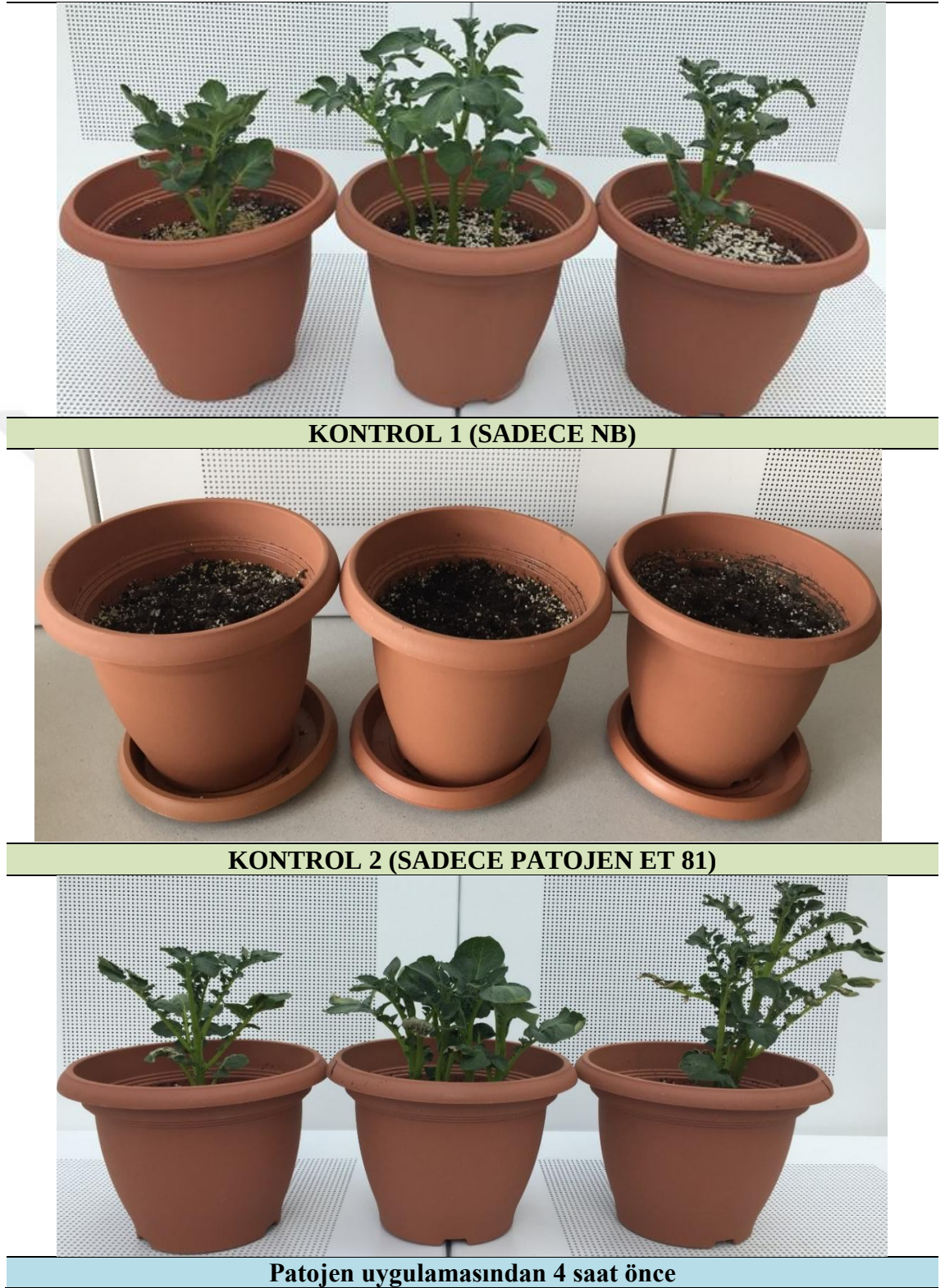
Şekil 4.6. Hastalığı tamamen engelleyen BRTB bakteri straini ve kontrollerin görünümü (devam)

Saksı denemeleri sonucunda etkili bulunan BRTB bakteri straininin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla yapılan *in vivo* deneme sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. BRTB bakteri straininin uygulama zamanının hastalık şiddeti üzerine etkisi

Uygulamalar	Hastalık şiddeti*
KONTROL 1 (Sadece NB)	0.00 A
KONTROL 2 (Sadece patojen ET 81)	4.00 B
ET 81+BRTB	Patojen uygulamasından 4 saat önce 0.00 A
	Patojen uygulaması ile aynı anda 0.33 A
	Patojen uygulamasından 4 saat sonra 4.00 B
CV	16.97
LSD	0.43

*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ($p < 0.01$).



Şekil 4.7. BRTB bakteri straininin uygulama zamanının hastalık şiddeti üzerine etkisi



Patojen uygulaması ile aynı anda



Patojen uygulamasından 4 saat sonra

Şekil 4.7. BRTB bakteri straininin uygulama zamanının hastalık şiddeti üzerine etkisi (devam)

Yapılan çalışmada patojen izolat ET 81 uygulamasından 4 saat önce biyoajan bakteri straini BRTB uygulandığında, bitkilerde kuru çürüklük hastalığı simptomsu görülmemiştir (0.00) (Çizelge 4.6). Patojen izolat ile biyoajan uygulamasının yapıldığı bitkilerde hastalık şiddetinin az oranda olduğu belirlenmiş (0.33) (Çizelge 4.6), bunun yanında patojen izolat uygulandıktan 4 saat sonra biyoajan strain uygulaması yapılan bitkilerde hastalık görülmüştür (4.00) (Çizelge 4.6).

BRTB bakteri straininin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla yapılan *in vivo* denemede uygulama zamanına göre hastalık şiddeti görünümü Şekil 4.9'da verilmiştir.

4.4.1.a. Depo denemesi

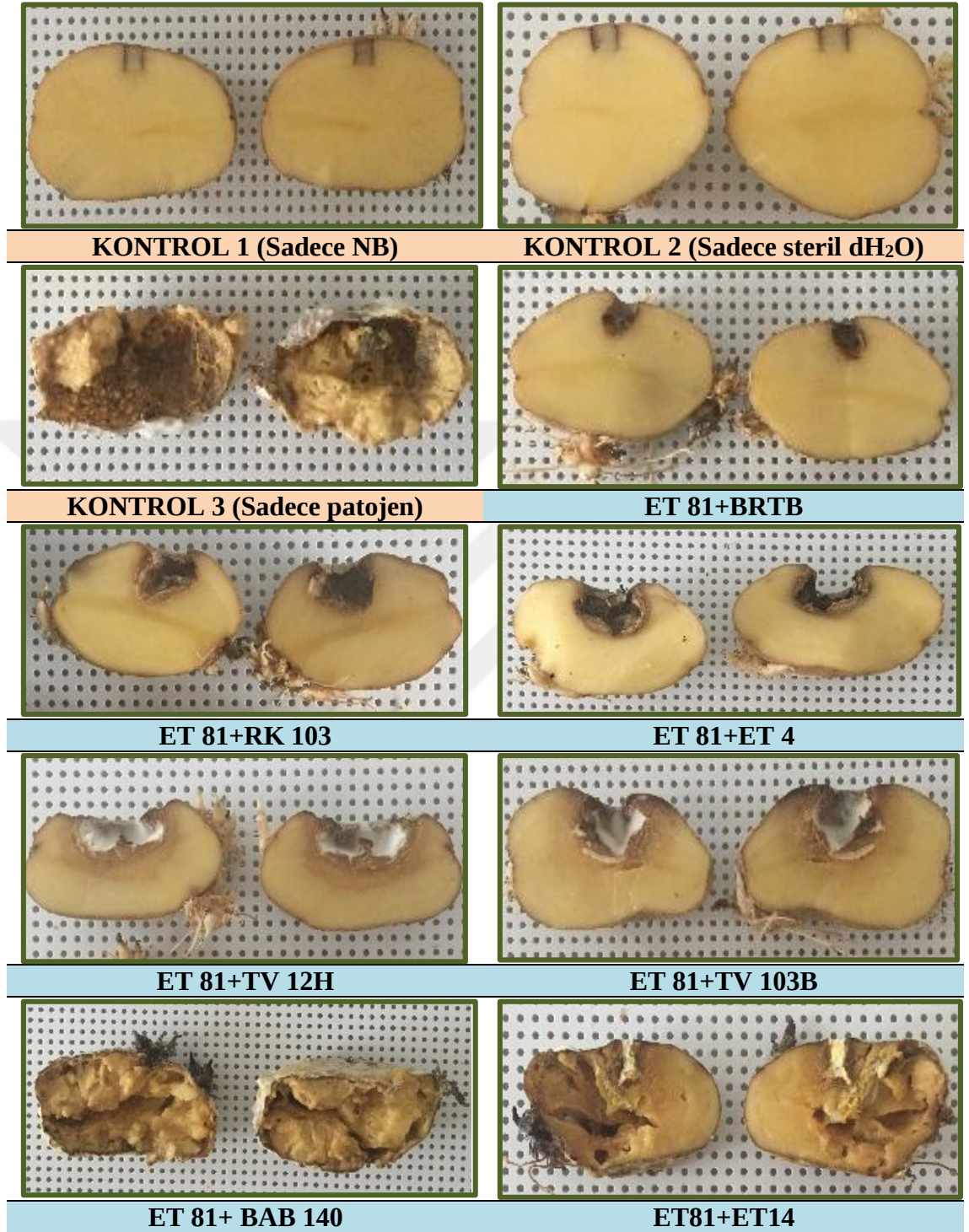
Biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılan fungus izolatları ve bakteri strainlerinin depo denemesi sonucunda yumrulara oluşturdıkları zonlar ölçülmüş istatistik analizleri Çizelge 4.9'da, yumru görüntüleri ise Şekil 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. In vivo depo uygulamalarının patates bitkisindeki hastalık şiddeti

Uygulamalar	Hastalık simptom çapı (cm)*
KONTROL 1 (Sadece NB)	0.00 A
KONTROL 2 (Sadece steril dH ₂ O)	0.00 A
KONTROL 3 (Sadece patojen)	4.00 E
ET 81+BRTB	1.40 B
ET 81+RK103	1.97 C
ET 81+ET 4	3.00 D
ET 81+TV12H	3.90 E
ET 81+TV103B	3.90 E
ET 81+ BAB140	4.00 E
ET81+ET 14	4.00 E
CV:	5.01
LSD:	0.25

*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsiz, farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir (p<0.01).

Depo şartlarında yumrulara kuru çürüklük hastalığına karşı biyoajanların etkililiğinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemede, kontrol 1 (sadece NB (0.00)) ve kontrol 2 (sadece steril dH₂O (0.00)) uygulamalarında yumrulara kuru çürüklük simptomu meydana gelmemiştir (Çizelge 4.7). Biyoajan bakteri strainleri ve fungus izolatları ile birlikte patojen uygulaması yapılan yumrulara da az veya çok oranda hastalık görülmüştür (Çizelge 4.7).



Şekil 4.8. Uygulama yapılan yumrularda kuru çürüklük görüntüleri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan bu çalışmada, patates yumrularında kuru çürüklük hastalığı belirtisi gösteren örneklerden izolasyon yapılmış, klasik ve moleküler tanı yöntemleri kullanarak *F. oxysporum* olduğu belirlenmiştir. Bu hastalık etmenine karşı biyolojik mücadelede bakteri ve fungusların kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla 2 adet *P. agglomerans* (BRTB ve RK 92), 2 adet *B. pumilus* (RK103 ve TV67C), 7 adet *B. subtilis* (BAB140, TV12H, TV6F, EK7, TV17C, CP1 ve TV125A), 3 adet *B. megaterium* (TV103B, TV87A ve TV91C), 1 adet *Ochrobactrum anthropi* (A16B), 1 adet *Agrobacterium radiobacter* (A 16) ve 1 adet *B. thuringiensis* subsp. *kurstakii* (BAB410) olmak üzere 17 biyoajan bakteri straini ve 2 adet *T. harzianum*’a ait (ET 4 ve ET 14) biyoajan fungus izolatu test edilmiştir. *In vitro* şartlarda en yüksek etkililiği *P. agglomerans*’ın BRTB straininin (%66.22) gösterdiği tespit edilmiştir. En etkili 5 strainin *in vivo* denemelerde etkililiğinin test edilmesi sonucunda BRTB’nin yine en etkili strain olduğu belirlenmiş, bu strainin uygulama zamanının belirlenmesi amacıyla kurulan denemede ise patojen uygulamasından 4 saat önce BRTB uygulaması yapılan yumrulara hastalık görülmemiştir. Depo şartlarında *in vitro* çalışmalarda en iyi sonucu veren *P. agglomerans* (BRTB), *B. pumilus* (RK103), *B. subtilis* (BAB140), *B. megaterium* (TV103B), *B. subtilis* (TV12H) bakteriyel strainlerin ve *T. harzianum* (ET 4 ve ET 14) fungal izolatlarının uygulanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla kurulan denemede ise yine BRTB bakteri straininin diğer uygulamalara göre en etkili sonuç verdiği belirlenmiştir.

Hastalık etmenleri ile mücadelede kullanılan kimyasalların çevreye ve insan sağlığına verdiği zarar, araştırmacıları çevre dostu mücadele yöntemleri üzerinde çalışma yapmaya yönlendirmiştir. Son zamanlarda patatest kuru çürüklük hastalığı birçok çiftçi tarafından şikayet konusu olmuş ve önemli verim kaybı meydana getirdiği belirtilmiştir. Fungal etmenlerle mücadelede çevre dostu olan biyolojik mücadele yönteminin uygulanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan literatür taramalarında *T. harzianum*’un en fazla kullanılan ümitvar fungal biyoajan olduğu görülmüştür (Inbar *et al.* 1996; Grondona *et al.* 1997; Elad 2000; Sallam *et al.* 2008; Figueirêdo *et al.* 2010;

Asran-Amal *et al.* 2010; Sharma 2011; Agarwal *et al.* 2011; Sundaramoorthy and Balabaskar 2013; Ali and Nadarajah 2014; Altınok ve Erdoğan 2015; Parmar *et al.* 2015; Valenzuela *et al.* 2015; Akrami 2015; Basumataray *et al.* 2015; Bae *et al.* 2016; Barari 2016; Saravanakumar *et al.* 2016). Bu nedenle *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının hem *in vitro* hem de *in vivo* şartlarda *F. oxysporum*'a karşı etkililiği belirlenmeye çalışılmıştır.

Ommati and Zaker (2012), beş *Trichoderma* türüne ait sekiz izolattan *T. asperellum* (T2) ve *T. atroviride* (T3)'nin izolatlarının laboratuvar ve sera koşullarında patates solgunluğu patojenine karşı uygun performans gösterdiğini, ancak bu izolatların tarla şartlarında da değerlendirilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. *T. harzianum*, *T. viride* ve *T. virens* türlerinin *in vitro* ve *in vivo* şartlarda *F. oxysporum* f. sp. *tuberosi*'se karşı antagonistik potansiyellerinin değerlendirildiği bir çalışmada, Fusarium hiflerinin etrafının biyoajan fungus izolatları tarafından sarıldığı, penetrasyon yapıldığı ve ardından da konukçu sitoplazmasının çözüldüğü tespit edilmiştir (Ayed *et al.* 2006).

T. harzianum'un ET 4 ve ET 14 izolatlarının daha önce yapılan çalışmalarda patates (%13.87; %49.33), biber (%33.33; %45.00) ve hıyardan (%0;%39.99) izole edilen *F. oxysporum*'un, hıyardan (%30.55; %79.04) izole edilen *S. sclerotiorum*'un, domates (%10.25; %18.33) ve hıyardan (%3.33; %2.21) izole edilen *F. solani*'nin, havuçtan (%80.24; %29.63) izole edilen *Geotrichum candidum*'un, elma (%28.87; %64.40) ve domatesten (%54.17; %66.63) izole edilen *A. alternata*'nın (Tozlu *et al.* 2017a), çilek (%83.33; %74.44) ve hıyardan (%73.87; %55.85) izole edilen *A. alternata*'nın (Tozlu *et al.* 2017b), domatesten (%60; %48) izole edilen *A. solani*'nin (Çamlıca and Tozlu 2019), karaduttan (%87.23; %83.08), portakaldan (%85.65; %83.33) ve çilekten (%84.31; %76.47) izole edilen *Botrytis cinerea*'nın (Tekiner *et al.* 2018a; 2020) ve portakaldan (%70.47; %61.91) izole edilen *A. alternata*'nın gelişimini farklı oranlarda engellediği kaydedilmiştir. Yapılan bu çalışmanın *in vitro* kısmında *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatları patatesten izole edilen *F. oxysporum*'un gelişimini sırasıyla %66.66 ve %63.88

oranında engellemiştir. Ancak, *in vivo* ve depo denemelerinde sonuçlar çok etkili olmamıştır.

Fusarium solgunluğuna karşı biyolojik mücadelede fungal biyoajanlar kadar bakteriyel biyoajanlar da oldukça önemli bir yere sahiptir (Liu *et al.* 2014) ve hem *in vitro* hem de *in vivo* şartlarda hastalık etmenlerine karşı test edildikleri çok sayıda çalışma mevcuttur.

B. subtilis (Emmert and Handelsman 1999) ve patojenik olmayan *F. oxysporum* izolatları (Benhamou *et al.* 2002) gibi bazı biyokontrol ajanları birçok üründe *Fusarium* solgunluğunu kontrol etmek için başarıyla uygulanmıştır (Liu *et al.* 2014).

F. oxysporum'a karşı bakteriyel biyoajanların etkinliklerinin *in vitro* koşullarda test edildiği bir çalışmada, *B. cereus* biyoajan straininin fungusun gelişimini engellediği, bunu da ekzo- ve endo-kitinaz aktiviteleri olan hidrolitik enzimler üreterek gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Sad *et al.* 2001). Yine farklı çalışmalarda bakterilerin ürettiği antimikrobiyal metabolitlerin hastalık etmenlerinin gelişimini önlemedeki önemi vurgulanmıştır (Linderman *et al.* 1990; Fiddman and Rossall 1993).

Schisler *et al.* (2000), kuru çürüklük etmeni *F. sambucinum*'a karşı biyolojik mücadele ajanlarının etkinliğini belirlemek için gram negatif bakteri strainlerini kullanmışlar, patojen inokulasyonundan sonra *P. fluorescens* (22:T:04) ve *E. cloacae* (11:T:07) strainlerinin %25 ve %17 oranlarında hastalık etmenine karşı etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Bu çalışmada da kuru çürüklük etmenine karşı antifungal etkileri belirlenmeye çalışılan bakteri strainlerinden bazılarının Tekiner *et al.* (2018b) tarafından nardan izole edilen *C. granati*'ye karşı *in vitro* şartlarda etkisi araştırılmış, *B. subtilis*'in TV17C straininin %64.29, TV6F straininin %60.71, *B. cereus*'un TV85D straininin ise %66.67 oranlarda etkili oldukları belirlenmiştir. Yine, Tekiner *et al.* (2020)'in yaptıkları bir çalışmada da test edilen *B. subtilis* (TV6F, TV17C, CP1)'in üç strainini de içeren 9 farklı biyoajan

bakteri straininin etkililiğini *B. cinerea*'nın karadut (ET 59), portakal (ET 62) ve çilekten (ET 63) izole edilen 3 farklı izolatına karşı *in vitro* koşullarda test etmişler, bakteri strainlerinin *B. cinerea*'nın gelişimini %60.11-%95.24 oranlarında engellediğini kaydetmişlerdir. Patateste kuru çürüklük etmeni *F. oxysporum*'a karşı yapılan bu çalışmada ise *in vitro* şartlarda TV6F %48.20, TV17C %43.92 ve CP1 %25.23 oranlarında etkinlik göstermiştir.

Ayrıca, Çamlıca and Tozlu (2019) yaptıkları çalışmada TV12H ve TV17C bakteri strainlerini domateste *A. solani*'ye karşı test etmişler ve *in vitro* şartlarda bakteri strainlerinin sırasıyla %69.00 ve %68.20 oranında patojen izolatın gelişimini engellediğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise aynı biyoajan izolatlarının *F. oxysporum* (ET 81)'un gelişimini *in vitro* şartlarda %48.65 (TV12H) ve %43.92 (TV17C) oranında engellediği tespit edilmiştir.

Bitki hastalıklarının kontrolünde *P. agglomerans* straininin de etkili olduğu yapılan bazı çalışmalarda ortaya konulmuştur (Nunes *et al.* 2001; Janisiewicz and Korsten 2002; Niroshini *et al.* 2004). Ayrıca, türün bazı strainlerinin ticari olarak temin edilebildiği de belirtilmiştir (Ongena *et al.* 2005). *P. agglomerans*'ın topraktan izole edilen Z01 straininin *F. oxysporum*'un kontrolünde etkili olduğu belirtilmiştir (Liu *et al.* 2014).

Yapılan çalışmada *in vitro* ve *in vivo*'da en etkili sonucu veren *P. agglomerans*'ın BRTB straininin daha önce havuçta *G. candidum*'a karşı *in vitro* şartlarda etkililiği test edilmiş, %7.40 oranında hastalığı engellediği belirlenmiştir (Tozlu 2016). Yapılan bir diğer çalışmada ise, BRTB straini çilekten ve hıyardan izole edilen iki adet *A. alternata* izolatına karşı test edilmiş, *in vitro* şartlarda sırasıyla %64.18-%65.46 oranlarında hastalığın gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Tozlu *et al.* 2018).

Hasat sonrası depolanan ürünlerde de hastalık etmenleri önemli kayıplar meydana getirmektedir. Hasat sonrası hastalıklarla biyolojik mücadele çalışmaları, taze meyve ve sebzenin yüzeyinde doğal olarak bulunan antagonistik mikrofloranın taranması ve

buradan başarılı antagonistlerin elde edilmesini içermektedir. Hasat sonrası hastalıklarla biyolojik mücadelenin, çevresel koşulların kontrol edilebilmesi ve antagonistlerin direk etki yerine uygulanması gibi başarıyı doğrudan etkileyen bazı avantajları bulunmaktadır (Wilson and Wisniewski 1989). Bu hastalık etmenleri arasında *Fusarium* cinsine ait türler de yer almaktadır. Depolarda meydana gelen kayıpların biyolojik mücadele ajanları ile kontrol edilebilirliğini belirlemek amacıyla Sadfi *et al.* (2001) yapmış oldukları bir çalışmada, *F. roseum* var. *sambucinum* etmenine karşı *B. cereus* (X16) straini ve *T. viride* (55T) izolatının etkinliklerini test etmişlerdir. Çalışmada kontrol olarak carbendazim kullanılmış, *B. cereus* (X16) straini ile yapılan uygulamalarda enfeksiyon oranı %23 olarak belirlenmiştir. Fungusit ile uygulama yapılan patates yumrularında ise kuru çürüklük hastalığının %5'ten az oranda görüldüğü tespit edilmiştir. Ayrıca, + 4°C'de 8 aylık soğuk depolamanın ardından, bakteriyel antagonistler ve *T. viride*'nin birlikte (X16 + 55T) uygulandığı yumrulara kontrole oranla hastalığın önemli ölçüde azaldığı da kaydedilmiştir. Yapılan bu çalışmanın *in vitro* aşamasında da 1 adet *B. cereus* (EK7) straini kullanılmış, fakat çok etkili olmadığı için *in vivo* aşamasına aktarılmamıştır.

Kotan *et.al.* (2009) yapmış oldukları çalışmada, Agria ve Granola çeşidi patates yumruları üzerinde *F. sambucinum*, *F. oxysporum* ve *F. culmorum*'a karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda *Bacillus amyloliquefaciens* (M47), *B. atrophaeus* (M35), *B. macerans* (M32), *B. pumilus* (M13 ve M38), *B. subtilis* (M16, M19, M34, M48, M58, BA140 ve OSU142), *Burkholderia cepacia* (OSU7 ve PR203), *Flavobacter balastinium* (FB299) ve *Pseudomonas putida* (OSU8 ve Pp12633) olmak üzere toplam 17 biyoajan bakterinin antifungal aktivite etkinliğini belirlemek için test etmişlerdir. Kullanılan bakteri strainlerinden *B. cepacia* (OSU7)'nin en etkili sonuç verdiğini (35.33mm- 47.37 mm inhibisyon zonu) belirlemişlerdir. Ayrıca, bu çalışmanın depo koşullarında patates kuru çürüklüğü etmenleri *F. oxysporum* ve *F. culmorum*'a karşı *B. cepacia*'nın etkili biyokontrol ajanı olarak kullanılma potansiyeli olduğunu gösteren ilk çalışma olduğunu da bildirmişlerdir. Depo şartlarında da kuru çürüklük etmeni *F. oxysporum*'a karşı *B. pumilus*'un iki adet ve *B. subtilis*'in yedi adet straininin de test edildiği bu çalışmada, *P. agglomerans*'ın BRTB straininin *Bacillus* türlerinden daha etkili sonuç verdiğini tespit

edilmiştir. *Fusarium* solgunluklarının dünyanın farklı bölgelerinde farklı olabileceği, yani belirli bir bölgedeki belirli bir patojene karşı oldukça antagonistik olan bir türün, başka bir bölgedeki aynı patojene karşı zayıf reaksiyon gösterebileceği, bunun da çeşitli tarımsal koşullardaki farklılıklardan kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir (Ashrafizadeh *et al.* 2002; Hajieghrari *et al.* 2008; Otadoh *et al.* 2011).

Lastochkina *et al.* (2019), endofitik bakteri olan *B. subtilis* (10-4 ve 26D) ve salisilik asitin (SA) depolama sırasında patates yumrularının *P. infestans* ve *F. oxysporum*'a karşı direnci üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. *B. subtilis*'in depolama sırasında patates hastalıkları üzerinde baskılayıcı etki yaptığını ve bu etkinin hem tek hem de SA ile kombinasyon halinde doza bağlı bir şekilde gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır. Hem *P. infestans*'in hem de *F. oxysporum*'un baskılanması için en etkili *B. subtilis* konsantrasyonlarını ise 10^8 CFU /mL (10-4 ve 26D), 10^7 CFU /mL (10-4 + SA) ve 10^6 CFU /mL'dir (26D+SA) olarak bildirmişlerdir. Ayrıca, *B. subtilis*'in (10-4, 26D) depolanmadan hemen önce uygulandığında iç yumru köklerinin dokularına etkili bir şekilde nüfuz ettiğini ve koloni oluşturduğunu, SA'nın ise bu işlemleri hızlandırdığını tespit etmişlerdir. *B. subtilis*'in tek başına ve SA ile kombinasyonlarında askorbik asit içeriğini arttırdığını ve yumrulara patojen kaynaklı prolin birikimini ve lipit peroksidasyonunu azalttığını da kaydetmişlerdir.

Bu çalışmada da hasat sonrası kuru çürüklük etmeni üzerinde etkililiği araştırılan *B. subtilis* (TV6F, TV12H, TV17C), *B. pumilus* (RK103), *B. cereus* (EK7), *B. megaterium* (TV103B) ve *A. radiobacter* (A16) türlerine ait bakteri strainleri daha önce yapılan bir çalışmada turunçgillerde *Penicillium digitatum*'un neden olduğu hasat sonrası çürümenin kontrolünde test edilmiş, *B. subtilis* ve *A. radiobacter* strainlerinin turunçgillerde patojene karşı antifungal aktivite gösterdiği ve hastalık şiddetini önemli ölçüde azalttığı kaydedilmiştir (Mohammadi *et al.* 2017).

Çalışmada depo denemesinde de test edilen bakteri strainlerinin etkinliği Tozlu *et al.* (2019) tarafından mandalinada meyvelerin depolanması sırasında hastalık oluşturan *A.*

alternata, *S. sclerotiorum*, *P. ultimum*, *P. digitatum* ve *P. italicum*'a karşı araştırılmış, *P. flourescens* (RK1105), *Agrobacterium rubi* (RK33) ve *B. subtilis* (TV6F, TV17C)'in depo koşullarında çok etkili sonuç verdiği belirtilmiştir.

Sonuç olarak, biyoajan olarak kullanılabilirliği belirlenen bakteri strainleri ve fungus izolatlarının farklı hastalık etmenlerini de kontrol edebilmesi önemlerini artırmaktadır. Ayrıca, çalışmada kullanılan ve farklı etmenlere karşı da etkili olduğu daha önce yapılan çalışmalarda belirlenmiş olan BRTB bakteri straininin de patates yetiştiriciliğinde, kuru çürüklük hastalığının kontrolünde biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır. Yapılan çalışmada özellikle dikim öncesi uygulamaların daha başarılı sonuç verdiği de tespit edilmiş, bu biyoajanın depolarda da kuru çürüklük hastalık şiddetini azaltabileceği belirlenmiştir. Elde edilen veriler ışığında, bundan sonra yapılacak çalışmalarda, *F. oxysporum*'u kontrol eden *P. agglomerans*'ın BRTB bakteri straininin arazi koşullarında uygulanılabilirliğinin ortaya konulması ve bölgede yetiştirilen diğer kültür ve yabani bitkilerle olan ilişkilerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

- Abed, M.M. and Demirhan, B., 2018. Patates Bitkisine (*Solanum tuberosum* L.) Genel Bir Bakış. International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 1(1): 1-9.
- Agarwal, T., Malhotra, A., Biyani, M. and Trivedi, P.C., 2011. *In vitro* interaction of *Trichoderma* isolates against *Aspergillus niger*, *Chaetomium* sp. and *Penicillium* sp. Ind J Fundam Appl Life Sci, 1(3):125-128.
- Agrios, G. N., 1988. Plant Pathology, 3th edition, 803 p.
- Agrios, G. N., 1997. Vascular wilts caused by Ascomycetes and imperfect fungi. Plant Pathology, 4th edition, 342-346 p.
- Akrami, M., 2015. Effects of *Trichoderma* spp. in Bio-controlling *Fusarium solani* and *F. oxysporum* of Cucumber (*Cucumis sativus*). Journal of Applied Environmental and Biological Sciences, 4 (3): 241-245 p.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P., Steinberg, C., 1993. Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts. Pestic. Sci., 37, 365 – 373.
- Ali, H. and Nadarajah, K. 2014. Evaluating the efficacy of *Trichoderma* spp and *Bacillus subtilis* as biocontrol agents against *Magnaporthe grisea* in rice. Australian J. Crop. Sci.,8(9): 1324-1335.
- Altınok, H.H. and Erdoğan, O., 2015. Determination of the In vitro Effect of *Trichoderma harzianum* on Phytopathogenic Strains of *Fusarium oxysporum*. Not Bot Horti Agrobo, 43(2):494-500.
- Anonim (2019a) <https://slideplayer.biz.tr/slide/12249067/> (15.06.2019).
- Anonim (2019b) Patates Hastalık ve Zararlılarıyla Mücadele Çiftçi Eğitim Serisi-16., 2016. Eğitim Yayın ve Yayınlar Dairesi Başkanlığı Matbaası, 32-33 s.
- Anonim (2019c) <http://www.ekosolver.com/makale-detay/patatest-fusarium-solgunluukk-rkl> (15.06.2019).
- Anonim (2019d) <http://gentatarim.com/hzbr/patates.html> (15.06.2019).
- Anonim (2019e) <http://tarimsalistatistik.com/tr-TR/Sayfa/patates-hastaliklari-ve-zararlilari> (15.06.2019).
- Anonim(2019f)http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=31082&tipi=17&sube=0 (15.06.2019).
- Ashrafizadeh, A., Etebarian, H. and Zamanizadeh, H., 2002. Evaluation of *Trichoderma* isolates in controlling *Fusarium* wilt of melon. Iranian journal of plant pathology, 41: 39-57.
- Aslan, E. ve Özaktan, H., 2005. Kök Bakterileri Tarafından Konukçu Bitkide Hastalıklara Karşı Sistemik Dayanıklılığın Uyarılması. Anadolu Journal of AARI,15: 84-100 s.
- Asran-Amal, A., Moustafa-Mahmoud, S.M., Sabet, K.K. and El Banna, O.H., 2010. *In vitro* antagonism of cotton seedlings fungi and characterization of chitinase isozyme activities in *Trichoderma harzianum*. Saudi Journal of Biological Sciences, 17, 153–157.

- Attitalla, I. H., Fatehi, J., Levenfors, J. and Brishammar, S. A., 2004. Rapid molecular method for differentiating two special forms (lycopersici and radicis-lycopersici) of *Fusarium oxysporum*. Mycol. Res., 108 (7): 787-794 p.
- Ayed, F., Remadi, M.D., Khiareddine, H.J. and El Mahjoub, M., 2006. Potato Vascular *Fusarium* wilt in Tunisia: Incidence and Biocontrol by *Trichoderma* spp. Plant Pathology Journal, Volume 5 (1): 92-98.
- Bacon, C.W., Porter, J.K. and Norred, W.P., 1996. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. Appl. Environ. Microbiol., 62: 4039-4043.
- Bae, S, J., Mohanta, T.K., Chung, J.Y., Ryu, M., Park, G., Shim, S., Hong, S.B., Seo, H., Bae, D.W., Bae, I., Kim, J.J. and Bae, H., 2016. *Trichoderma* metabolites as biological control agents against Phytophthorapathogens. Biological Control, 92: 128-138.
- Barari, H., 2016. Biocontrol of tomato *Fusarium* wilt by *Trichoderma* species under *in vitro* and *in vivo* conditions. Cercetări Agronomice în Moldova, 49 (1), 91-98.
- Basumatary, M., Dutta, B.K and Singha, D.M. 2015. Some *in vitro* Observations on the Biological Control of *Sclerotium rolfsii*, a Serious Pathogen of Various Agricultural Crop Plants. Journal of Agriculture and Veterinary Science, 8(2), 87-94.
- Beckman, C.H., 1987. The nature of wilt diseases of plants. Advances in Botanical Research.
- Benhamou, N., Garand, C. and Goulet, A., 2002. Ability of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* strain Fo47 to induce resistance against *Pythium ultimum* infection in cucumber. Appl Environ Microbiol, 68:4044–4060.
- Bogale, M., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J. and Steenkamp, E. T., 2007. Species-specific primers for *Fusarium redolens* and PCR-RFLP technique to distinguish among three clades of *Fusarium oxysporum*. FEMS Microbiol Lett, 271: 27-32.
- Bouizgarne, B., Brault, M., Pennarun, A.M., Rona, J.P., Ouhdouch, Y., ElHadrami, I. and Bouteau, F., 2004. Electrophysiological responses to fusaric acid of root hairs from seedlings of date palm susceptible and resistant to *Fusarium oxysporum* f. sp. albedinis. J. Phytopathol. 152: 321-324.
- Bouizgarne, B., El-Maarouf-Bouteau, H., Frankart, C., Reboutier, D., Madiona, K., Pennarun, A.M., Monestiez, M., Trouverie, J., Amiar, Z., Briand, J., Brault, M., Rona, J.P., Ouhdouch, Y., El Hadrami, I. and Bouteau F., 2006. Early physiological responses of *Arabidopsis thaliana* cells to fusaric acid: Toxic and signaling effects. New Phytol, 169: 209-218.
- Bouizgarne, B., El-Maarouf-Bouteau, H., Madiona, K., Biligui, B., Monestiez, M., Pennarun, A.M., Amiar, Z., Rona, J.P., Ouhdouch, Y., El Hadrami, I. and Bouteau, F., 2005. A Putative Role for Fusaric Acid in Biocontrol of the Parasitic Angiosperm *Orobancha ramosa*. MPMI Vol. 19: 550–556.
- Cooke, L., 2014. Controlling Dry Rot in Seed Potatoes. <http://www.dardni.gov.uk/dry-rot-oct2013.pdf>. (15.06.2019)
- Cotxarrera, L., Trillas-Gay, M.I., Steinberg, C. and Alabouvette, C., 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *fusarium* wilt of tomato, Soil Biol. Biochem., 34, 467-476.

- Çakır, E., 2015. Patates Kuru Çürüklük Hastalığı. *Agromedya Dergisi*, 16: 100s. <http://personel.zmmae.gov.tr/Details.aspx?pubID=8418&lang=tr> (15.06.2019)
- Çamlıca, E. and Tozlu, E., 2019. Biological Control of *Alternaria solani* in Tomato Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection 7092-7100.
- 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.
- Çolak A. ve Biçici M., 2011. Doğu Akdeniz bölgesi örtü altı domates yetiştiriciliğinde *Fusarium oxysporum* spesiyal formlarının simptomatolojik ayrımı ile solgunluk ve kök- kök boğazı çürüklüğü hastalıklarının çıkış, şiddet ve yaygınlıklarının belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 51(4): 331.
- Davis, D., 1969. Fusaric acid in selective pathogenicity. *Phytopathology*, 59: 1391-1395.
- Delen, S., 2007. Bazı *Fusarium* Türlerinin Teşhisini Kolaylaştırmaya Yönelik Bilgisayar Programı. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 1 s.
- Elad Y. and Baker, R., 1985. The role competition for iron and carbon in suppression of chlamyospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp., *Phytopathology*, 75:1053-1059.
- Elad, Y. and Kapat, A., 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *EurJ Plant Pathol* 105: 177-189.
- Emmert, E.A.B., Handelsman, J., 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol Lett*, 171:1-9.
- Erdoğan, O., 2015. Pamukta Toprak Kökenli Fungal Patojenlere Karşı *Floresan Pseudomonas*'lar İle Biyolojik Mücadele. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 2(3): 268-275.
- Farley, J., Oakes, G. and Jaberg, C., 1975. A new greenhouse tomato root rot disease caused by *Fusarium oxysporum*. A preliminary report, *Ohio Agr. Res. Dev. Cent. Res*, 82:27-29.
- Fiddman, P. J. and Rossall, S., 1993. The production of antifungal volatiles by *Bacillus subtilis*. *J. App. Bacteriol*, 47: 119-126.
- Figueirêdo, G.S., Figueirêdo, L.C., Cavalcanti, F.C.N., Santos, A.C., Costa, A.F. and Oliveira, N.T., 2010. Biological and Chemical Control of *Sclerotinia sclerotiorum* using *Trichoderma* spp. and *Ulocladium atrum* and Pathogenicity to Bean Plants. *Brazilian Archives Of Biology and Technology*, 53(1), 1-9.
- Gonsalves, A. K. and Ferreira S. A., 1993. *Fusarium oxysporum*. *Crop Knowledge Master*.
- Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M.D., Mateos, P.F., Bridge, P.D., Monte, E. and Garcia-Acha, I., 1997. Physiological and Biochemical Characterization of *Trichoderma harzianum*, a Biological Control Agent against Soilborne Fungal Plant Pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(8), 3189-3198.
- Gündüz H., 1977. Erzurum ve Çevresinden Toplanan Bozuk Patates ve Soğanların Mikrofungus Florası Üzerinde Araştırmaları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8: 2-3.

- Hajieghrari, B., Torabi - giglou, M., Mohamadi, M. R. and Davari, M., 2008. Biological potential of some Iranian *Trichoderma* isolates for control of soil born plant pathogenic fungi. *African Journal of Biotechnology*, 7(8): 967-972.
- Harman G.E., 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathol.* 96: 190-194.
- Hasenekoğlu, İ., 1991. Soil Microfungi (In Turkish). Atatürk University Press. Yayınları. 689(11): 1-7.
- Hjeljord, L.G., Stensvand, A., Tronsmo, A., 2000. Effect of temperature and nutrient stress on the capacity of commercial *Trichoderma* products to control *Botrytis cinerea* and *Mucor piriformis* in greenhouse strawberries, *Biol. Control*, 19, 149-160.
- Howel, C.R., 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the of biological control disease the history and evolution current concepts. *Plant Dis.* 87, 4-10.
- Inbar, J., Menendez, A. and Chet, I., 1996. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. *Soil Biol. Biochem.* 28(6), 757-763.
- İmriz, G., Özdemir, F., Topal, İ., Ercan, B., Taş, M. N., Yakışır, E. ve Okur, O., 2014. Bitkisel Üretimde Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rizobakteri (Pgpr)'ler le Etki Mekanizmaları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 12(2), 1-19.
- Janisiewicz, W.J. and Korsten, L., 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu Rev Phytopathol* 40:411–441.
- John, R.P., Tyagi, R.D., prevost, D., Brar, S.K., Pouler, S. and Surampalli, R.Y., 2010. Mycoparasitic *Trichoderma viride* as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *adzuki* and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection*, 29 (2010), 1452-1459.
- Jones, J.P. and Overman, A.J., 1971. Control of *Fusarium* wilt of tomato with lime and fumigants, *Phytopathology*, 61:1415-1471.
- Katan, T., 2000. Vegetative Compatibility Groups of *Verticillium dahliae* in Israel: Their Distribution and Association with Pathogenicity. *Phytopathology*, 90(5): 536.
- Khalil, I. and Mughrabi, A., 2010. Biological control of *Fusarium* dry rot and other potato tuber diseases using *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter cloacae*. *Biological control*, 53: 280–284.
- Kleifeld, O. and Chet, I., 1992. *Trichoderma harzianum* interaction with plants on effect on growth response. *Plant Soil* 144, 267-272.
- Kloepper, J.W., Leong, J., Teintze, M. and Schroth, M.N., 1980. *Pseudomonas siderophores*: a mechanism explaining disease-suppressive soils. *Curr. Microbiol.*, 4, 317-320.
- Kotan R., Sahin, F. Demirci E., Ozbek A., Eken C. ve Miller, S.A., 1999. Evaluation of antagonistic bacteria for biological control of *Fusarium* dry rot of potato, *Phytopathology* 89, 41.
- Kotan, R., 1998. Biological and chemical control of bacterial leaf spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye.) on pepper and tomato. Master Thesis, Atatürk University, Turkey.
- 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, 217 s.
- Kotan, R., Dikbaş, N. and Bostan, H., 2009. Biological control of post harvest disease caused by *Aspergillus flavus* on stored lemon fruits. *African Journal of Biotechnology*, 8(2):209-214.
- Kotan, R., Sahin, F. and Ala, A., 2005. Identification and pathogenicity of bacteria isolated from pome fruit trees in eastern Anatolia region of Turkey. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113(1), 8-13.
- Kotan, R., Şahin, F., Demirci, E. and Eken, C., 2009. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. *Biological Control*, 50: 194–198.
- Küçük Ç., Kıvanç M., Kınacı E. ve Kınacı G., 2006. *Cladosporium herbarum* ve *Fusarium* sp.'nin Gelişimlerine Bikarbonatların Etkisi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 4(5): 1-2.
- Larkin, R.P., Hopkins, D.L., Martin, F.N., 1993. Effect of successive watermelon planting on *Fusarium oxysporum* and other microorganisms in soil suppressive and conducive to *Fusarium* wilt of watermelon. *Phytopathology*, 83, 1097-1105.
- Lastochkina, O., Baymiev, A., Shayahmetova, A., Garshina, D., Koryakov, I., Shpirnaya, I., Pusenkova, L., Mardanshin, I., Kasnak, C. and Palamutoglu, R., 2019. Effects of Endophytic *Bacillus subtilis* and Salicylic Acid on Postharvest Diseases (*Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*) Development in Stored Potato Tubers. *Plants*, 9(1):76 <https://doi.org/10.3390/plants9010076> (15.06.2019).
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E., 1987. *Methods For the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Black Well Scientific Publication, 157 p, Oxford, USA.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A., 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing, Iowa, USA, Manual 1st ed: 388 p.
- Linderman, R. G., Fernando, D. And Pscheidt, L., 1990. Volatile inhibitors of *Phytophthora* species produced by bacterial biocontrol agents. *Phytopathology*, 80: 1011.
- Liu, W., Chen, Z., Zhang, T., Lu, C., Dong, D., Wu, H. and Zhang, D., 2014. Application of *Pantoea agglomerans* strain Z01 to control *Fusarium* wilt and its effect on the quality parameters of rockets. *Ann Microbiol*, 64(3): 1443-1446.
- 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.
- Miller, A.S., Rowe, C.R. and Riedel, M.R., 1996. *Fusarium* and *Verticillium* wilts of tomato, potato, pepper and eggplant. The Ohio State University Extension Plant Pathology, HGY-3122-96.
- Mohammadi, P., Tozlu, E., Kotan R. and Kotan Ş. M., 2017. Potential of Some Bacteria for Biological Control of Postharvest Citrus Green Mould Caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Protect. Sci*, Vol. 53(3): 134–143.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R.J., 1981. *Fusarium; Disease, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University, University Park and London.

- Niroshini GR, Ikiriwatte CJ, Karunaratne AM (2004) The use of *Pantoea agglomerans* and *Flavobacterium* sp. to control banana pathogens. J Hort Sci Biotechnol 79:1002–1006.
- Nunes C, Usall J, Teixidó N, Vinas I (2001) Biological control of postharvest pear diseases using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2. Int J Food Microbiol 70:53–61.
- Ommati, F., and Zaker, M., 2012. Evaluation of some *Trichoderma* isolates for biological control of potato wilt disease (*Fusarium oxysporum*) under lab. and green house conditions. J. Crop Prot. 2012, 1 (4): 279-286
- Ongena M., Jacques P., Touré Y., Destain J., Jabrane A. and Thonart P. 2005. Involvement of fengycin-type lipopeptides in the multifaceted biocontrol potential of *Bacillus subtilis*. Appl Microbiol Biotechnol 69:29–38.
- Otadoh, J. A., Okoth, S. A., Ochanda, J. and Kahindi, J. P., 2011. Assessment of *Trichoderma* isolates for virulence efficacy on *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli. ropical and subtropical agroecosystems, 13: 99-107.
- Ozbay, N., Newman, S. E. and Brown, W.M., 2004. Evaluation of *Trichoderma harzianum* strains to control crown and root rot of greenhouse fresh market tomatoes. Proc. XXVI IHC- Managing Soil-Borne Pathogens, Ed. A. Vanachter, 635: 79-85.
- Özaktan H., Aysan Y., Yıldız F. ve Kınay P., 2010. Fitopatolojide Biyolojik Mücadele. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1(1): 61-78 s.
- Özer, N. and Soran, H., 1991. *Fusarium* Genus and *Fusarium* Species Isolated From The Cultivated Plants in Turkey. J. Turk. Phytopath., Vol: 20: 2-3, 69-80.
- Parmar, H.J., Hassan, M.M., Bodar, N.P., Umrana, V.V., Patel, S.V. and Lakhani, H.N., 2015. *In Vitro* Antagonism Between Phytopathogenic Fungi *Sclerotium rolfsii* and *Trichoderma* strains. Int J Appl Sci Biotechnol, Vol 3(1): 16-19.
- Rowe, R.C and Farley, J. D., 1978. Control of *Fusarium* crop and root rot of greenhouse tomatoes by inhibiting recolonization of steam – disinfested soil with a captafol drench. Phtopathology, 68:1221-1224.
- Rowe, R.C., 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and roort rot of greenhouse and field-grown tomatoes in North America and Japan. Phytopathology, 70:1143-1148.
- S. Sundaramoorthy, S. and Balabaskar, P., 2013. Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici. Journal of Applied Biology and Biotechnology, Vol. 1 (03), 036-040.
- Sadfi, N., Chérif, M., Fliss, I., Boudabbous, A., Antoum, H., 2001. Evaluation of bacterial isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of *Fusarium* dry rot of potato tubers. Journal of Plant Pathology 83 (2), 101–118.
- Sadfi, N., Chérif, M., Hajlaoui, M.R., Boudabbous, A., 2002. Biological control of the potato tubers dry rot caused by *Fusarium roseum* var. *sambucinum* under greenhouse, field and storage conditions using *Bacillus* spp. isolates. Journal of Phytopathology 150 (11,12), 640–648.
- Saravanakumar, K., MymoonRamjan, M., Suresh, P. and Muthuraj, V., 2016. Fabrication of highly efficient visible light driven Ag/CeO₂ photocatalyst for degradation of

- organic pollutants. Journal of Alloys and Compounds, Volume 664, 15 April 2016, Pages 149-160.
- Scher, F.M., Baker, R., 1980. Mechanism of biological control on *Fusarium*-suppressive soil. *Phytopathology*, 70, 412-417.
- Schisler, D. A. and Slininger, P. J., 1994. Selection and performance of bacterial strains for biologically controlling *Fusarium* dry rot of potatoes incited by *Gibberella pulicaris*. Fermentation Biochemistry Research, USDA-ARS, National Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, IL 61604, USA, *Plant Disease*, 78(3):45, 251-255.
- Schisler, D.A., Slininger, P.J. and Bothast, R.J., 1997. Effects of antagonists cell concentration and two-strain mixtures on biological control of *Fusarium* dry rot of potatoes. *Phytopathology*, 87:177-183.
- Schisler, D. A., Slininger, P.J., Kleinkopf, G., Bothast, R.J. and Ostrowski, R.C., 2000. Biological control of *Fusarium* dry rot of potato tubers under commercial storage conditions. *American Journal of Potato Research*, volume 77, 29-40.
- Sharma, P., 2011. Complexity of *Trichoderma-Fusarium* interaction and manifestation of biological control. *Aust J Crop Sci* 5(8):1027-1038
- Skidmore, A. M. and Dickinson, C.M. 1976. Colony Interactions and Hyphal Interference Between *Sepatoria nodorum* and Phylloplane Fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66: 57 -64.
- Smith, S.N., Snyder, W.C., 1971. Relationship of inoculum density and soil types to severity of *Fusarium* wilt of sweet potato. *Phytopathology*, 61, 1049-1051.
- Sneh, B., 1984. Use of non-pathogenic or hypovirulent fungal strains to protect plants against closely related fungal pathogens. *Biotechnology*, 16(1): 1- 32.
- Taylor, A., 2014. *Fusarium* dry rot of potatoes. Department of Agriculture and Food, <https://www.agric.wa.gov.au/potatoes/fusarium-dry-rot-potatoes> (15.06.2019).
- Tekiner, N., Kotan, R., Tozlu, E. and Dadaşoğlu, F., 2018a. 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, May 10-13 2018, Batumi Georgia, ISBN:978-605-9885-75-1, 97 p.
- Tekiner, N., Kotan, R., Tozlu, E. and Dadaşoğlu, F., 2020. Biological Control of *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* with Bioagent Bacteria and Fungi under in vitro Conditions. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29(1): 640-649.
- Tekiner, N., Tozlu, E., Kotan, R. and Dadaşoğlu, F., 2018b. Biological Control of *Coniella granati* saccardo in Pomegranate. 1st International Conference on Food, Agriculture and Animal Sciences ICOFAAS, 3-7 October 2018, Siirt, 119 p.
- Toyada, H., Hashimoto, H., Utsumi, R., Kobayashi, H. and Ouchi, S., 1988. Detoxification of fusaric acid by a fusaric acid-resistant mutant of *Pseudomonas solanacearum* and its application to biological control of *Fusarium* wilt of tomato. *Phytopathology*, 78: 1307- 1311.
- 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., Dikbaş N. and Kotan, R., 2019. Biological Control of Post harvest Spoil age in Fresh Mandarins (*Citrus Reticulata* Blanco) Fruits Using Bacteria During Storage. *Erwerbs-Obstbau*, 61:157-164.
- Tozlu, E., Tekiner, N. and Kotan, R., 2017a. Screening of *Trichoderma harzianum* Rifai (1969) isolates of domestic plant origin against different fungal plant pathogens for use as biopesticide. ICANAS, 18-21 April, Antalya, Turkey, will be oral presentation.
- Tozlu, E., Tekiner, N. and Kotan, R., 2018. Screening of *Trichoderma harzianum* rifai (1969) Isolates of Domestic Plant Origin Against Different Fungal Plant Pathogens For Use As Biopesticide. *Fresenius Environmental Bulletin*, Volume 27:6/2018 ,4232-4238 p.
- Tozlu, E., Tekiner, N., Kotan, R. and Örtücü, S., 2017b. The investigation of the biological control of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (1912). International Conference on Agriculture, Forest, Food, Sciences and Technologies (ICAFOT), 15-17 May 2017, Cappadocia, TURKEY, 514.
- Turkensteen, L.J., 2005. Potato Diseases, Diseases, pest and defects. Nivap P.O, Box 84102 NL-2508 AC Den Haag The Netherlands.
- Valenzuela, N. L., Angel, D.N., Ortiz, D. T., Rosas. R. A., Garcia Ortiz, C. F., Santos, M. O. 2015. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on Maradol papaya fruit. *Biological Control*, San Diego, v. 91, n. 12, p. 88-93.
- Van den Boogert, P.H.J.F., Luttikholt, A.J.G., 2004. Compatible biological and chemical control systems for *Rhizoctonia solani* in potato. *European Journal of Plant Pathology* 110, 111–118.
- Venter, S. and Steyn, P.J., 1998. Correlation between fusaric acid production and virulence of isolates of *Fusarium oxysporum* that causes potato dry rot in South Africa. *Potato Research*, 41: 289-294.
- Verma M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. and Val'ero, J.R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37:1–20.
- Vinale, F.R, Scala, F., Ghisalberti, E.L., Lorito, M., Sivasithamparam, K. 2006. Major secondary school metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active againsts different Phytopathogens *Lett Appl. Microbiol.* 43, 143-148.
- Wilson, C.L., Wisniewski, M.E., 1992. Future alternatives to synthetic fungicides for the control of postharvest diseases. In: Tjamos, E.S. et al. (Eds.), *Biological Control of Plant Dis.* Plenum Press, NY, pp. 133–138.
- Wollenweber, H.W., 1913. Studies on the *Fusarium* problem. *Phytopathology*, 3(1): 24-50.
- Wu, H., Yin, X., Liu, D., Ling, N., Bao, W., Ying, R., Zhu, Y., Guo, S. and Shen, Q., 2008. Effect of fungal fusaric acid on the root and leaf physiology of watermelon (*Citrullus lanatus*) seedlings. *Plant Soil*, 308: 255-266.
- Yeğen, O., 1987. Fitopatoloji. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No:1.
- Yücel, S., 1989. Domates *Fusarium* Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *Iycopersici* (Sacc.) Synd. and Hans) Karşı Biyolojik Kontrolde Antagonistlerin ve Toprak Solarizasyon Uygulamasının Karşılıklı Etkileşimlerinden Yararlanma

Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Adana Ziraı m¼cadele Araştırma Enstit¼s¼
M¼d¼rl¼ę¼, Araştırma Yayınları Serisi, Yayın No: 64.

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



ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Erzincan Tercan'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Tercan'da tamamladı. 2012 yılında Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne kayıt yaptırdı. 2016 yılında aynı Fakültenin Bitki Koruma bölümü'nden mezun oldu. 2017 yılında Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen lisansüstü eğitimine devam etmektedir.

