KAPYA BİBERDE *Fusarium proliferatum*
(Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg, (1976)
İLE BİYOLOJİK MÜCADELE
İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI

Enes ŞAHİNOĞLU

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

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAPYA BİBERDE *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg, (1976) İLE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI

Enes ŞAHİNOĞLU

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
Fitopatoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2019

Her Hakkı Saklıdır

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAY FORMU

KAPYA BİBERDE
***Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg, (1976) İLE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI**

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

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

Üye : Doç. Dr. Elif TOZLU *İmza :*

Üye : Doç. Dr. Serkan ÖRTÜCÜ *İmza :*

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 26.../09.../2019... tarih ve ..38../..80..... 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

KAPYA BİBERDE *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg, (1976) İLE BİYOLOJİK MÜCADELE İMKÂNLARININ ARAŞTIRILMASI

Enes ŞAHİNOĞLU

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

Danışman: Doç. Dr. Elif TOZLU

Hastalık etmenlerinin mücadelesinde kullanılan kimyasallar fitotoksite, kalıntı, çevre kirliliği ve insan sağlığına zararlı etkileri nedeniyle problem oluşturmaktadırlar. Son yıllarda çevre ve insan sağlığı bilincinin gelişmesi ile bitkisel ürünlerde kalıntı sorunu yaratan bitki koruma ürünlerine alternatif arayışından dolayı, çevre dostu preparatların kullanımında artış görülmektedir. Bu çalışmada da ülkemiz ve dünyada önemli bir bitki olan Solanacae (Patlıcangiller) familyasından biberde, toprak kökenli kök çürüklüğü (çökerten) hastalığı etmeni *Fusarium proliferatum*'a karşı biyolojik mücadele ajanı olabilecek bakteri strainleri ve fungus izolatlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Yapılan sürvey çalışmalarında hastalıklı biber meyvelerinden 4 adet *F. prolifetarum* izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlara Koch postülatı metodu uygulanarak en virülant olan izolat belirlenmiş ve çalışmanın diğer aşamalarında bu izolat kullanılmıştır. Biyoajan olarak ise, daha önce yürütülen çalışmalarda; ülkemizde farklı coğrafik alanlardan çeşitli yabani ve kültür bitkilerinin kök rizosfer ve toprak üstü kısımlarından izole edilerek Mikrobiyal Tanı Sistemi (MIS)'ne göre tanılanmış olan 52 adet bakteri straini ile daha önce yapılan çalışmalarda etkililiği farklı bitki patojenlerine test edilerek başarılı sonuç alınmış ve moleküler yöntemlerle tanısı yapılmış olan *Tricoderma harzianum* türüne ait toplam 2 fungus izolatı kullanılmıştır. Çalışma *in vitro* ve *in vivo* şartlarda olmak üzere iki farklı aşamada yürütülmüştür. *In vitro* şartlarda ikili kültür testlerin de kullanılan toplam 52 bakteri strainiden en etkili olan 5'i *in vivo* şartlarda test edilmiş ve 3'ü başarılı sonuç vermiştir. 2 fungal izolatın ise hem *in vitro* hem de *in vivo* şartlarda etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın *in vivo* aşaması etkili olduğu belirlenen bu 5 bakteri straini ve 2 fungal izolat kullanılarak yapılmıştır. *In vivo* denemeleri 3'er tekerrürlü ve her saksıda 1 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Sonuç olarak kapya biberde önemli kayıplara neden olan *F. proliferatum*'un mücadelesinde biyokontrol ajanı olarak *Bacillus subtilis, Pseudomonas chlororaphis*, ve *Bacillus* sp. ile *T. harzianum* türlerinin kullanılabileceği belirlenmiştir.

2019, 65 sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyoajan bakteri, Biyoajan fungus, Biyolojik Mücadele, *Fusarium proliferatum,* Kapya biber, Kök çürüklüğü.

ABSTRACT

Master Thesis

AN INVESTIGATION OF BIOLOGICAL CONTROL POSSIBILITIES against *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg, (1976) on CONIC RED PEPPER

Enes ŞAHİNOĞLU

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Elif TOZLU

The chemicals used in the fight against disease factors are a problem due to phytotoxicity, residues, environmental pollution and harmful effects on human health. In recent years, the use of environmentally friendly preparations has increased due to the development of environmental and human health awareness and the search for alternatives to plant protection products that cause residual problems in plant products. In this study, it was aimed to determine the bacterial strains and fungus isolates which could be the biological control agent against *Fusarium proliferatum* which is a root rot (collapsing) disease in pepper from Solanacae (Eggplant) family which is an important plant in our country and in the world. In the survey studies, 4 *F. prolifetarum* isolates were obtained from diseased pepper fruits. The most virulent isolate was determined by applying Koch postulate method to these isolates and this isolate was used in the other stages of the study. As a bioagent, in previous studies; 52 bacteria strains isolated from the root rhizosphere and aboveground parts of various wild and cultivated plants from different geographical areas in our country were identified according to the Microbial Identification System (MIS). A total of 2 fungi isolates of *Tricoderma harzianum* were used. The study was carried out in two different stages, *in vitro* and *in vivo*. Of the 52 bacterial strains used *in vitro* in dual culture tests, the 5 most effective strains were tested *in vivo* and 3 yielded successful results. 2 fungal isolates were found to be effective in both *in vitro* and *in vivo* conditions. The *in vivo* stage of the study was carried out using 5 bacterial strains and 2 fungal isolates which were found to be effective. *In vivo* experiments were performed with 3 replications and 1 plant per pot. At the end of the study, it was observed that 3 bacteria strains and 2 fungi isolates are effective in the treatment of *F. proliferatum* under *in vivo* conditions. As a result, it was determined that *Bacillus subtilis, Pseudomonas chlororaphis, Bacillus* sp. and *T. harzianum* can be used as biological control agent in the control of *F. proliferatum* which causing diseases on peppers

2019, 65 pages

Keywords: Bioagent bacteria, Biological control, Bioagent fungi, *Fusarium proliferatum*, Kapya pepper, Root rot.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasını özenle takip eden, fikirleri ve düşünceleri ile daima bana yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Elif TOZLU'ya, bakteri kültür koleksiyonunu kullanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Recep KOTAN ve Sayın Doç Dr. Fatih DADAŞOĞLU'na, çalışmalarımda yardımcı olan Sayın Arş. Gör. Nasibe TEKİNER'e, yine çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Muhammed TATAR ve Gözdenur ÇAKAR'a ve tez süresince maddi-manevi destekleriyle her zaman yanımda olan aileme, göstermiş oldukları sabır ve anlayışlarından dolayı teşekkür ederim.

Enes ŞAHİNOĞLU
Eylül, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ viii
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK ÖZETLERİ 6
3. MATERYAL ve YÖNTEM 15
3.1. Materyal 15
3.1.1. Çalışmada kullanılan malzemeler 15
3.1.2. Besiyerleri 15
3.1.3. Patojen fungus 16
3.1.4. Biyoajan bakteri strainleri 16
3.1.5. Biyoajan fungus izolatları 19
3.1.6. Bitki çeşidi 19
3.2. Yöntem 19
3.2.1. Patojen fungus izolasyonu 19
3.2.2. 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. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajan bakterilerin tanısı 22
3.2.4.a. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainlerinin MIS sisteminde tanılanması 22
3.2.4.b. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajanların türünde aşırı duyarlılık testi (HR) 23
3.2.5. *In vitro* şartlarda biyoajanların etkililik testleri 23
3.2.6. *In vivo* şartlarda biyoajanların etkililik testleri 25

3.2.6.a. Biyoajan bakterilerin morfolojik tanısı 25
3.2.6.b. Biyoajan bakteri strainlerinin *in vivo* testler için hazırlanması 25
3.2.6.c. Biyoajan fungus izolatlarının *in vivo* testler için hazırlanması 25
3.2.6.d. Saksı denemeleri 26
3.2.7. Sonuçların analiz edilmesi 27
3.2.8. *In vivo* şartlarda etkili bulunan bakterilerin moleküler tanısı 27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 29
4.1. Potansiyel Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi 29
4.2. Patojen Fungusun Tanılanması 30
4.2.1. Patojen fungus *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının makroskobik ve mikroskobik tanısı 30
4.2.2. Patojen fungus *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının moleküler tanısı 31
4.3. İlk Defa Bu Çalışmada Kullanılan Biyoajan Bakteri Strainlerinin MIS Sisteminde Tanılanması ve Aşırı Duyarlılık Testi 32
4.4. Biyolojik Mücadele Çalışmaları 33
4.4.1. *In vitro* testler 33
4.4.2. *In vitro*'da etkili bulunan biyoajan bakteri strainlerinin tanısı 40
4.5. Biyoajan Fungus İzolatlarının Tanısı 42
4.5.1. *In vivo* testler 43
4.6. *In vivo*'da En Etkili Bulunan Bakteri Strainlerinin Moleküler Tanı Sonuçları 48
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 50
KAYNAKLAR 55
ÖZGEÇMİŞ 66

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
bp	Baz çifti
dH_2O	Distile su
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
g	Gram
HR	Hipersensitif Reaksion
kb	Kilo baz
Kob	Koloni oluşturan bakteri sayısı
KOH	Potasyum hidroksit
l	Litre
mg	Miligram
MIS	Mikrobiyal identifikasyon sistem
mL	Mililitre
mm	Milimetre
NA	Nutrient agar
NaHClO	Sodyum hipoklorit
NB	Nutrient broth
ºC	Santigrat derece
PDA	Patates dekstroz agar
PDB	Patates dextrose broth
pH	Hidrojen iyonu konsantarsyonu
s	Saniye
sa	Saat
sdH_2O	Steril distile su
spp.	Türler
TSA	Triptik soy agar
v/v	Hacim/Hacim
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. *Fusarium* türlerinde a) makrokonidi, b) mikrokonidi, c) konidiofor ve d) klamidospor yapıları 6
Şekil 3.1. Patojen fungus miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi 24
Şekil 4.1. *Fusarium proliferaturm'un* patojenite testi sonucunda ET 89 izolatının oluşturduğu hastalıktan etkilenen kapya biber meyve ve fidesi 30
Şekil 4.2. *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının a) PDA'da gelişimi b) petrideki gelişimin mikrokobik görüntüsü 31
Şekil 4.3. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA petri görünümleri 39
Şekil 4.4. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan fungus izolatlarının petri görünümleri 40
Şekil 4.5. *In vitro*'da etkili bulunan bakteri izolatlarının NA besi ortamındaki gelişimleri 42
Şekil 4.6. PDA besi ortamında *Trichoderma harzianum*'un ET4 ve ET 14 izolatlarının gelişimi 43
Şekil 4.7. *In vivo* deneme test sonucu PM 18 bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri 44
Şekil 4.8. *In vivo* deneme test sonucu Jumbo A bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri 45
Şekil 4.9. *In vivo* deneme test sonucu TV 13B bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri 45
Şekil 4.10. *In vivo* deneme test sonucu TV 15B bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri 46
Şekil 4.11. *In vivo* deneme test sonucu FDG 37 bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri 46
Şekil 4.12. *In vivo* deneme test sonucu ET 4 fungal izolatı uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri 47
Şekil 4.13. *In vivo* deneme test sonucu ET 14 fungal izolatı uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri 47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünyadaki biber üretim alanı ve üretim miktarı 2
Çizelge 1.2. Dünyada biber üretiminde lider ülkelerin üretim miktarları 2
Çizelge 1.3. Türkiye'de son beş yıla ait biber üretim miktarı, üretim alanı ve verim değerleri 3
Çizelge 1.4. Türkiye'deki biber çeşitlerine göre son on yıla ait üretim miktarları 3
Çizelge 1.5. Ülkemizde illere göre kapya biber üretim miktarı 4
Çizelge 2.1. *Fusarium* solgunluğuna karşı ticari olarak üretilen ve kullanılan biyolojik preparatlar 14
Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve içerikleri 15
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainleri, MIS tanıları, benzerlik oranları ve aşırı duyarlılık test sonuçları 17
Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan biyoajan fungus izolatları 19
Çizelge 3.4. *In vivo* çalışması deneme planı 27
Çizelge 4.1. Sürvey çalışmaları sonucunda elde edilen patojen fungus izolatları 29
Çizelge 4.2. Patojen fungus izolatlarının hastalık şiddetleri 29
Çizelge 4.3. *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının moleküler tanısı, benzerlik oranı ve GenBank erişim numarası 31
Çizelge 4.4. *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5.8S ribosomal RNA, ITS 2, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı 32
Çizelge 4.5. Bakteri strainlerinin mikrobial tanı sistemi (MIS)'ne göre tanısı, benzerlikleri ve aşırı duyarlılık testi sonuçları 32
Çizelge 4.6. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin etkililik test sonuçları 33
Çizelge 4.7. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan fungal izolatların hiperparazitik etkileri 39
Çizelge 4.8. *In vitro*'da etkili olan potansiyel biyoajan bakterilerin koloni rengi, hücre şekilleri ve kamçı durumları 41

Çizelge 4.9. Uygulamaların kapya biberde solgunluk hastalık şiddeti üzerine etkisi 43
Çizelge 4.10. *In vivo*'da en etkili bulunan bakteri strainlerinin moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri 48
Çizelge 4.11. PM 18 bakteri strainin ITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı 48
Çizelge 4.12. Jumbo A bakteri strainin ITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı 49

1. GİRİŞ

Solanales takımına bağlı Solanaceae familyasının *Capsicum* cinsi içerisinde yer alan biber (*Capsicum annuum* L.), dünyada yaygın olarak yetiştirilen ve farklı şekillerde tüketilen bir sebze türüdür. Sıcak iklim sebzesi olan biber ılıman bölgelerde bir yıllık, tropik iklimlerde iki veya çok yıllık bir bitkidir (Aybak 2002; Pernezny *et al.* 2003). Biber bitkisinin kökeni 7000 yıl önceye dayanmaktadır. Anavatanının ise Orta ve Güney Amerika olduğu bilinmektedir (Verit vd 2001; Ahmed 2013). Biberin ülkemize girişi ise 16. yy'da olmuş ve ticari etkileşimler sonucu Avrupalılar tarafından İstanbul'a getirilmiş zamanla da tüm Anadolu'ya yayılmıştır (Vural vd 2000).

Biber, sinir, mide ve salgı bezlerinin çalışmasına faydalı bir bitki olup, idrar sökücü özelliği nedeniyle insan sağlığı açısından önemli bir sebzedir (Akıncı ve Akıncı, 1999; Özalp, 2010) ve farklı şekillerde (kurutularak, dondurularak, hazır gıdalarda, ilaç ve boya sanayi) tüketilmektedir (Anonim 2019). Zengin besin içeriğine sahip olan yeşil biberin 100 g'ı 1,1 g protein; 0,2 g yağ; 92,6 g su; 4,2 g karbonhidrat ve 1,4 g selüloz içerdiği bilinmektedir (Keleş 2007). Kırmızıbiberin besin içeriği ise genellikle daha yüksektir. İnsan beslenmesi açısından önemli bir ürün olan (Şalk vd 2008) biber meyvesi A, B_1, B_2 ve C vitaminleri açısından zengindir; fakat mineral madde içeriği bakımından aynı zenginliği göstermemektedir. Acı biber içeriğinde iştah açıcı ve sindirim sistemi için dezenfektan görevi yaptığı bilinen "capsaicin" alkoloidi yüksek oranda bulunur (Pınar 2013). Capsaicin, acı biberlerde acı ve yakıcı tadı veren alkoloid olup, kanser hastalıklarına karşı önemli bir antioksidandır.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nun verilerine göre 2016 yılında; dünyada 58 milyon hektar alanda 1,1 milyar ton yaş sebze üretimi yapılmış ve bunlar arasında biber 5'inci sırada yer almıştır (FAO 2017). FAO 2017 verilerine göre ise Dünya'da biber üretimi 1,987,059 ha (×1000 ha) alanda 36,092,631 ton (×1000 ton) olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Dünyadaki biber üretim alanı ve üretim miktarı

YILLAR	EKİM ALANI (ha)	ÜRETİM MİKTARI (Ton)
2013	1,927,682	31,268,030
2014	1,943,305	32,126,171
2015	1,879,366	33,177,009
2016	1,930,818	34,592,680
2017	1,987,059	36,092,631

FAO 2017 verilerine göre dünyada biber üretim miktarı bakımından 17,795,349 ton ile ilk sırada Çin, ikinci sırada 3,296,875 ton ile Meksika ve onu takiben üçüncü sırada 2,608,172 ton ile Türkiye yer almaktadır (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Dünyada biber üretiminde lider ülkelerin üretim miktarları (ton)

ÜLKELER	ÜRETİM MİKTARI (Ton)
Çin	17,795,349
Meksika	3,296,875
Türkiye	2,608,172
Endonezya	2,359,441
İspanya	1,277,908
ABD	962,679
Nijerya	748,559
Mısır	623,221
Cezayir	614,922
Tunus	429,000

Sahip olduğu su kaynakları, toprak yapısı ve iklim faktörleriyle çeşitli sebze türlerinin üretimine uygun olan ülkemiz, dünyada en büyük biber üretici ülkeler arasında

bulunmaktadır (Loebenstein and Lecoq 2012). Ülkemizin son beş yıllık biber ekilen alan üretim miktarları ve verim değerleri Çizelge 1.3'de verilmiştir.

Çizelge 1.3. Türkiye'de son beş yıla ait biber üretim miktarı, üretim alanı ve verim değerleri

YILLAR	ÜRETİM MİKTARI (Ton)	EKİM ALANI (da)	VERİM kg/da
2013	2,159,348	787,583	2742
2014	2,232,308	789,738	2827
2015	2,307,456	792,617	2911
2016	2,457,822	815,632	3013
2017	2,608,172	805,166	3239

Ülkemizde en çok yetiştirilen biber çeşidi kapya biber (%42) olup bunu sırasıyla, sivri biber (%36), dolmalık biber (%16) ve çarliston biber (%5) takip etmektedir. TÜİK 2019 verilerine göre ülkemizdeki biber çeşitlerine göre üretimi miktarlarına ait veriler Çizelge 1.4'de verilmiştir.

Çizelge 1.4. Türkiye'deki biber çeşitlerine göre son on yıla ait üretim miktarları

	ÜRETİM MİKTARI (Ton)				
YILLAR	**Kapya**	**Dolmalık**	**Sivri**	**Çarliston**	**Toplam**
1990	*-	320,000	580,000	*-	900,000
1995	*-	330,000	750,000	*-	108,000
2000	*-	390,000	1,080,000	*-	1,470,000
2004	615,000	375,000	710,000	*-	1,700,000
2010	782,173	387,626	816,901	*-	1,986,700
2014	829,809	391,009	907,126	104,364	2,232,308
2015	879,775	393,109	919,004	115,568	2,307,456
2016	957,030	418,435	367,466	114,891	1,857,822
2017	1,107,713	420,904	945,361	134,194	2,608,172
2018	1,128,060	397,175	930,349	99,390	2,554,974

***-:** Verilere ulaşılamamıştır

Ülkemizde biber üretimi örtü altı ve tarla yetiştiriciliği şeklindedir. Örtü altı yetiştiriciliği Akdeniz Bölgesinde yaygındır ve daha çok taze tüketim için, tarla yetiştiriciliği ise, Marmara, Ege, Doğu Akdeniz ve Güney Doğu Bölgelerinde biberi sanayide hammadde (pul biber, salça, konserve, turşu vb.) olarak kullanmaya yönelik yapılmaktadır.

Ülkemizde kapya biber çeşidi en çok Çanakkale'de üretilmektedir. İllere göre kapya biber üretim miktarı Çizelge 1.5'de verilmiştir.

Çizelge 1.5. Ülkemizde illere göre kapya biber üretim miktarı

İLLER	ÜRETİM MİKTARI (Ton)
Çanakkale	218,589
Manisa	128,515
Adana	106,372
Şanlıurfa	102,776
Antalya	94,192
Bursa	83,793
Samsun	77,412

Biber bitkisinin yetiştiriciliği için en uygun sıcaklık 20-30°C aralığı olup tınlı-kumlu, tınlı-hafif killi, organik maddesi zengin topraklar üzerinde en iyi gelişmeyi ve verimi vermektedir. Toprak pH'sının 6,0-6,5 olmasını isteyen biber bitkisinin tohumları genellikle bakım işlerinin kolaylığı ve fidelerin pişkin olarak yetişmesi için viyollere, tohumun 2-3 katı derinliğene standart tohum kullanırken 3-4, hibrit tohum kullanırken ise 1 adet tohum olacak şekilde ekilmektedir (Keleş 2015).

Bütün yetiştirme şartlarına dikkat edilse bile diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi biberde de üretim miktarı ve kalite kaybına neden olan önemli fitopatolojik sorunlarla karşılaşılmaktadır. Beslenme açısından önemli bir bitki olan biberde iklim, toprak, su, ışık gibi abiyotik faktörler ile zararlılar, hastalıklar (bakteri, virüs, fungus, viroid) ve

yabancı otlar gibi biyotik faktörlerden kaynaklanan verim kayıplarının önlenmesi gerekmektedir.

Biberde birçok hastalık bulunmaktadır ve bunlardan kök çürüklüğü (çökerten) hastalığı etmeni olan *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg, (1976)'un mücadelesinde konukçularının varlığında uzun süre canlılıklarını devam ettirebilmeleri, toprak yapısı gibi nedenler ürün rotasyonu ve kimyasal uygulamaların başarısını azaltmaktadır (Abed *et al*. 2016). Ayrıca kimyasallların insan ve çevre üzerinde bıraktığı kalıcı etkilerinin neden olduğu zararlar mutlaka dikkate alınmalıdır. Hastalık etmenlerinin mücadelesinde kimyasalların kullanılması sonucunda; kimyasallara karşı dayanıklılığın oluşması, potansiyel hastalık etmenlerinin ekonomik olarak zararlı hale gelmesi ve doğal düşmanların zarar görmesinden dolayı doğal dengenin bozulması gibi önemli sorunlarla karşı karşıya kalınmıştır (Uygun vd 2010). Benzer şekilde kullanılan fungisitler de fitotoksite, çevre kirliliği ve insan sağlığına zararlı etkileri nedeniyle problem oluşturmaktadırlar (Tjamos *et al.* 1992; Ramamoorthy *et al.* 2002). Bunların yanın da gıda maddelerindeki kimyasal kalıntıları, çevre kirliliği ve ilaç fiyatlarındaki artış da eklenince, kimyasal mücadeleye alternatif çevre dostu ve daha ekonomik mücadele yöntemlerinin kullanımı zorunlu hale gelmiştir. Bu yöntemlerden çevre dostu, ucuz, sürdürülebilir ve en ümit verici olanı biyolojik mücadeledir. Birçok hastalığın biyolojik mücadelesine yönelik önemli çalışmalar yapılmış ve etkili sonuçlar alınmıştır. Zaman içerisinde pek çok ülkede bunların preparat haline getirilip kullanılmaya başlanması biyolojik mücadele çalışmalarının ürünlerini verdiğinin en güzel kanıtıdır. Ayrıca, üretici ve tüketicilerin bilinçlenmesi, organik ürünlere artan eğilimlerde göz önüne alındığında entegre mücadele içinde biyolojik mücadelenin yerinin giderek artacağı aşikardır (Uygun vd 2010).

Yapılan bu çalışmada da hem dünyada hem de ülkemizde biber fidelerinde önemli verim kayıplarına neden olan kök çürüklüğü (çökerten) hastalığı etmeni *F. proliferatum*'a karşı biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabilecek çevre dostu, insan ve diğer canlıların sağlığını tehdit etmeyen biyolojik mücadele ajanı fungus izolatları ve bakteri strainlerinin kullanılabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Toprak kökenli bitki hastalıklarına neden olan fungal patojenler arasında *Fusarium* cinsi fungusların önemi oldukça fazladır (Singleton *et al.* 1992). *Fusarium* türlerine ait makroskobik morfoloji farklı ortamlarda önemli ölçüde değişmektedir. Bu türler patates dekstroz agar (PDA) besiyeri üzerinde 25°C'de 10 günlük inkübasyonda beyaz renkli, yoğun havai miselyum oluşturmaktadır. Septalı ve hiyalinli hif yapısı gözlenmektedir. *Fusarium* türlerine ait uzun ve pamuğumsu şekilde gelişen miselyumlar kültür ortamında genellikle sarı, mor ve pembe renk teşkil etmektedir. Miselyumlarda bulunan konidioforlar ise değişken, kalın, kısa, düzensiz veya ince ve basit yapılı şekilde dallanmış orak görünümündedir (Toussoun and Nelson 1968). Konidioforlar basit veya dallanmış monoploid ve poliploidlerdir. Mikrokonidiumlar tek hücreli, küçük, şeffaf sporlardır ve seyrek veya hiç yoktur. Makrokonidiler ise enine genellikle 3-4 bölmeli, genellikle kıvrık ve mekik şeklindedir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. *Fusarium* türlerinde a) makrokonidi, b) mikrokonidi, c) konidiofor ve d) klamidospor yapıları (Toussoun and Nelson 1968)

Makrokonidiumlar iki tiptedir. Bu tiplerde hava miselleri genelikle düz 3-5 septalı ve 7.5-35 x 2.5-4 µm boyuttadır. Makrokonidiumlarda spor keseleri kıvrık ve 3-7 septalı, 20-46 x 3-5.5 µm boyutuna sahiptir (Ciegler *et al.* 1971).

Dünyada Antartika kıtası hariç kutuplardan ekvatora kadar tüm kıtalarda ayrıca subtropikal ve tropikal alanlarda, organik materyaller içeren her tip toprakta *Fusarium*

cinsleri bulunabilmektedir. Ancak *Fusarium* solgunluğuna çoğunlukla asidik, kaba yapılı topraklarda yağışlı ve yüksek sıcaklık koşullarında rastlanılmaktadır (Synder *et al*. 1981).

Fusarium cinsi funguslar yabani ve kültür bitkilerin tüm organlarında patojen olarak saptanmış olup, bazıları da saprofitik özellik gösterebilmektedir. Simptomlar, bitki türü ve organına göre farklılık göstermektedir. Patojenik olanlar bitkilerin çeşitli organlarında meydana getirdikleri enfeksiyonlar sonucu gövde, kök ve meyve çürüklüklerine neden olmaktadırlar. Ayrıca solgunluk hastalıklarına yol açarak önemli derecede ürün kayıplarına ve bitki ölümlerine de neden olabilmektedirler.

Bitkilerde meydana getirdiği hastalıklar haricinde *Fusarium* türlerinin insan ve hayvanlarda da keratit ve onikomikoz gibi yüzeyel ya da yaygın enfeksiyonlara neden olduklarına dair kayıtlar da bulunmaktadır (Nucci 2007; Alastruey *et al.* 2008). Bu yönü ile de bakıldığında bu cinsin hastalık oluşturma açısından önemi daha iyi anlaşılabilmektedir.

Solanaceae familyasına ait bitkiler *Fusarium* kök çürüklüğüne neden olan patojenler tarafından bitkilerin yaşına bakılmaksızın her dönemde enfekte edilebilirler (Miller *et al.* 1996).

Özellikle de *Fusarium* cinsi fungusların bitkilerde meydana getirdiği solgunluk belirtilerinin fungus tarafından üretilen nonspesifik bir toksin olan fusarik asitten kaynaklandığı bildirilmektedir (Davis 1969; Toyada *et al.* 1988). Bu toksin *Fusarium oxysporum* başta olmak üzere birçok *Fusarium* türü (*F. proliferatum, F. crookwellense, F. subglutinans, F. moniliforme, F. solani, F. heterosporum, F. sambucinum* ve *F. napiforme*) tarafından üretilmektedir (Bacon *et al.* 1996) ve bu toksinin *F. oxysporum* etmeninin oluşturduğu kuru çürüklükte önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Venter and Steyn 1998). Yapılan çalışmalarda toksinin bitkilerde hücre zarının seçici geçirgenliğini değiştirdiği, mitokondrinin aktivitesini ve ATP sentezini azalttığı ve bitki kök gelişimini durdurduğu belirlenmiştir (Bouizgarne *et al.* 2004; Bouizgarne *et al.* 2005; Bouizgarne *et al*. 2006; Wu *et al*. 2008).

Fusarium türleri oldukça geniş konukçu çevresine sahiptir. *Fusarium*'un hastalığa neden olduğu ekonomik öneme sahip bitkilere; domates, patates, biber, salatalık, kavun, arpa, buğday örnek olarak verilebilir (Toussoun and Nelson 1968). *F. acuminatum, F. equiset, F. graminearum, F. moniliforme, F. oxysporum, F. proliferatum, F. solani* ve *F. subglutinans*'ın mısır ve kavunda (Munkvold and Leslie 1999) ve buğdayda (Wiese 1987) hastalık meydana getirdiği bildirilmektedir. Yine, *F. equiseti, F. heterosporium, F. javanicum, F. melanochlorum, F. moniliforme, F. proliferatum ve F. solani,*'nin patojen olarak rapor edildiği çalışmalar mevcuttur (Palti and Joffe 1971; Tuwardzhieva 1974; Waraitch and Mushi 1977; Palodhi and Sen 1979; Mertely *et al.* 1991; Rego 1994).

Fusarium türleri içerisinde son zamanlarda bazı bitkilerde *F. proliferatum*'un dikkat çekici düzeyde zarara neden olduğu bildirilmektedir. Kültürde ağırlıklı olarak mikrokonidilerin hakim durumda olduğu ancak 2-3 hücreli hafif eğik makrokonidilerin de görüldüğü bu türde havai miselyumda zincir şeklinde mikrokonidi oluştuğu bildirilmektedir. Ancak türün en önemli özelliği "V" şeklindeki konidiofor oluşturmasıdır. Bazı türlerde karakteristik şekilde 1-2 bölmeli ve kalın hücre duvarına sahip klamidosporlar da oluşmaktadır (Toussoun and Nelson 1968).

Yapılan çalışmalarda farklı ülkelerde bu tür ile ilgili kayıtlar yer almaktadır. İtalya'da 1992-1993 yıllarında yapılan bir çalışmada, hasat öncesi koçan çürüklüğü simptomu görülen mısırlardan 42 adet örnek alınmış ve *F. proliferatum*'un oranı ve toksisitesi incelenmiştir. Enfekteli koçan tanelerinde *F. proliferatum* (%34)'un baskın türler arasında olduğu bildirilmiştir (Ritieni *et al.* 1997). Slovakya'da 1996 yılında ise mısır yetiştirilen alanlarda en sık *F. proliferatum*'a rastlanılmıştır (Srobarova *et al*. 2002). İsviçre'de hayvan beslemede kullanılan ticari mısır hibritlerinde %7,3-14,8 (kuzey ve güney lokasyonlarda) oranlarında *F. proliferatum* tespit edilmiştir (Dorn *et al.* 2009). *F. proliferatum* kuzey Amerika'da sarımsaklarda (Dugan *et al.* 2003), Irak'ta *Dracaena braunii* (Lahuf 2019)'de ve Kore'de aspirlerde (*Carthamus tinctorius*) ilk kayıt olarak verilmiştir. Ülkemizde ise, Sağır (1990) *F. proliferatum*'un kavunda patojen olduğunu rapor etmiştir. Daha sonra, Altıparmak (2007), mısır bitkisi ve tanelerinde yaptığı bir çalışmada, bitkilerden elde ettiği 517 *Fusarium* izolatın %27.33'ünün, tanelerden elde

ettiği 184 izolatın ise %16.30'unun *F. proliferatum* olduğunu kaydetmiştir. 2011 yılında ise Balıkesir iline bağlı Gönen ilçesinde kuşkonmaz (*Asparagus officinalis*) bitkisinin taç ve köklerinde rastlanılmış (Özer vd 2011), Ustun vd (2018) ise soya fasulyesinde tohum çürüğüne neden olan *F. proliferatum*'u ilk rapor olarak yayınlamıştır.

Ülkemizde Kılıç vd (2014) Samsunda biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda Bafra, Alaçam ve Ondokuzmayıs ilçelerinde yürüttükleri bir çalışmada *Fusarium* türlerinin (%60.75) en yaygın hastalık etmeni olduğunu, *Rhizoctonia* spp. (%17.48), *Sclerotium rolfsii* (%3.18), *Phytophthora capsici* (%1.94), *Pythium* spp. (%1.06) ve *Verticillium* spp. (%0.88)'nin bu türleri takip ettiğini kaydetmişlerdir. GAP Bölgesinde biber üretim alanlarında yapılan bir çalışmada ise kök ve kök boğazı çürüklük hastalık etmenleri olarak; *Fusarium* spp., *Fusarium solani, Fusarium oxysporum* ve *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum Macrophomina phaseolina, P. capsici, Alternaria* spp., *Aspergillus niger, Aspergillus flavus, Pythium* spp. ve *Rhizoctonia solani* verilmiştir (Bilgili vd 2015; 2017).

Biberlerde *Fusarium* türlerinin sebep olduğu ekonomik kayıpları azaltmak için kimyasal yöntemler ve kültürel önlemler uygulanmaktadır. Enfekte olmayan toprak ve kimyasal fungusitlerle etki edilmiş bitki materyali, fungusun konukçusu olmayan ürünlerle ekim nöbeti veya dayanıklı çeşit kullanmak başlıca mücadele yöntemlerindendir (Jones *et al*. 1982). Solgunluk hastalığı bu kadar yaygın olmasına rağmen, henüz etkili bir mücadele yöntemi belirlenememiştir. Kontrolünde toprak fumigasyonu önerilmesine rağmen hem ekonomik olmayışı hem de topraktaki yararlı mikroflorayı olumsuz etkilemesi uygulamasını sınırlamaktadır (Yücel 1994; Elmer and Ferrandino 1994). Hastalıkla bulaşık alanlarda sonraki yıllarda rotasyon yapılarak hastalığa duyarlı olmayan tür ekilse bile hastalık etmeni fungus canlılığını uzun yıllar sürdürebilmektedir (Gorondona and Martyn 1997; Altinok 2006). Diğer bir uygulanan yöntemde toprak kökenli patojenlere karşı etkili olduğu bilen solarizasyon uygulamasıdır. Ancak solarizasyon uygulaması da büyük yetiştirme alanlarında pratikte uygulanamamaktadır (Gullino *et al.* 2002; Mandhare and Patil 1993). Dayanıklı çeşit kullanımı da hastalık zararını azaltacak önlemlerdendir. *Fusarium* solgunluğu mücadelesine yönelik yapılan çalışmalarda bu

nedenle dayanıklı çeşitlerin geliştirilerek üretime sokulması yönteminin, ürün kayıplarını önemli ölçüde azaltacağı belirtilmektedir (Miller *et al*. 1996; Rizza *et al.* 2002).

Kimyasal yöntemler ise; pahalı olmaları, etkilerinin sınırlı kalması ve çevre ile insan sağlığına olumsuz etkileri nedeniyle fazla tercih edilmemektedir. Ayrıca kimyasal mücadelenin etkisi oldukça sınırlıdır. Bu nedenle hastalık biber tarımını tehdit eder hale gelmiştir. Fumigant olarak toprağa uygulanan kimyasal yöntemlerden en yaygın olarak kullanılanı metil bromid (MeBr) uygulamasıdır (Boyacı 2007). Ancak MeBr uygulaması ozon tabakasında hasara yol açmakta ve toprakta bromid kalıntıları bırakmaktadır. MeBr uygulaması yapılan topraklarda ki yüksek bromid seviyesi, sebzelerde ve birçok bitkide fitotoksik özellik gösterdiği ve bu uygulama ayrıca mikorizal fungus ve bitki büyümesini teşvik eden yararlı mikroorganizmaların da yok olmasına sebep olduğu belirtilmiştir (Malathrakis 1999). MeBr uygulamasının bu zararlı etkilerinden dolayı Monteral Protokolü ile MeBr kullanımını sonlandırma çalışmaları yürütülmüştür (Anonim 2000). Bu nedenle toprak kökenli hastalıklar ile mücadelede MeBr kullanımına alternatif çözümlere ihtiyaç duyulmaktadır. MeBr alternatif olarak toprak solarizasyonu, Dazomet (Basamid) uygulanması ve Metam Sodyum uygulamaları yapılmaktadır. Bu alternatif yöntemlerden biri olan toprak solarizasyonu, solar enerji ile toprak sıcaklığını artırarak sterilizasyon sağlayan, kimyasal olmayan ve hidrotermal bir yöntemdir. Ancak tek başına uygulandığı zaman toprak kökenli patojenleri kontrol etmede sürekli etkili olmamaktadır. Bu durumda etkiyi artırmak için biyolojik, kültürel ya da kimyasal yöntemlerle kombine etmenin gerekmekte olduğu belirtilmiştir (Yücel vd 2000). *Fusarium*'un kontrolü oldukça zordur. Kullanılan kimyasal ilaçlar ise çevre kirliliğine neden olmaktadır (Küçük vd 2006).

Kimyasal mücadele her ne kadar mücadele yöntemleri içerisinde etkili bir yöntem gibi görünse de fungisit kullanımının çevreye ve toprakta yaşayan faydalı diğer organizmalara olumsuz etkilerinin (Chakraborty *et al.* 2008) yanı sıra pahalı bir yöntem olduğu da belirtilmektedir (Rizza *el al.* 2002; Yücel vd 2007).

Nitekim, tarımsal üretimde kalite ve verimi artırmak amacıyla kullanılan kimyasalların uzun vadede oluşturabileceği hasarının farkına varan araştırmacılar yıllardır kimyasallara alternatif çözümler arayışı içindedirler. "Organik Tarım", "Entegre Mücadele", "İyi Tarım Uygulamaları" gibi başlıklar altında kimyasalların girdisini en düşük seviyeye indirmeyi amaçlayan araştırmalar oldukça fazla yer almaktadır (İmriz vd 2014).

Hastalığa karşı mücadelede en güvenli olanı, dayanıklı çeşit ya da biyolojik mücadelede biyoajanların kullanımıdır (Yücel ve Özarslandan 2014; Akköprü ve Demir 2005). Biyolojik mücadelede arbuskular mikorizal funguslarından *Glomus* cinsi mikorizal funguslar özellikle toprak kökenli patojenlerde (Demir ve Akköprü 2007) ve biber yetiştiriciliğinde hastalık etmenini baskıladığı için önerilmektedir (Aslanpay ve Demir 2015).

Bitki kök ve kök boğazında çeşitli hastalıklara yol açan *Fusarium* gibi hastalık etmenleri ile biyolojik mücadelede değişik bakteriyel antagonistlerin ve *Trichoderma* türlerinin pek çok çalışmada yer aldığı görülmektedir (İmriz vd 2014).

Özellikle toprak kaynaklı bitki patojenlerinin biyolojik kontrolünde *Trichoderma* türleri birçok fungal bitki patojenine karşı en umut verici biyolojik kontrol etmenleri arasında yer almaktadır (Elad and Kapat 1999; Harman 2006). *Trichoderma*'lar Ascomycota alt bölümü, Hypocreales takımı ve Hypoceaceae familyasında bulunan hızlı gelişen kolonileriyle başlangıçta saydam, şefaf, daha sonra yeşile dönmesiyle karakterize edilen türlerdir. Bu türler içerisinde *Trichoderma harzianum* Rifai kitinaz, β-1-3 glükanazlar ve β-1-4 glükanazların üretimi, antibiyotikler, rekabet, inorganik bitki besinlerinin çözünürlüğü, patojen enzimlerinin inaktif hale getirilmesi ve dayanıklılığın teşvik edilmesi (Elad and Kapat 1999; Harman 2006) ve buna ilaveten toprak kaynaklı fungal patojenleri baskılayan uçucu olan metabolitlerin ve uçucu olmayan antibiyotiklerin üretimi, yer ve besin bakımından rekabet gibi etkileri ile antogonizm mekanizmaları da dahil olmak üzere birden fazla etki mekanizmasına sahiptir (Altomare *et al.* 1999; Harman *et al.* 2004; Akrami 2015). Ayrıca *Trichoderma* türleri bitki kök yüzeylerine kolonize olarak bitki metabolizmasında da değişikliklere neden oldukları yapılan

çalışmalarda ortaya konulmuştur (Howel 2003; Kleifeld and Chet 1992). Bitki patojenlerinin gelişimlerini engelleyerek hastalığı azaltması, hormon benzeri metabolitler üretmesi, toprak veya organik maddeden besinleri çözebilmesiyle bitki gelişiminde önemli rol oynamaktadırlar (Kleifeld and Chet 1992; Vinale *et al.* 2006). Özellikle de mikoparazitik olarak güçlü bir etki göstermesi ayrıca oluşturdukları antibiotiklerin de etkili olması araştırmacıların *Trichoderma*'lar üzerinde yoğunlaşmalarına neden olmuştur.

Fusarium solgunluğunun gelişimini sınırlayarak bitki kök yüzeylerine kolonize olan, antagonistik etki gösteren bakteriyel biyolojik mücadele ajanları olarak *B. subtilis, Streptomyces* ve *Pseudomonas* türleri birçok araştırıcı tarafından bildirilmiştir (Thirumalachar *et al*. 1970; Turhan 1981; Podile *et al*. 1985; Kapoor and Kar 1988; El-Abyad *et al*. 1993; Nejad and Johnson 2000; Altınok *et al*. 2013). Koral ve Türktaş (2018)'de farklı bitki türlerinde *Fusarium* solgunluk etmeni olan funguslara karşı farklı bakteri ırklarının kullanılarak solgunluk hastalığını engellenebildiğini belirtmişlerdir.

Jarl *et al*. (1999) yaptığı çalışmada patlıcan köklerinden izole ettiği *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerin (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) hücre duvarı yıkıcı enzimlerden olan siderefor, proteaz ve hidrojen siyanid üretimlerini test ederek *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*'a karşı bu bakterilerin antogonistik etki gösterip hastalık şiddetini azalttığı belirtilmiştir.

Chin-A-Woeng *et al*. (2000), İspanya'da ticari olarak domates üretimi yapılan bir tarladan izole edilen *Pseudomonas chlororaphis*'in *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici'*ye karşı baskılayıcı etkisini araştırmışlardır. Çalışmada *P. chlororaphis*'nin domates köklerinde kolonizasyonunun başarılı olduğunu belirleyerek ve proteaz, kitinaz ve lipaz gibi çeşitli hidrolitik enzimleri salgıladığı, hidrosiyanik asit (HCN) ve antifungal bir bileşik olan fenazin karboksamid (phenazine-1 carboxamide, PCN) ürettiğini saptanmışlardır. PCN üretim yeteneği olmayan mutant *P. chlororaphis*'in domates kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı biyokontrol yeteneğini kaybettiğinin tespit ederek ile PCN'nin biyokotrolde önemli bir rolünün olduğunu bildirilmişlerdir.

Saha *et al*. (2012) yapmış oldukları araştırmada, *Fusarium* solgunluğuna neden olan *Fusarium solani* üzerine *Bacillus subtilis* strainlerinin antagonistik etki gösterdiğini ve *in vitro* ortamda fungal gelişimi sınırlandırdığını tespit etmişlerdir.

Ayrıca, yapılan araştırmalarda *Pseudomonas putida trevisan*'nın ürettiği sideroforların, solgunluk etmeni olan *Fusarium* cinslerinin mikrokonidilerinin çim borucuğunun uzamasını ve klamidosporlarının çimlenmesini engellediğini (Scher and Baker 1982; Elad and Baker 1985) ve bu sayede de patojen gelişemediğinden bitkide hastalık oluşmadığını belirtilmişlerdir (Özaktan vd 2010).

Sebze ve meyve hastalıkları ile biyolojik mücadelede kullanılmak üzere *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus* spp., *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp. ve *Streptomyces* spp. gibi bazı bakterilerin preparatları yapılmıştır (Janisiewicz and Korsten 2002). Bunlardan toprakta yaygın olarak bulunan *Pseudomonas* türlerinden (*P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescent* ve *P. syringae*) bazılarının toprak kökenli fungal patojenleri baskı altına alma özelliğine sahip olduğu da kaydedilmiştir (Aksoy 2006). Çeşitli bitkilerde de *Fusarium* türleri ile mücadelede kullanılması için bazı biyolojik preparatlar geliştirilmiştir. Geliştirilen bu biyolojik preparatların bazıları liste halinde Çizelge 2.1'de verilmiştir (Bora ve Özaktan 1998).

Çizelge 2.1. *Fusarium* solgunluğuna karşı ticari olarak üretilen ve kullanılan biyolojik preparatlar

Antagonist	Preparatın Ticari İsmi	Etkili Olduğu Patojen	Önerildiği Ürünler
Bacillus subtilis MBI 600	Kodiak Q4000, Subtilex, Pro-Mix,	*Fusarium* spp.	Pamuk, baklagiller, soya fasulyesi, yerfıstığı, buğday, arpa
Bacillus subtilis GBO3	Kodiak, Companion	*Fusarium solani*	Pamuk, baklagiller, tahıllar
Bacillus pumilus GB 34	Yield Shield	*Fusarium solani*	Baklagiller
Pseudomonas fluorescens A506	Blightban A506, Biocure, Dagger	*Fusarium* spp.	Badem, domates, şeftali, kayısı, kiraz, patates, çilek, armut, elma
Pseudomonas fluorescens	Dagger-G	*Fusarium* spp.	Çeşitli sebzeler
Streptomyces lydicus WYEC 108	Actinovate	*Fusarium* spp.	Çeşitli sebzeler, meyve ağaçları, sert kabuklular, asma, pamuk, turunçgiller, patates, süs bitkileri
Streptomyces griseoviridis K61	Mycostop	*Fusarium* spp.	Tarla bitkileri, sebzeler ve süs bitkileri
Trichoderma harzianum KRL-AG2	T-22 Hc, Planter Box, Plant Shield, Supresivit	*Fusarium* spp.	Meyve ağaçları, fidanlar, süs bitkileri, kabakgillller, domates, lahana

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan malzemeler

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bitki Klinik ve Mikoloji Laboratuvar'ında bulunan farklı büyüklükte cam ve plastik malzemeler, petri kapları (90 mm, 60 mm), cam pipet ve pastör pipeti, çeşitli kimyasal malzemeler, mikropipet (Ependorf), hassas terazi (Scaltec), hemotolojik çalkalayıcı (Fisher), ısıtıcı ve karıştırıcı (Nüve, MK318), su banyosu (Bandelin Sonorex), çalkalayıcı (Gerhardt), inkübatör (Nüve ES500), saf su cihazı (Gfl 2004), otoklav (Hirayama), spektrofotometre (Shimadzu), steril kabin, vorteks (Velp Scientifica), derin dondurucu (-80°C Wisd) ve buzdolabı (Arçelik) bu tez çalışması kapsamında kullanılmıştır.

3.1.2. Besiyerleri

Patojenin elde edilmesi, patojenite testleri, biyoajan bakteri strainleri ve fungus izolatlarının üretilmeleri ile *in vitro* ve *in vivo* testlerde kullanılan besiyerleri ve içerikleri Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmalarda kullanılan besiyerleri ve içerikleri

Besiyeri adı	Kullanım amacı	İçeriği (1 L)
Nutrient agar (NA)	Bakteri strainlerinin saflaştırılması ve *in vitro* çalışmalarda kullanılması için üretimi	23 g/l
Nutrient broth (NB)	Bakteri strainlerinin *in vivo* çalışmalarda kullanılması için üretimi	8 g/l
Patates dekstroz agar (PDA)	Fungusların saflaştırılması ve *in vitro* ile *in vivo* çalışmalarda kullanılması için üretimi	39 g/l
Luria bertani (LB)+Gliserol	Bakteri strainlerinin uzun süre saklanması	25 g LB+%30 gliserol (v/v)

3.1.3. Patojen fungus

Erzurum ilinde depolarda yapılan sürvey sonucunda hastalık simptomu gösteren kapya biberlerden elde edilen *Fusarium proliferatum'*a ait izolatlar çalışmanın materyalini oluşturmuştur.

3.1.4. Biyoajan bakteri strainleri

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde Mikroorganizma Kültür Kolleksiyonunda bulunan ve daha önce yürütülmüş çalışmalarda bakteriyel ve fungal bitki patojenlerine ve zararlılara karşı biyoajan olarak kullanılabilirlikleri test edilmiş 41 bakteri straini ile bu çalışmada ilk kez kullanılmış 11 bakteri straini olmak üzere toplam 52 bakteri straini çalışmanın biyoajan bakteri materyalini oluşturmuştur (Çizelge 3.2).

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

Sıra	Strain	MIS TANI	B*	İzole edildiği materyal	HR	Kaynak
1	A16	*Ochrobactrum anthropi*	0,318	-	-	Tozlu *et al.* 2017
2	EK7	*Bacillus subtilis*	0,624	Kuşburnu, testereli arı	-	Tozlu *et al.* 2017
3	FD1	*Brevibacillus brevis*	0,625	*Malacosoma neustria*	-	Tozlu *et al.* 2011
4	FDG37	*Pseudomonas fluorescens* Biotip F	0,222	Toprak	-	Karagöz *et al.* 2016
5	FDP8	*Bacillus thuringiensis subsp. kenyae*	0,32	Hypera postica	-	Tozlu *et al.* 2011
6	IK37	*Pseudomonas chlororaphis*	0,89	-	-	Dadaşoğlu 2010
7	KBA10	*Bacillus megaterium*	0,490	Kayısı	-	Esringü 2016
8	M3	*Bacillus megaterium*	0,741	-	-	Tozlu *et al.* 2012
9	OSU142	*Paenibacillus macerans*	0,450	-	-	Orhan 2006
10	PM18	*Pseudomonas chlororaphis*	0,205	-	-	Mohammadi 2018
11	R2/2	*Paenibacillus polmyxa*		-	-	Çakmakcı *et al.* 2010
12	RK102	*Serratia liquefaciens*	0,572	Elma-Dal	-	Tozlu *et al.* 2012
13	RK105	*Alcaligenes piechaudii*	0,420	Elma-Dal	-	Kotan 2002
14	RK134	*Enterobacter agglomerans*	0,342	Elma-Dal	-	Karagöz *et al.* 2010
15	RK142	*Pseudomonas putida biotype A*	0,277	Armut-Dal	-	Kotan 2002
16	RK154	*Pantoea agglomerans*	0,591	Armut-Sürgün	-	Kotan 2002
17	RK175	*Klebsiella pneumoniae*	0,673	Kiraz-Dal	-	Kotan 2002
18	RK346	*Hydrogenophaga pseudoflava*	0,124	Su	-	Dikbaş 2009
19	RK84	*Pantoea agglomerans*	0,718	Elma-Dal	-	Karagöz *et al.* 2010
20	RK92	*Pantoea agglomerans*	0,889	Armut-Dal	-	Karagöz *et al.* 2010
21	TV113C	*Kluyvera cryocrescens*	0,688	Allium	-	Gökçe 2016
22	TV11D	*Pseudomonas flourescens*	0,711	Pancar	-	Esringül 2016
23	TV12H	*Bacillus subtilis*	0,53	Buğday	-	Çakmakcı *et al.* 2010
24	TV13B	*Bacillus subtilis*	0,687	Ahududu	-	Gökçe 2016
25	TV13C	*Bacillus megaterium*	0,595	Ahududu	-	Gökçe 2016
26	TV14C	*Kocuria rosea*	0,695	Çilek	-	Mohammadi 2018
27	TV15B	*Bacillus atrophaeus*	0,468	sedum	-	Mohammadi 2018

Çizelge 3.2. (devam)

28	**TV16F**	***Bacillus subtilis***	**0,831**	**-**	**-**	**Çakmakcı *et al.* 2010**
29	TV17C	*Bacillus subtilis*	0,677	Ahududu	-	Çakmakcı *et al.* 2010
30	TV20E	*Bacillus megaterium*	0,519	-	-	Gökçe 2016
31	TV30D	*Bacillus cereus*	0,220	-	-	Aktaş 2015
32	TV3D	*Bacillus megaterium*	0,563	Çavdar	-	Esringü 2016
33	TV42A	*Pseudomonas putida*	0,113	Buğdaygil	-	Aktaş 2015
34	TV49A	*Bacillus megaterium*	0,577	Buğdaygil	-	Mohammadi 2018
35	TV53D	*Brevibacillus choshinensis*	0,689	Taraxacum	-	Gökçe 2016
36	TV67C	*Bacillus pumilus*	0,630	Ahududu	-	Erman *et al.* 2010
37	TV6D	*Bacillus megaterium*	0,750	-	-	Esringü 2016
38	TV6F	*Bacillus subtilis*	0,831	-	-	Çakmakcı *et al.* 2010
39	TV73A	*Bacillus pumilus*	0,650	-	-	Gökçe 2016
40	TV85D	*Bacillus cereus*	0,114	Şeker pancarı	-	Mohammadi 2018
41	TV87A	*Bacillus megaterium*	0,467	-	-	Erman *et al.* 2010

B*: Benzerlik oranı, **HR:**Aşırı duyarlılık

3.1.5. Biyoajan fungus izolatları

Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Mikroorganizma Kültür Kolleksiyonu'nda bulunan ve daha önce başka bitki patojenleri üzerinde etkililiği test edilmiş ve moleküler analizi yapılmış 2 fungus izolatı (Tozlu *et al.* 2017a) çalışmanın biyoajan fungal materyalini oluşturmuştur (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Çalışmada kullanılan biyoajan fungus izolatları

İzolat	İzole edildiği materyal	Organizma	*EN	Kaynak
ET 4	At kestanesi	*Trichoderma harzianum*	KT897696	Tozlu *et al.* 2017a
ET 14	Sarı çam	*Trichoderma harzianum*	LN864822	Tozlu *et al.* 2017a

EN*: Erişim numarası

3.1.6. Bitki çeşidi

Marmara Fidecilik Firmasına ait "Postal kapya biber" fideleri *in vivo* denemelerde kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Patojen fungus izolasyonu

Erzurum ilinde 2017 yılında farklı depolara gidilerek hastalık simptomu gösteren kapya biber meyveleri toplanmıştır. Laboratuvara getirilen hastalıklı bitki örnekleri musluk suyunda yıkandıktan sonra laminar kabinde enfekteli kısımlarından 1 cm'lik parçalar alınmış 3 dakika musluk suyunda yıkanmış, sonra %1'lik sodyum hipoklorit (NaCIO) içerisinde 1-2 dk yüzeysel olarak dezenfekte edilerek steril su ile durulandıktan sonra 5 dk kurutma kağıdı üzerinde kurutulmuştur. Daha sonra PDA içeren petrilere yerleştirilerek, 20-25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Doku parçasından 4-5 gün içerisinde gelişen kolonilerin uç kısmından alınan 4 mm çapındaki misel diskler PDA

içeren petrilere aktarılarak saf kültürler elde edilmiştir. Bu izolatlar daha sonra PDA içeren test tüplerine aktarılarak, çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kullanılmak üzere Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Mikoloji Laboratuvarında +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Patojenite testi

Meyvede patojenite yapmak için kapya biber meyveleri %10'luk sodyum hipoklorit (NaClO) ile 10 dk dezenfekte edilip, steril su ile durulanmış ardından 5 dk kurutulduktan sonra kürdanla zedelenmiş, açılan yaralı kısım steril su ile nemlendirildikten sonra sürvey sonucunda biber meyvelerinden elde edilen ve PDA'da 10 gün geliştirilen 4 patojen izolatın aktif olarak gelişen bölümünden alınan hif parçaları yerleştirilmiştir. Kontrol uygulamasında nemlendirilen yaralı kısma streil PDA diskleri konulmuştur.

Biber fidelerinde patojenite yapmak amacıyla da yine Postal Kapya biber fideleri organik maddece zengin iki torf ve bir perlit karıştırılarak hazırlanan plastik saksılara dikilmiş ve 24°C'de 12 saat karanlık 12 saat aydınlık periyotta bitki büyütme kabininde tutulmuştur. Aynı şekilde PDA'da 10 gün geliştirilen 4 patojen izolatın 4 mm çapındaki misel diski, 3-5 yapraklı döneme gelen biber fidelerinin gövdelerine topraktan 5 cm yukarıda açılan yaralara mikropipet yardımıyla 30µl steril su verildikten sonra yerleştirilmiştir. Kontrol olarak kullanılan bitkilerde ise açılan yaralara sadece steril su verildikten sonra steril PDA diskleri inokule edilmiştir. Uygulama yapılan bitkiler 25°C sıcaklıkta ve yüksek nem elde etmek amacıyla 24 saat süreyle polietilen torba içerisinde bekletilmiştir. İnokulasyondan bir gün sonra fideler nem çemberinden alınarak günlük simptom gelişimi bakımından takip edilmiştir. İnokulasyondan 17 gün sonra hastalık belirtisi görülen kısımlardan re-izolasyon yapılarak izolatlar tekrar elde edilmiş ve böylece Koch Postulatları tamamlanmıştır. Fidelerde yapılan patojenite testinde ‘‘Patates kuru çürüklük hastalığı (*Fusarium* spp.) skalası" modifiye edilerek elde edilen 0-5 skalası kullanılmış, en virülant izolat belirlenerek çalışmanın bundan sonraki aşamaları o izolat üzerinden yürültülmüştür (Anonim 2018).

Skala değerleri:

0: Hiç hastalık yok,
1: Bitkilerin %1-25'inde hastalık belirtisi,
2: Bitkilerin %26-49'unda hastalık belirtisi,
3: Bitkilerin %50-75'inde hastalık belirtisi,
4: Bitkilerin %76-97'sinde hastalık belirtisi
5: Bitkinin tamamında ölüm görülmektedir.

3.2.3. Patojen fungusun tanılanması

3.2.3.a. Patojen fungusun makroskobik ve mikroskobik tanısı

Patojenite testi sonucunda en virülans olduğu tespit edilen ET 89 izolatı PDA'da geliştirilmiş, kolonilerinin kültürel ve morfolojik özellikleri dikkate alınarak Hasenekoğlu (1991)'na göre tanısı yapılmıştır.

3.2.3.b. Patojen fungusun moleküler tanısı

ET 89 izolatının moleküler karakterizasyonu ITS1-ITS4 bölgesi hedeflenerek gerçekleştrilmiştir. ET 89 50 ml Patates Dextrose Broth (PDB) besiyerinde 25°C 100 rpm'de, 48 saat çalkalayıcı inkübatörde 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 75V'da 60 dk boyunca yürütülerek değerlendirilmiştir. Daha sonra, fungusların moleküler tanılamasında yaygın olarak kullanılan ITS1-ITS4 ribozomal DNA bölgesini hedef alan ITS1 (5´TCCGTAGGTGAACCTTGCGG-3´) ve ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al*. 1990) primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltım yapılmıştır. ITS bölgesinin amplifikasyonu için, her iki primerden 2 µl, 5 µl 10x Taq buffer ve 2.5 U (0.5 µl) Taq DNA polimeraz, 2 µl

dNTP, 3 µl magnezyum klorür, 4.5 µl kalıp DNA ve 31 µl streril dH2O ile son hacim 50 µl olacak şekilde tamamlanmıştır. PCR döngüsü; başlangıç denatürasyonu için 95°C'de 2 dk, denatürasyon için 94°C'de 1 dk, bağlanma safhası için 55°C'de 2 dk, uzama için 72°C de 3 dk 35 döngü olarak ve son uzama ise 72°C'de 10 dk olarak programlanmıştır. PCR ürünleri %1 lik agaroz jelde, 1X TAE tamponu içinde DNA markırı ile 80 V'da 50 dk boyunca yürütülerek değerlendirildikten sonra PureLinkTM Quick PCR purification kit ile saflaştırılılarak REFGEN firması aracılığıyla her iki primer ile DNA dizi analizi yaptırılmıştır. Elde edilen sekans verileri BioEdit programı ile birleştirildikten sonra BLAST programı kullanılarak GenBank'ta (Zhang *et al*. 2000) olan türlerle karşılaştırılmış ve sekans verilerinin girişi gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajan bakterilerin tanısı

3.2.4.a. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajan bakteri strainlerinin MIS sisteminde tanılanması

Bu çalışmada ilk defa etkililiği test edilen 11 bakteri strainin yağ asidi metil esterleri izolasyonu MIS sisteminin kullanım klavuzundaki belirtilen yönteme göre yapılmıştır. Tanılanan bakteriyel strain stok kültüründen steril öze ile alınarak, Triptic Soy Broth Agar (TSBA) katı besi yerine 3 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler, 24-48 sa süreyle 27°C'ye ayarlı bir inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların yağ asitlerini saf olarak izole edebilmek için 4 farklı çözelti kullanılmıştır. Bu çözeltiler sıra ile hücre parçalama (Saponification) çözeltisi (çözelti1), metilleştirme (Methylation) çözeltisi (çözelti 2), saflaştırma (Exraction) çözeltisi (çözelti 3) ve bazik yıkama (Base Wash) çözeltisi (çözelti 4)'dir. Yağ asidi metil esterleri izole edilen örnekler MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra, cihaz çalıştırılarak MIS sistem kılavuzunda belirtildiği gibi analiz edilmiş, bilgisayar ortamında tanı sonuçları alınmıştır (Miller 1982).

3.2.4.b. İlk defa bu çalışmada kullanılan biyoajanların türünde aşırı duyarlılık testi (HR)

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

3.2.5. *In vitro* şartlarda biyoajanların etkililik testleri

Fitopatojen fungus izolatı ET 89 üzerine etkililiği test edilmek istenilen 52 biyoajan bakteri straininin saf kültürleri NA içeren petrilerde 24 saat geliştirilmiştir. Aynı şekilde ET 89 patojen fungus izolatının gelişmekte olan 10 günlük kültüründen 4 mm çapında diskler alınarak PDA içeren petrilerin ortasına yerleştirilmiştir. Daha sonra NA'da geliştirilen biyoajan bakteri strainlerinden eküvyon çubukla alınan koloniler ortasında patojen fungus bulunan PDA içeren petrilerin kenar kısmına çizilmiş ve 10 gün süre ile 25°C'de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır (Tozlu *et al.* 2017b). Kontrol olarak ise PDA içeren petrilerin ortasına sadece patojen fungus izolatı yerleştirilmiş ve değerlendirme patojen fungus izolatı kontrol petrisini kapladığında yapılmıştır.

Antibiyosis etkileşimde patojen fungus hifinin çapı 6 mm olarak ölçülmüş, bakteriyel biyokontrol ajanın fitopatojen fungus kolonisinin gelişimini yüzde engellenme oranı Mari *et al.* (1996)'ın belirttiği radyal gelişmenin engelleme yüzdesi formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Çalışmada her bir bakteriyel strain için 3'er petri kullanılmıştır.

$$\textbf{\% Engelleme}=(C-T)/(C-6)\times 100$$

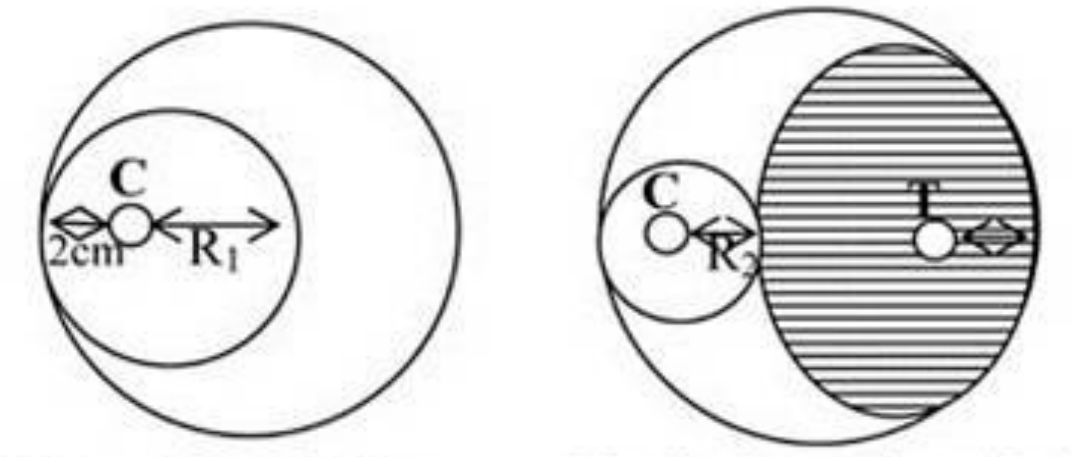
C: Kontrol uygulamasında patojenin koloni çapı

6: Misel diskin çapı (mm)

T: Bakteri uygulaması yapılan petrilerde gelişen patojenin koloni çapı

Daha önce yapılan *in vitro* çalışmalarda farklı bitki patojenleri üzerinde hiperparazitik etki göstermiş olan biyoajan fungus izolatları ET 4 ve ET 14'ün patojen fungus ET 89 izolatı üzerine etkisini belirlemek için ise, biyoajan fungus izolatlarının 6 mm çapındaki misel diskleri PDA içeren petrilere patojen fungus izolatı ET 89 ile aralarında 5 cm uzaklık olacak şekilde karşılıklı olarak yerleştirilerek inkubasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak ise PDA içeren petrilere sadece patojen ve sadece biyoajan fungus izolatları yerleştirilmiş, patojen fungus petriyi kapladığında değerlendirme yapılmıştır.

Fungal biyokontrol ajanlarının hiperparazitik etkisini değerlendirmede kontrol petrideki patojenin yarıçapı (R_1) ve biyoajan ve patojen ekilen petrideki patojenin yarıçapı (R_2) ölçülerek Skidmore and Dickinson (1976)'a göre radyal gelişimin yüzde engellenmesi hesaplanmıştır.



Şekil 3.1. Patojen fungus miselinin radyal gelişiminin ölçülmesi

Yüzde engelleme oranı (%) (YEO)=$(R_1-R_2)/R_1X100$

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)

YEO≤%50: Az

%50<**YEO**≤%60: Orta

%60<**YEO**≤%75: Yüksek

YEO>%75: Çok yüksek

3.2.6. *In vivo* şartlarda biyoajanların etkililik testleri

3.2.6.a. Biyoajan bakterilerin morfolojik tanısı

Çalışmada *in vitro* şartlarda patojene karşı test edilen 52 biyoajan bakteri strainlerinden etkili bulunan ve *in vivo* şartlarda test edilmek üzere seçilen 5 bakteri straini NA'da geliştirilmiş, koloni yapısı ve koloni rengi belirlenmiştir.

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

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

3.2.6.c. Biyoajan fungus izolatlarının *in vivo* testler için hazırlanması

Biyoajan fungus izolatları PDA'da yaklaşık olarak bir hafta geliştirildikten sonra spor oluşturması sağlanmış, daha sonra spor oluşturan fungusun geliştiği PDA içeren petrilere steril su dökülerek cam pipetle fungus sporları toplanmıştır. Oluşan süspansiyon behere alınarak mikropipetle homojen olarak karıştırılmış ve hemositometre ile $1x10^6$ konidi/ml

spor konsantrasyonu olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayrıca fungus süspansiyona bir damla Tween 20 ilave edilerek sporların homojen dağılması sağlanmıştır.

3.2.6.d. Saksı denemeleri

Organik madde yönünden zengin torf ve perlit eşit hacimlerde karıştırılarak elde edilen karışım 1 litrelik plastik saksılara eşit ölçülerde doldurulmuş ve bitki geliştirme ortamı olarak kullanılmıştır.

In vivo şartlarda patojen fungus izolatına karşı etkililiğini belirlemek üzere *in vitro* şartlarda etkili bulunan 5 biyoajan bakteri straini ve 2 biyoajan fungus izolatı seçilmiştir. Bu amaçla patojenite testinde de kullanılmış olan Postal Kapya çeşidi biber fideleri saksılara aktarılmış ve saksı denemesi kurulmuştur. Biber fideleri 3-5 yapraklı döneme geldikten sonra gövdelerine topraktan 5 cm yukarıda açılan yaralara biyoajan bakteri strainlerinden hazırlanan $1x10^8$ kob/ml bakteri süspansiyonundan 30µl mikropipet yardımıyla verilmiştir. Biyoajan fungus izolatlarının uygulanmasında ise, aynı şekilde yaralı kısma hazırlanan $1x10^6$ konidi/ml biyoajan fungus süspansiyonu mikropipet yardımıyla 30µl olacak şekilde uygulanmıştır. Daha sonra PDA'da geliştirilen patojen fungus izolatının uç kısmından alınan misel disk biyoajan bakteri straini veya fungus izolatı uygulanmış olan yaraya yerleştirilmiş ve gövde parafilmle sarılmıştır.

Yapılan çalışmada 3'er saksıya sadece biyoajan bakteri straini ve biyoajan fungus izolatı (Kontrol 1), 3'er saksıya biyoajan bakteri strainlerinin geliştirilmesinde kullanılan NB besiyeri (Kontrol 2), 3'er saksıya biyoajan fungus sporlarının hazırlanmasında kullanılan steril su (Kontrol 3), 3'er saksıya sadece patojen fungus izolatı (Kontrol 4) ve 3'er saksıya da biyoajan bakteri strainleri ve fungus izolatları ile birlikte patojen fungus izolatı uygulanmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. *In vivo* çalışması deneme planı

Sayı	Uygulamalar	
1	Kontrol 1 (Sadece biyoajan)	PM 18
		Jumbo A
		TV-13B
		TV-15B
		FDG-37
		ET 4
		ET 14
2	Kontrol 2 (Sıvı taşıyıcı NB)	
3	Kontrol 3 (Steril su)	
4	Kontrol 4 (Sadece patojen)	
5	ET 89+FDG 37	
6	ET 89+PM 18	
7	ET 89+Jumbo A	
8	ET 89+TV 13B	
9	ET 89+TV 15B	
10	ET 89+ET 14	
11	ET 89+ET 4	

Uygulama yapılan bitki fideleri 1 hafta süreyle günlük olarak incelenmiş ve patojenite testinde de kullanılan 0-5 skalasına göre değerlendirilmişlerdir (Anonim 2018).

3.2.7. Sonuçların analiz edilmesi

In vitro ve *in vivo* testi 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.

3.2.8. *In vivo* şartlarda etkili bulunan bakterilerin moleküler tanısı

In vivo çalışma sonucunda etkili olduğu belirlenen PM 18, Jumbo A ve TV 13B bakteri strainlerinin moleküler karakterizasyonu 16S bölgesi hedeflenerek gerçekleştirilmiştir. Bakteri strainleri 50 ml LB besiyerinde 25°C de, 100 rpm de, 24 saat geliştirilmiş, daha sonra ticari bir DNA izolasyon kiti ile firma tarafından sağlanan protokole göre DNA

ekstraksiyonları yapılmıştır. İzole edilen DNA'lar %0,8'lik agaroz jelde 75 V'da 60 dk boyunca yürütülerek sonuçları değerlendirilmiştir.

Ardından bakterilerin moleküler tanılamasında barkod olarak kullanılan bölgeyi hedef alan 27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) ve 907R (CCGTCAATTCMTTT RAGTTT) (Chandler *et al*., 2011) primerleri kullanılarak çoğaltım yapılmıştır. OTU bölgesinin amplifikasyonu için, her iki primerden 1 µl, 5 µl 10x Taq buffer ve 0.5 µl Taq DNA polimeraz, 1 µl dNTP, 4 µl magnezyum klorür, 3 µl kalıp DNA ve 34.5 µl streril 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 53°C'de 1 dk, uzama için 72°C de 1.5 dk 30 döngü olarak ve son uzama ise 72°C'de 10 dk olarak programlanmıştır. PCR ürünleri %1 lik agaroz jelde, 1X TAE tamponu içinde DNA markırı ile 80 V'da 50 dk boyunca yürütülerek değerlendirilmiş, daha sonra PureLinkTM Quick PCR purification kit ile saflaştırılarak REFGEN ticari bir firması 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 karşılaştırılmış ve sekans verilerinin girişi sağlanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Yapılan sürvey çalışması sonucunda elde edilen patojen izolatları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sürvey çalışmaları sonucunda elde edilen patojen fungus izolatları

Sıra	Patojen izolat	İzole edildiği bitki
1.	ET 88	Kapya biber
2.	ET 89	Kapya biber
3.	ET 90	Kapya biber
4.	ET 91	Kapya biber

4.1. Potansiyel Patojen Fungus İzolatlarının Patojenite Testi

Sürvey çalışması sonucunda elde edilen 4 izolat ile Postal kapya çeşidi biber meyvesi ve fidesi kullanılarak patojenite testi yapılmıştır. İnokulasyon yapılan meyvelerde 4. günden itibaren fungal gelişim görülmeye başlanmıştır. Fidelerde ise, yapraklarda 10. günden itibaren solgunluk gözlenmiştir. Fidelerde yapılan patojenite testi 0-5 skalasına göre değerlendirilmiş ve en virülans olan ET 89 izolatının test edildiği fidelerde 18 gün sonra tamamen ölüm gözlenmiş (Şekil 4.1). Çalışmanın diğer aşamaları ET 89 izolatı kullanılarak devam ettirilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Patojen fungus izolatlarının hastalık şiddetleri

İzolat	Hastalık şiddeti (0-5 Skalası)
ET 88	3,00 B
ET 89	4,83 A
ET 90	3,33 B
ET 91	3,16 B
CV	**10,4**
LSD	**0,74**



Kontrol **ET 89**

Kapya biber fide uygulaması



Kontrol **ET 89**

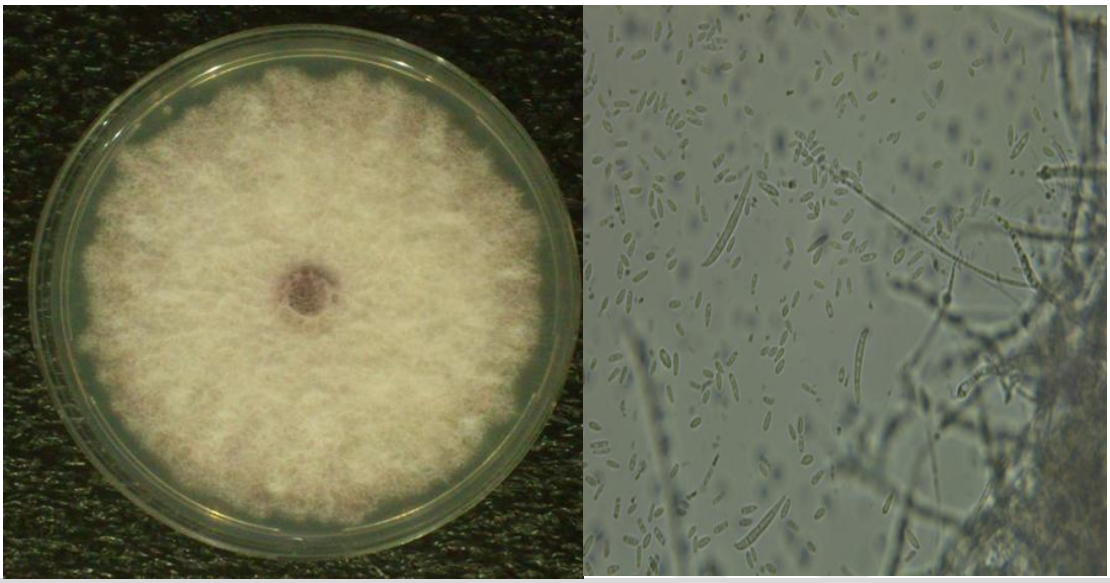
Şekil 4.1. *Fusarium proliferaturm'un* patojenite testi sonucunda ET 89 izolatının oluşturduğu hastalıktan etkilenen kapya biber meyve ve fidesi

4.2. Patojen Fungusun Tanılanması

4.2.1. Patojen fungus *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının makroskobik ve mikroskobik tanısı

ET 89 patojen fungus izolatının makroskobik ve mikroskobik özellikleri dikkate alınarak morfolojik tanısı yapılmıştır.

F. proliferatum miselleri PDA besi ortamında pembemsi beyaz renkte gelişmiş, 27°C'de 12 günde 8 cm çapa ulaşmıştır (Şekil 4.2.a). Mikrokonidileri septasız, ince orak şeklinde olan makrokonidileri ise septalıdır (Şekil 4.2.b).



a **b**

Şekil 4.2. *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının a) PDA'da gelişimi b) petrideki gelişimin mikrokobik görüntüsü (60X)

4.2.2. Patojen fungus *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının moleküler tanısı

İzolasyonlar sonucu elde edilen ET 89 patojen izolatı moleküler olarak %99 benzerlikle *Fusarium proliferatum* olarak tanılanmıştır (Çizelge 4.3). ET 89 izolatının sekansı Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının moleküler tanısı, benzerlik oranı ve GenBank erişim numarası

İzole edildiği bitki	ITS tanılama sonucu	*B (%)	*Erişim numarası
Kapya Biber	*Fusarium proliferatum*	99	MN193534

*Benzerlik oranı

Çizelge 4.4. *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatının kısmi 18S ribosomal RNA, ITS1, 5.8S ribosomal RNA, ITS 2, kısmi 28S ribosomal RNA sekansı

1	AATGGGTTCATGTCTCCGTTGGTGACCAGCGGAGGGATCATTACCGAG
49	TTTACAACTCCCAAACCCCTGTGAACATACCAATTGTTGCCTCGGCGGA
98	TCAGCCCGCTCCCGGTAAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCCTAAA
146	CTCTGTTTCTATATGTAACTTCTGAGTAAAACCATAAATAAATCAAAAC
195	TTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAA
243	AATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCT
291	TTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTCGA
340	GCGTCATTTCAACCCTCAAGCCCCCGGGTTTGGTGTTGGGGATCGGCG
388	AGCCCTTGCGGCAAGCCGGCCCCGAAATCTAGTGGCGGTCTCGCTGCA
436	GCTTCCATTGCGTAGTAGTAAAACCCTCGCAACTGGTACGCGGCGCGG
484	CCAAGCCGTTAAACCCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTA
532	GGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCATAAAGCGGAGGAA

4.3. İlk Defa Bu Çalışmada Kullanılan Biyoajan Bakteri Strainlerinin MIS Sisteminde Tanılanması ve Aşırı Duyarlılık Testi

İlk defa bu çalışmada etkililiği test edilen 11 bakteri strainin mikrobiyal tanı sistemine (MIS) göre tanısı yapılmış ve tanı sonuçları, benzerlikleri, izole edildikleri materyaller ve aşırı duyarlılık testi sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Bakteri strainlerinin mikrobial tanı sistemi (MIS)'ne göre tanısı, benzerlikleri ve aşırı duyarlılık testi sonuçları

Sıra	Strain	MIS TANI	B*	İzole edildiği materyal	HR
1	BRÜTÜSB	*Bacillus subtilis*	0,663	-	-
2	FD48	*Bacillus sphaericus gc subgroup*	0,587	-	-
3	FDG152	*Brevibacillus agri*	0,480	-	-
4	FDG27	*Brevibacterium brevis*	0,560	-	-
5	FDG48	*Agrobacterium radiobacter*	0,320	-	-
6	FDG66	*Kocuria rosea*	0,540	-	-
7	FDP40	*Bacillus megaterium Gc subgroup D*	0,400	-	-
8	IA1	*Bacillus cereus*	0,080	-	-
9	Jumbo A	*Bacillus licheniformis*	0,792	Gübre	-
10	Jumbo B	*Bacillus atrophaeus*	0,465	Gübre	-
11	T26	Paenibacillus macerans	0,665	-	-

***B:** Benzerlik oranı, **HR:**Aşırı duyarlılık

4.4. Biyolojik Mücadele Çalışmaları

4.4.1. *In vitro* testler

Daha önce yapılan çalışmalarda farklı patojenlere karşı test edilmiş ve etkililiği belirlenmiş olan 42 bakteri straini ve 2 fungal izolat ile bu çalışmada ilk defa test edilen 10 bakteri strainin *F. proliferatum*'un ET 89 izolatına karşı *in vitro* şartlarda yapılan etkililik testi sonuçları Çizelge 4.6 ve Şekil 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin etkililik test sonuçları

Uygulama	Koloni çapı (mm)		Yüzde engelleme oranı (%)	
FDG 37	3,07	V	70,63	A
PM 18	3,17	UV	69,44	AB
Jumbo A	3,45	TU	66,07	BC
TV 13B	3,7	ST	64,00	CD
TV 15B	3,9	RS	60,71	DE
TV 53D	4,1	QR	58,33	EF
R 2/2	4,15	P-R	57,73	E-G
RK 105	4,25	O-Q	56,54	F-H
Brütüs B	4,3	N-Q	55,95	F-I
RK 84	4,35	M-Q	55,36	F-J
TV 16F	4,35	M-Q	55,36	F-J
TV 6D	4,4	M-Q	54,76	F-J
A 16	4,4	M-Q	54,76	F-J
RK 92	4,4	L-P	54,76	F-J
TV 113C	4,45	L-Q	54,17	F-K
KBA 10	4,5	K-Q	53,57	G-L
RK 175	4,5	K-Q	53,57	G-L
TV 20E	4,5	K-Q	53,57	G-L
TV 42A	4,5	K-Q	53,57	G-L
TV 12H	4,53	J-O	53,17	H-M
FDG 152	4,55	I-O	53,98	H-N
FDG 27	4,55	I-O	52,98	H-N
Jumbo B	4,55	I-O	52,98	H-N
RK 142	4,55	I-O	52,98	H-N
RK 154	4,55	I-O	52,98	H-N
EK 7	4,6	IO	52,38	H-N
M 3	4,65	H-N	51,79	I-O
TV 30D	4,65	H-N	51,79	I-O

Çizelge 4.6. (devam)

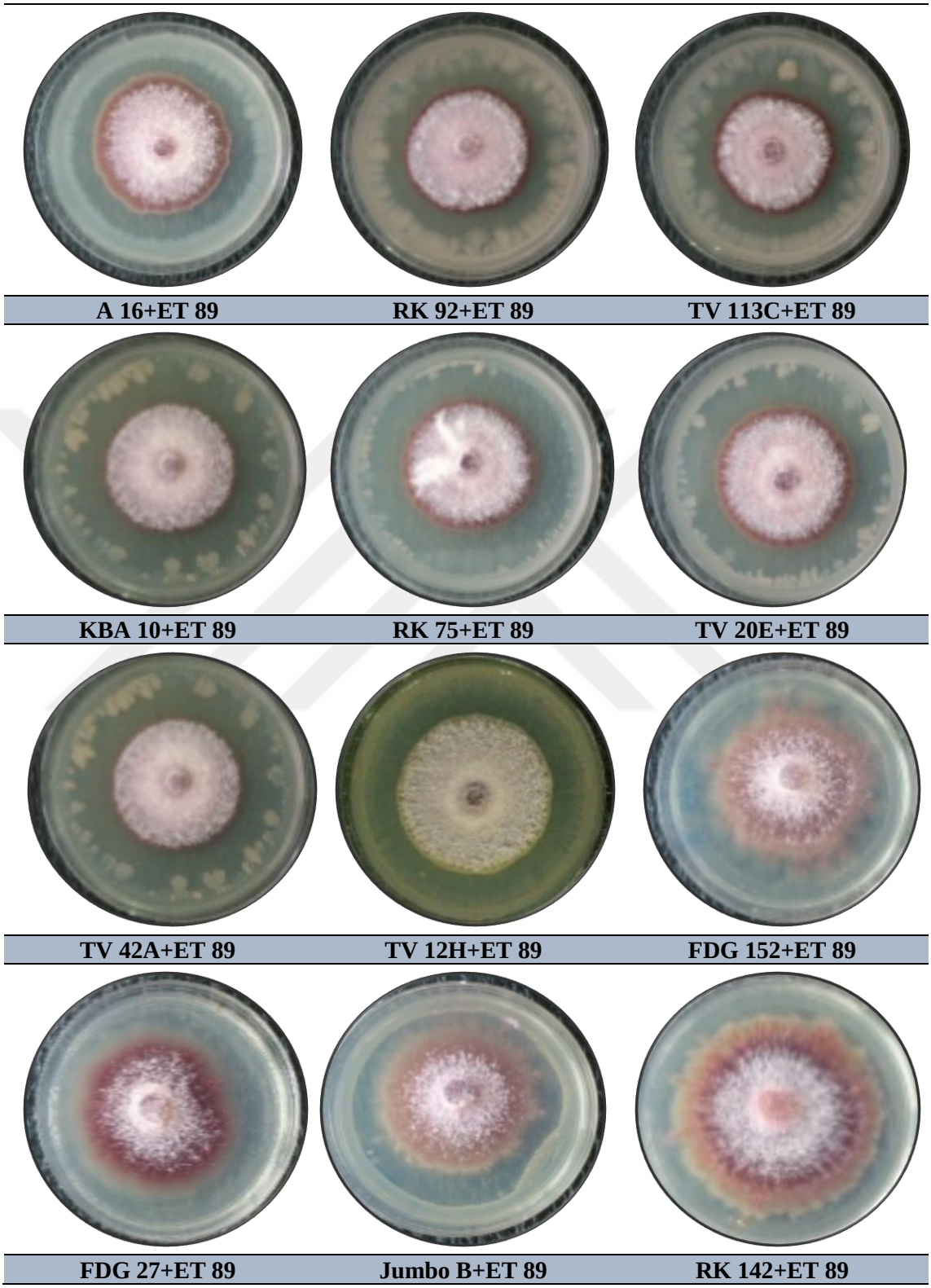
TV 14C	**4,67**	**H-N**	**51,59**	**J-O**
TV 3D	4,7	G-M	51,19	J-P
RK 346	4,77	F-L	50,40	K-Q
IK 37	4,8	F-L	50,00	K-Q
TV 13C	4,83	F-K	49,60	L-Q
TV 49A	4,83	F-K	49,60	L-Q
TV 67C	4,83	F-K	49,60	L-Q
TV 17C	4,83	F-K	49,60	L-Q
FDP 40	4,85	F-K	49,40	L-Q
IA 1	4,85	F-K	49,40	L-Q
RK 102	4,85	F-K	49,40	L-Q
T 26	4,85	F-K	49,40	L-Q
FDG 48	4,86	F-J	49,21	M-Q
RK 134	4,9	E-I	48,81	N-R
TV 85D	4,96	E-H	48,02	O-R
FDG 66	5	E-H	47,62	O-R
TV 87A	5	E-H	47,62	O-R
TV 6F	5,03	E-G	47,22	P-R
FDP 8	5,05	E-G	47,02	P-R
OSU 142	5,06	EF	46,83	QR
FD 1	5,25	DE	44,64	RS
TV 73A	5,47	CD	42,07	ST
FD 48	5,75	BC	38,69	TU
TV 11D	6	B	35,71	V
Kontrol	9	A	0	V
CV	**4,66**		**5,03**	
LSD	**0,35**		**4,20**	

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

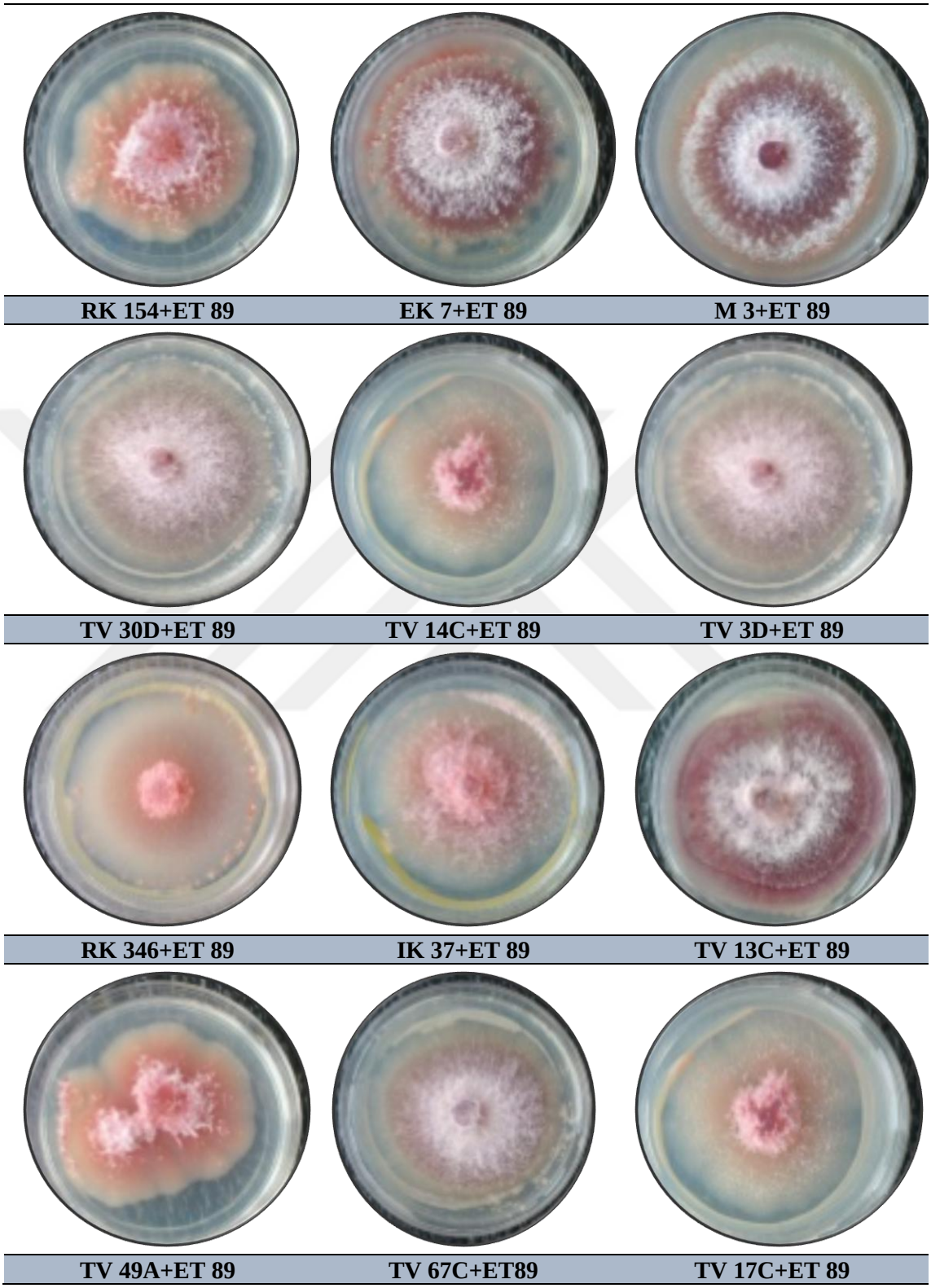
In vitro'da test edilen bakteri strainleri az veya çok oranda *F. proliferatum*'un ET 89 izolatına karşı etkililik göstermiştir. En düşük koloni çapı FDG 37 bakteri straininin uygulandığı petrilerde (2,9 mm), en yüksek koloni çapı ise TV-11D straininin uygulandığı petrilerden (6,00 mm) görülmüştür. En yüksek etkililiği gösteren FDG 37 bakteri straini %70.63 oranında patojen fungusun gelişimini engellerken, en düşük etki görülen TV-11D straini %35,71 yüzde engelleme oranı ile kontrolle aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.6, Şekil 4.3).



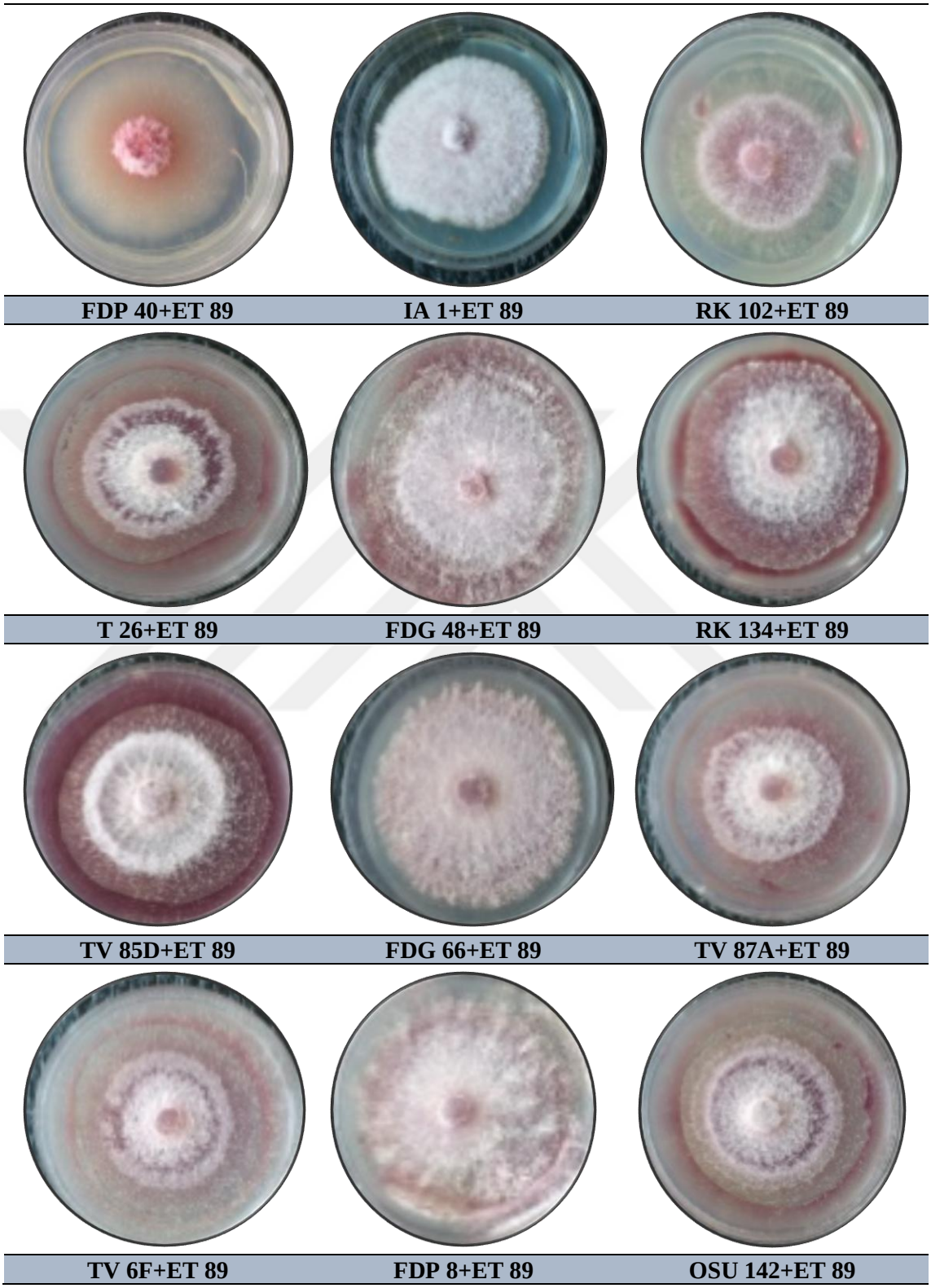
Şekil 4.3. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum*'un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA petri görünümleri (devam)



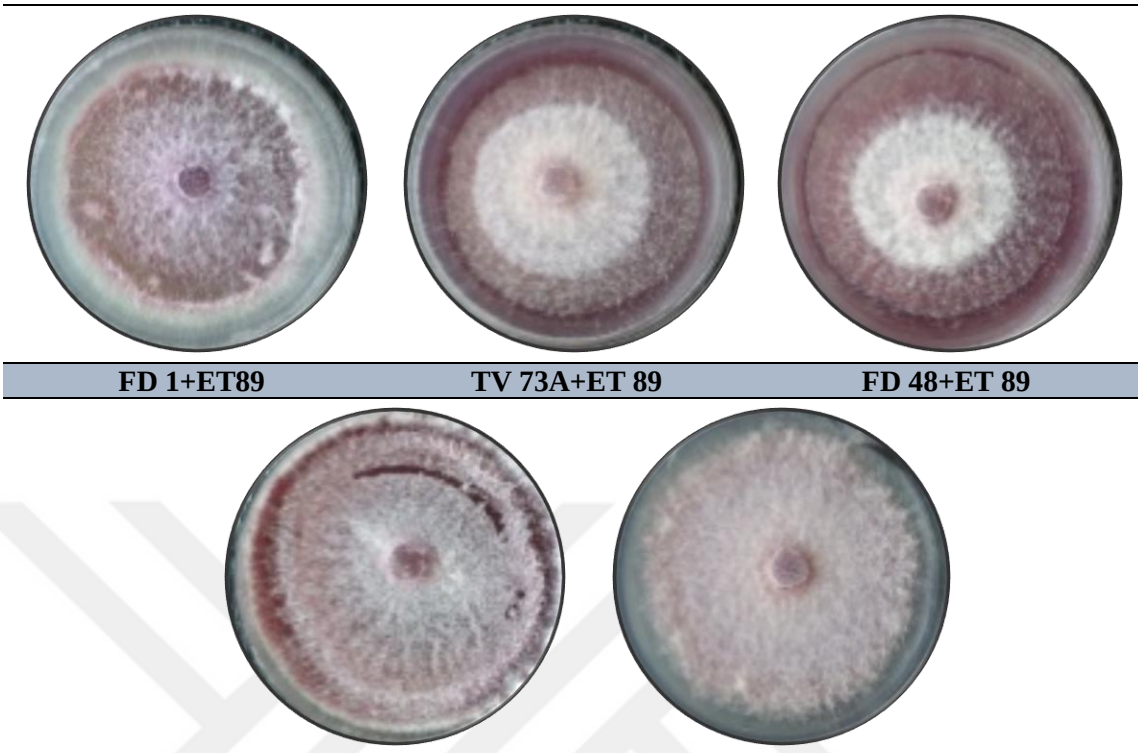
Şekil 4.3. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA petri görünümleri (devam)



Şekil 4.3. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA petri görünümleri (devam)



Şekil 4.3. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA petri görünümleri (devam)



Şekil 4.3. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan bakteri strainlerinin PDA petri görünümleri

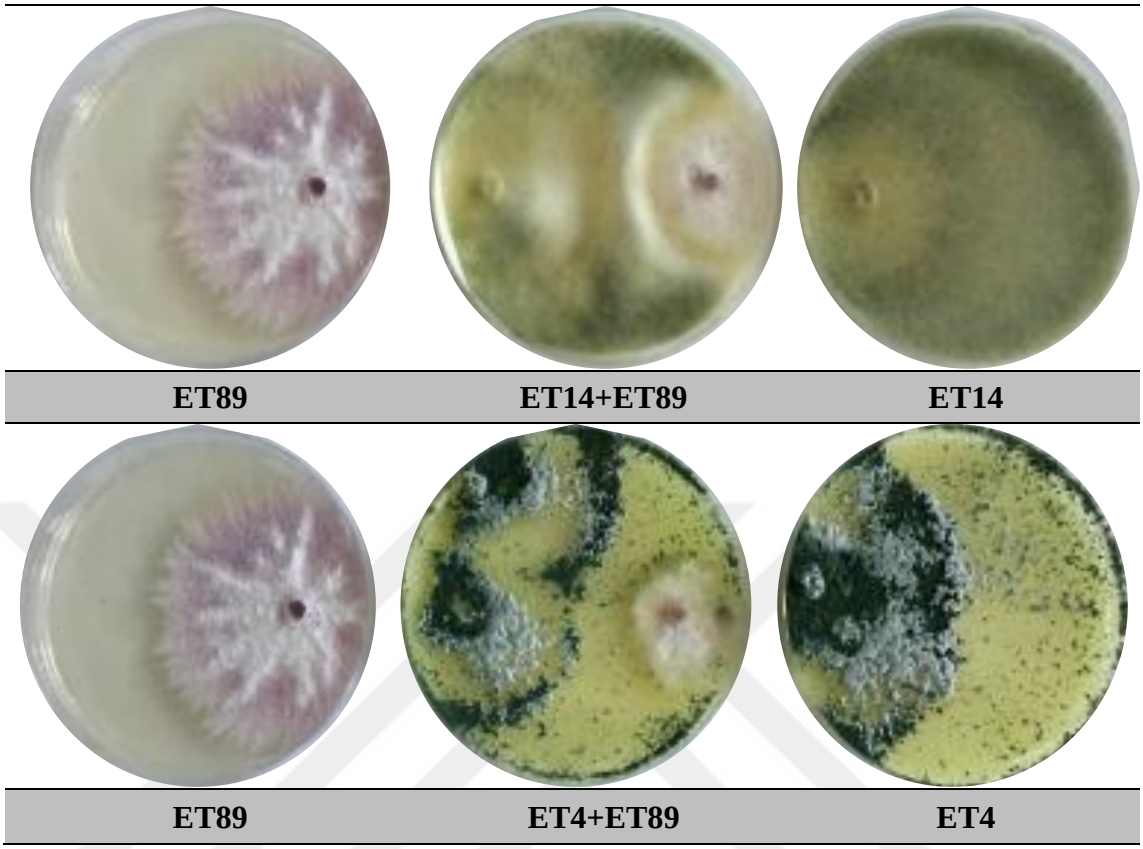
Etkililiği test edilen fungal biyoajanların hiperparazitik etki seviyeleri ise Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan fungal izolatların hiperparazitik etkileri

UYGULAMA	*YEO (%)	*HS
ET 4	74,35	+++
ET 14	74,35	+++

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

Yapılan çalışmada ET 4 ve ET 14'ün yüksek seviyede (%74,35) hiperparazitik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.7; Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *In vitro*'da *Fusarium proliferatum'*un ET 89 izolatına karşı test edilen biyoajan fungus izolatlarının petri görünümleri

4.4.2. *In vitro*'da etkili bulunan biyoajan bakteri strainlerinin tanısı

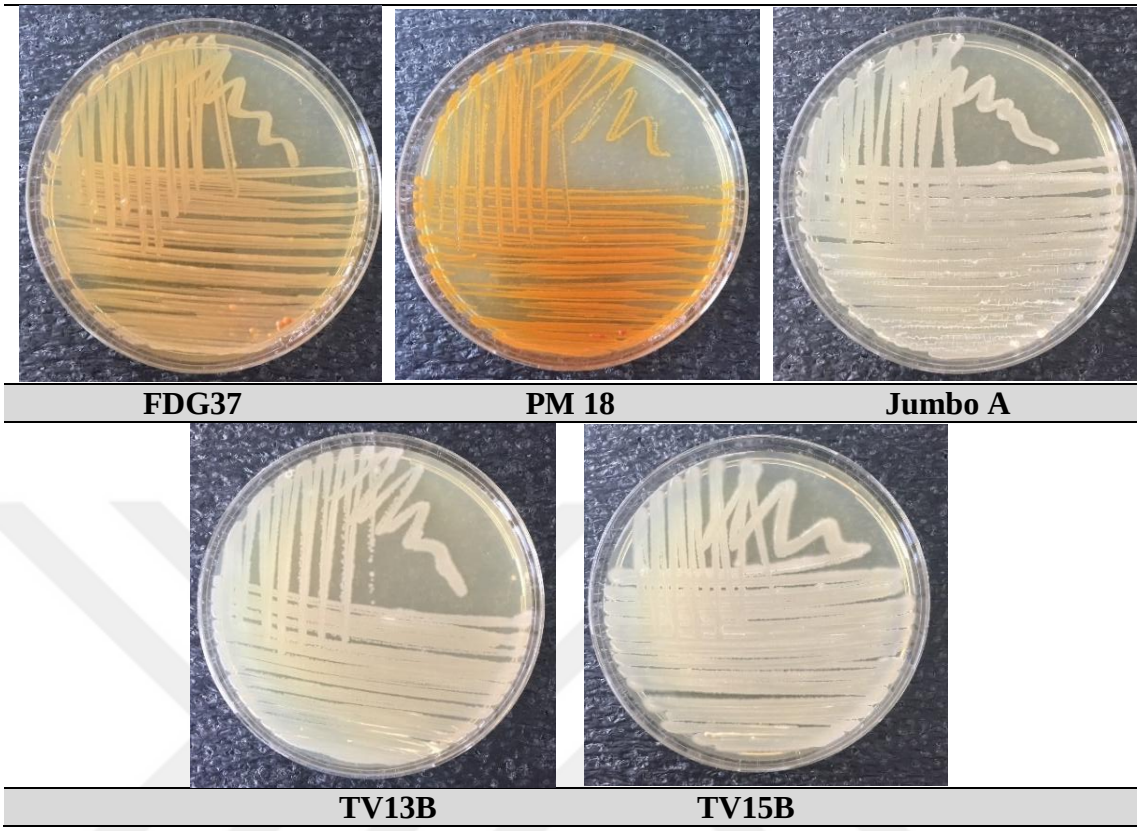
Çalışmanın *in vitro* aşamasında etkili olan ve *in vivo* aşamada patojen fungus izolatına karşı etkililiğinin belirlenmesi için seçilen biyoajan bakteri strainleri morfolojik ve moleküler olarak tanılanmıştır. Bakteri izolatlarının koloni şekilleri ve renkleri Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. *In vitro*'da etkili olan potansiyel biyoajan bakterilerin koloni rengi, hücre şekilleri ve kamçı durumları

İzolat*	Koloni rengi	Hücre şekli	Kamçı durumu
FDG 37	Turuncu	Çubuk	Peritrik
PM 18	Turuncu	Silindirik	Çubuk
Jumbo A	Krem	Silindirik	Çubuk
TV 13B	Krem	Elipsoit	Peritrik
TV 15B	Krem	Silindirik	Çubuk

Biyoajan bakteri izolatlarından FDG 37 ve PM 18 turuncu, Jumbo A, TV 13B ve TV 15B ise krem renginde koloni oluşturmuşlardır. PM 18, Jumbo A ve TV 15B'nin silindirik, FDG 37'nin çubuk, TV 13B'nin ise elipsoit koloni oluşturduğu belirlenmiştir. Kamçı durumlarına göre ise; FDG 37 bakteri izolatının peritrik, PM-18, Jumbo A ve TV 15B'nin çubuk, TV 13B'nin ise peritrik kamçısının olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

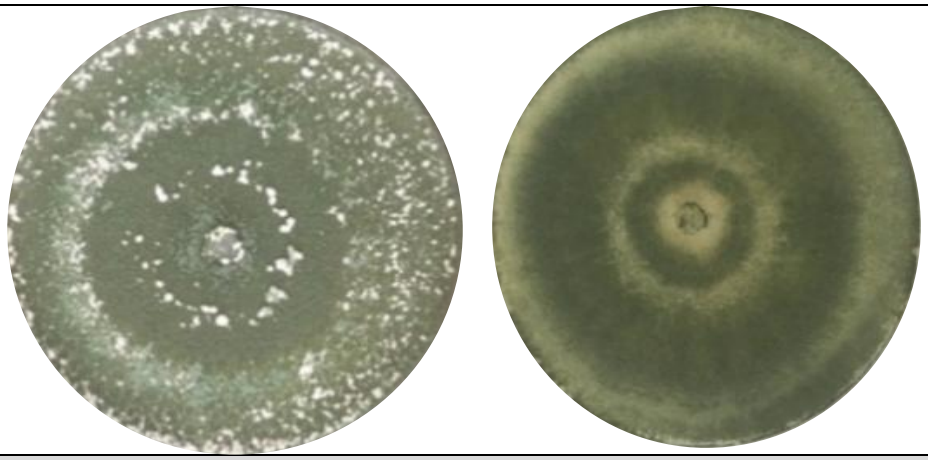
In vitro şartlarda etkili olduğu tespit edilen ve *in vivo* şartlarda etkililiği test edilmek üzere aktarılan 5 bakteri izolatının NA'daki gelişimleri ise Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. *In vitro*'da etkili bulunan bakteri izolatlarının NA besi ortamındaki gelişimleri

4.5. Biyoajan Fungus İzolatlarının Tanısı

Daha önce farklı çalışmalarada farklı patojenlere karşı etkililiği test edilen ve moleküler olarak *Trichoderma harzianum* olarak tanısı yapılan ET 4 ve ET 14 izolatlarının PDA besi ortamındaki gelişimi Şekil 4.6'da verilmiştir.



ET 4	ET 14

Şekil 4.6. PDA besi ortamında *Trichoderma harzianum*'un ET4 ve ET 14 izolatlarının gelişimi

4.5.1. *In vivo* testler

In vitro testlerde etkili olan 5 bakteri straini ve 2 fungal izolat *in vivo*'da test edilmek üzere seçilmiş ve *in vivo*'da oluşturdukları simptomlar değerlendirilerek Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Uygulamaların kapya biberde solgunluk hastalık şiddeti üzerine etkisi

Uygulamalar		**Skala değerleri (0-5 skalası)***	
		18. gün	
Kontrol 1 (Sadece biyoajan)	PM 18	0	C
	Jumbo A	0	C
	TV-13B	0	C
	TV-15B	0	C
	FDG-37	0	C
	ET 4	0	C
	ET 14	0	C
Kontrol 2 (NB)		0	C
Kontrol 3 (Steril su)		0	C
Kontrol 4 (Sadece patojen)		5	A
PM-18 + ET 89		0	C
ET 14 + ET 89		0	C
Jumbo A + ET 89		0	C

Çizelge 4.9. (devam)

TV 13B + ET 89	**0**	**C**
ET 4 + ET 89	0	C
TV 15B + ET 89	1,3	B
FDG 37 + ET 89	4,3	A
CV:	**4,66**	
LSD:	**0,35**	

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

In vivo çalışmada sadece biyoajan uygulaması yapılan Kontrol (1), sadece NB uygulanan Kontrol 2 ve sadece steril su uygulanan Kontrol 3 saksılarındaki fidelerde simptoma rastlanılmamıştır. Biyoajan bakteri straini veya fungal izolatların patojen ile birlikte uygulandığı saksılarda ise 18. günün sonunda TV 15B (1,3) ve FDG 37 (4,3) uygulamaları yapılan saksılardaki fidelerde simptom tespit edilmiş, diğerlerinde herhangi bir simptoma rastlanılmamıştır. Sadece patojen uygulaması yapılan saksılardaki fidelerde ise şiddetli hastalık simptomu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9; Şekil 4.7; 4.8; 4.9; 4.10; 4.11; 4.12; 4.13).



PM 18+ET 89	Kontrol 1 (PM 18)	Kontrol 2 (NB)	Kontrol 3 (Steril Su)	Kontrol 4 (ET 89)

Şekil 4.7. *In vivo* deneme test sonucu PM 18 bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri



Jumbo A+ET 89	Kontrol 1 (Jumbo A)	Kontrol 2 (NB)	Kontrol 3 (Steril Su)	Kontrol 4 (ET 89)

Şekil 4.8. *In vivo* deneme test sonucu Jumbo A bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri



TV 13B+ET 89	Kontrol 1 (TV 13B)	Kontrol 2 (NB)	Kontrol 3 (Steril Su)	Kontrol 4 (ET 89)

Şekil 4.9. *In vivo* deneme test sonucu TV 13B bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri



TV 15B+ET 89	Kontrol 1 (TV 15B)	Kontrol 2 (NB)	Kontrol 3 (Steril Su)	Kontrol 4 (ET 89)

Şekil 4.10. *In vivo* deneme test sonucu TV 15B bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri



FDG 37+ET 89	Kontrol 1 (FDG 37)	Kontrol 2 (NB)	Kontrol 3 (Steril Su)	Kontrol 4 (ET 89)

Şekil 4.11. *In vivo* deneme test sonucu FDG 37 bakteri straini uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri



ET 4+ET 89	Kontrol 1 (ET 4)	Kontrol 2 (NB)	Kontrol 3 (Steril Su)	Kontrol 4 (ET 89)

Şekil 4.12. *In vivo* deneme test sonucu ET 4 fungal izolatı uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri



ET 14+ET 89	Kontrol 1 (ET 14)	Kontrol 2 (NB)	Kontrol 3 (Steril Su)	Kontrol 4 (ET 89)

Şekil 4.13. *In vivo* deneme test sonucu ET 14 fungal izolatı uygulanan saksıların 18. gün sonundaki görünümleri

4.6. *In vivo*'da En Etkili Bulunan Bakteri Strainlerinin Moleküler Tanı Sonuçları

Patojen fungus *F. proliferatum*'un ET 89 izolatına karşı *in* vitro'da etkili olan ve etkililiğine bakılmak üzere *in vivo* aşama için seçilen 5 bakteri strainin saksı denemelerinde de etkili sonuç veren 3 biyoajan bakteri strainin saf kültürlerinden moleküler tanı yapılmış, moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. *In vivo*'da en etkili bulunan bakteri strainlerinin moleküler tanı sonuçları ve benzerlik indeksleri

İzolat	İzole edildiği materyal	ITS tanı sonucu	Benzerlik indeksi	Erişim numarası*
PM 18	-	*Pseudomonas chlororaphis*	%100	MN493122
Jumbo A	Gübre	*Bacillus subtilis*	%99	MN493121
TV 13B	Ahududu	*Bacillus* sp.	-	-

*GenBank

Yapılan çalışmada *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda en etkili sonuç veren bakteri strainlerinden PM 18'in %100 benzerlik indeksi ile *Pseudomonas chlororaphis*, Jumbo A'nın %99 benzerlik ile *Bacillus subtilis* olduğu tespit edilmiş, TV 13B bakteri straini ise *Bacillus* türü olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.10). Bakteri izolatlarının sekans sonuçları Çizelge 4.11 ve 4.12'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. PM 18 bakteri strainin ITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı

1	GGTGCTGGCGGCGGCCTAACACATGCAGTCGAGCGGTAGAGAGAAGCTTGCTTCTCTT
59	GAGAGCGGCGGACGGGTGAGTAATGCCTAGGAATCTGCCTGGTAGTGGGGGATAACG
117	TCCGGAAACGGACGCTAATACCGCATACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCG
176	GGCCTTGCGCTATCAGATGAGCCTAGGTCGGATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTC
234	ACCAAGGCGACGATCCGTAACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACACTGGAACTGAG
292	ACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAA
351	GCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAA
410	GTTGGGAGGAAGGGTACTTACCTAATACGTGAGTATTTTGACGTTACCGACAGAATAA
469	GCACCGGCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTAATCG
528	GAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGGATGTGAAATCCCCG
586	GGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACTGGCGAGCTAGAGTATGGTAGAGGGTGGT
644	GGAATTTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAA
702	GGCGACCACCTGGACTGATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
763	ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGGAGCCTTGAG
823	CTCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAGTTAA

858	ACTAAAATGAGAAATTGAGCGGACGCCGGATACAA

Çizelge 4.12. Jumbo A bakteri strainin ITS1+5.8S rDNA+ITS2 sekansı

1	ACACGTGGGTAACCTGCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATAC
58	CGGATGGTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTA
117	CAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAACG
175	ATGCGTAGCCGACCTGAAAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGA
233	CTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGC
292	AACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAAC
351	AAGTACCGTTCGAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAA
410	CTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGG
469	CGTAAAGGGCTCGCACGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGG
527	GGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCACG
586	TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAACGCGACTCTCTG
645	GTCTGTAACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACATGATTAGATACCCTG
705	GTAGTCCACGCCGTACACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCGCCCCTTAATTGC
764	TGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAACTAAAA
798	ATGAATTGACGGGATCTGATATACACTATATATA

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Fusarium cinsine mensup türlerin konukçu çevresi geniştir ve ekonomik anlamda ürün kaybına neden olmaktadırlar. Söz konusu olan bu ürün kayıplarını azaltabilmek için hastalık etmenleri ile mücadele etmek oldukça önemlidir. Etkili mücadele yöntemlerinden birisi olan kimyasal mücadele tarımsal üretimde kalite ve verimi artırmak amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Ancak, kimyasalların uzun vadede oluşturabileceği olumsuz etkilerin farkına varan araştırmacılar, yıllardır kimyasallara alternatif çözümler arayışı içerisine girmişlerdir (İmriz vd 2014).

Biyolojik mücadele çalışmalarında en fazla kullanılan ve başarılı sonuç veren fungus türü *T. harzianum*'dur ve çok sayıda çalışma (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 and 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 durum tespit edilmiştir. Bu çalışmada da bu tür *F. proliferatum*'a karşı kullanılmış ve başarılı sonuç alınmıştır.

Sivan and Chet (1986) tarafından yapılan çalışmada, *T. harzianum*'un *Fusarium* ile enfekteli tarla topraklarında hastalığı %33 oranında azalttığı kaydedilmiştir. Yürütülen bu çalışmada da; *in vitro* şartlarda *F. proliferatum*'a karşı test edilen *T. harzianum*'un iki izolatının da ümitvar sonuç verdiği görülmüştür.

Daha önce yapılan çalışmalarda, *T. harzianum*'un ET 4 ve ET 14 izolatları patates ve biberden izole edilen *Fusarium oxysporum*'un 7 izolatı, elma ve domatesten izole edilen *Alternaria alternata*'nın 2 izolatı, hıyardan izole edilen *Sclerotinia sclerotiorum*'un 2 izolatı ile *Fusarium solani*'nin 2 izolatı ve havuçtan izole edilen *Geotrichum candidum*'un 1 izolatına (Tozlu *et al.* 2017b; Tozlu *et al.* 2018), domatesten izole edilen

Alternaria solani'nin 1 izolatına karşı (Çamlıca and Tozlu 2019) test edilmiş ve hastalık etmenlerini kontrol etmede başarılı oldukları belirlenmiştir.

Biyolojik mücadele de kullanılan organizmaların çoğu hastalık etmenlerini kontrol ederken patojenlere karşı antibiyotik üretmektedirler ve bu durum büyük önem arzetmektedir. Biyolojik mücadele çalışmalarında bakteriler yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bakterilerden, gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilerde bulunmayan bir dış membrana sahiptir ve proteinler iç ve dış membran arasındaki periplazmik boşluk arasında kalmaktadır. Bu yüzden gram pozitif bakterilerde enzimler direkt besiyerine salgılanmaktadır. Çoğu değişken intraselüler enzimlerin aksine ekstraselüler enzimlerin stabilitesinin yüksek olduğu ve çevre koşullarında aktivitelerini uzun süre koruyabildikleri de bilinmektedir. Dolayısıyla gram pozitif sporlu bir bakteri olan *Bacillus* cinsi bakterilerin enzimlerinin ucuz, stabil, etkili bir şekilde formüle edilebilmeleri durumunda modern tarımda güvenle kullanılabileceği de yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Göğüsgeren 2009). *Bacillus* türleri, patojenlere karşı antibiyotik üretmelerinin (Loeffler *et al*. 1986; Krebs *et al*. 1998) yanı sıra, spor oluşturmaları (Bochow 1995), hemen her tip toprakta bulunmaları ve bitkilerde endofitik olarak kolonize olabilmelerinden (Hardoim *et al*. 2008; Tiwari *et al*. 2014) dolayı da biyoajan olarak giderek yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmışlardır. Ayrıca, toprağa uygulanabilmeleri bu türlerin önemini daha da artırmıştır (Pérez-García *et al*. 2011). Yürütülen bu çalışmada da kullanılan otuz iki bakteri izolatı da *Bacillus* cinsinde yer almaktadır ve gram pozitiftir. Bu nedenle bu izolatların, üzerinde çalışma yapılan bu hastalık etmeninin kontrolünde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Ajilogba *et al.* (2013) yaptıkları bir çalışmada, *B. subtilis*'in toprak orijinli fungal patojenlere karşı oldukça etkili olduğunu bildirmişler, hemen her tip toprakta bulunan *Bacillus* cinslerine ait türlerin, toprak kökenli fungal etmenlerle mücadelede en yaygın kullanılan bakteriler arasında yer aldığını da kaydetmişlerdir.

Fusarium cinsi hastalık etmenleri ile biyolojik mücadelede *Bacillus* cinsine ait türlerin kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır. *B. subtilis*'in ise patojenler üzerinde geniş bir

antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olduğu ortaya konulmuş (Grover *et al*. 2009), bu durumun antibiyotik üretimi, besinler için patojen ile rekabet ve doğrudan antagonizm sonucu olabileceği vurgulanmıştır (Akhtar *et al*. 2010).

Bacillus cinslerine ait türlerin *F. udum*'da solma endeksini düşürdüğü, bitki büyümesini arttırdığı ve *F. oxysporum*'a karşı ise sistemik direnç sağlamak için dokuda hızlı kolonizasyona neden olduğu belirtilmiştir (Kloepper *et al*. 2004).

Grosu *et al.* (2015), *Fusarium culmorum* ve *F. graminearum*'a karşı *Bacillus* cinsine ait strainleri *in vitro* ve *in vivo* şartlarda test etmişler, *B. amyloliquefaciens*'in %78-86 oranlarında etkili sonuç verdiğini kaydetmişlerdir.

Gökçe ve Kotan (2016) tarafından bu çalışmada da etkililiği belirlenmeye çalışılan *B. amyloliquefaciens*'in TV 13 B bakteri straini buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana*'ya karşı test edilmiş, %46,03 oranında hastalık etmenini engellediği belirlenmiştir. Ayrıca, aynı izolatın lahanada yaş ve kuru ağırlıkta, gövde çapı ve yaprak alanında artışa neden olduğu da bir başka çalışmada tespit edilmiştir (Samancıoğlu vd. 2016).

Abed *et al.* (2016), nohutta *F. oxysporum*'a karşı *B. subtilis, B. circulans, B. lentus, B. aneurinilyticus, B. firmus, B. licheniformis, Pseudomonas aeruginosa Pseudomonas luteola* ve *Pseudomonas fluorescens* türlerini denemişler, bu türlerden *B. aneurinilyticus, P. luteola* ve *P. fluorescens*'in en etkili sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, araştırıcılar, bakterilerin etkinliklerinin proteaz, jelatinaz, amilaz, selülaz, katalaz, lipaz, indol asetik asit ve hidrojen siyanid gibi enzim ve metabolitleri üretmelerine göre değişiklik gösterdiğini de belirlemişlerdir.

Tozlu *et al*. (2017b) yaptıkları çalışmada, bu çalışmada da etkililiği test edilen *B. subtilis*'in TV 17C ve TV 12H strain etkililiğini *in vitro* şartlarda farklı konukçulardan elde ettikleri *Alternata alternata*'nın iki farklı izolatına karşı test etmişler, %72.07 ile %60.77 arasında patojenin gelişimini engellediğini ortaya koymuşlardır. Aynı şekilde

Çamlıca and Tozlu (2019), TV 12H ve TV 17C bakteri strainlerini *A. solani*'ye karşı test etmiş ve *in vitro* şartlarda bakteri strainlerinin sırasıyla %69.00 ve %68.20 oranında patojen izolatın gelişimini engellediğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise aynı biyoajan izolatların *F. proliferatum'*un ET 89 izolatının gelişimini *in vitro* şartlarda %53.10 (TV 12H) ve %49.60 (TV 17C) oranında engellediği belirlenmiştir.

Birçok araştırıcı *Pseudomonas* cinsine ait türlerin birçok hastalık etmeninin kontrolünde kullanıldığını bildirmiştir (Akköprü ve Demir 2005; Erdoğan and Benlioğlu 2010; Şenol 2014). Antagonistik *Pseudomonas* türlerinin toprakta yaygın bir şekilde bulunması, hastalık etmenlerinin baskılanmasında önemlerini artırmaktadır (Gorlach Lira and Stefaniak 2009; Mendes *et al*. 2011).

Chen *et al.* (2017), *F. oxysporum*'a karşı *Pseudomonas* türlerinin biyoajan etkinliklerini test ettikleri çalışmalarında, CJ313 izolatının iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir. *F. oxysporum*'a karşı *P. fluorescens* strainlerinin test edildiği bir başka çalışmada, biyoajanın hastalığı domateste %4.86-74.49, keten bitkisinde ise %3.93-%79,19 oranlarında engellediği, ayrıca konidial çimlenme ve çim tüpü uzamasını da azalttığı tespit edilmiştir (Toua *et al*. 2013).

P. fluorescens'in FDG 37 izolatı havuçlarda acı çürüklük hastalığı yapan *G. candidum*'a karşı *in vitro*'da test edilmiş ve %26,85 (Tozlu 2016), buğday kök çürüklüğüne neden olan olan *B. sorokiniana*'ya karşı ise %66,39 oranında (Gökçe ve Kotan 2016) hastalık etmeninin gelişimini engellediği belirlenmiştir. Bu çalışmada ise aynı izolat kapya biberden izole edilen *F. proliferatum'*a karşı %70,63 oranında etkili olmuştur.

Mohammadi (2018) tarafından yapılan çalışmada, *P. chlororaphis*'in PM 18 izolatının domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmenini viyollerde %78,2, saksıda %78,7, tarlada ise %74,4 oranında, *B. atrophaeus*'un TV 15B izolatının da viyollerde %78,2, saksıda %85,1, tarlada ise %74,7 oranında engellediği tespit edilmiştir. Bu çalışmada da aynı izolat *F. proliferatum'*u hem *iv vitro* (%60,71) hem de *in vivo* şartlarda başarılı bir şekilde

kontrol etmiştir. Aktaş (2015) ise TV 15B straininin domates öz nekrozuna neden olan *Erwinia chyrisanthemi*'ye karşı etkili olduğunu belirlemiştir.

Yürütülen bundan önceki çalışmalar ile bu çalışma değerlendirildiğinde, etkili sonuç veren biyoajan fungus izolatları ile bakteri strainlerinin patojenlere karşı etkili oldukları tespit edilmiştir. *In vivo* şartlarda etkili olan *T. harzianum* izolatları biber yetiştiriciliğinde, kök çürüklüğü (çökerten) hastalığı etmeni olan *F. proliferatum'*un kontrolünde biyoajan olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır. Ayrıca, yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmaları sonucunda etkili bulunan *Bacillus* sp. (TV 13B), *B. subtilis* (Jumbo A) ve *P. chlororapsis* (PM 18) biyoajan bakteri strainlerinin *F. proliferatum*'un biyolojik mücadelesinde kullanılabileceği görülmüş, arazi koşullarında da uygulanabilirliğinin denenmesi ve yetiştirilen diğer kültür ve yabani bitkilerle olan ilişkilerinin incelenmesinin önemli olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abed, H., Rouag N., Mouatassem D. and Rouabhi A., 2016. Screening for Pseudomonas and Bacillus antagonistic rhizobacteria strains for the biocontrol of Fusarium wilt of chickpea. Eurasian Journal of Soil Science 5 (3), 182-191.

Agarwal, T., Malhotra A., Biyani M. and Trivedi P.C,. 2011. *In vitro* interaction of *Trichoderma* isolates against *Aspergillus niger*, *Chaetomium* sp. and *Penicilium* sp. Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences, 1 (3), 125-128.

Ahmed, S.M., 2013. Inter-simple sequence repeat (ISSR) markers in the evaluation of genetic polymorphism of Egyptian *Capsicum* L. hybrids. African Journal of Biotechnology, 12 (7), 665-669.

Ajilogba, C.F., Babalola O.O. and Ahmad F., 2013. Antagonistic effects of *Bacillus* species in biocontrol of tomato *Fusarium* wilt. Studies on Ethno-Medicine, 7 (3), 205-216.

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

Akköprü, A. and Demir S., 2005. Biological Control of *Fusarium* wilt in tomato caused by 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.

Akıncı, S. ve Akıncı İ.E., 1999. Kahramanmaraş kırmızı biber yetiştiriciliğinin sorunları. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Karşısında Kahramanmaraş Biberinin Sorunları ve Çözüm Önerileri Paneli.

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.

Aksoy, H.M., 2006. Toprak kökenli fungal patojenlerin fluoresan pseudomonadlarla biyolojik mücadelesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21 (3), 364-369.

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

Alastruey-Izquierdo, A., Cuenca-Estrella, M. and Monzón, A., 2008. Antifungal susceptibility profile of clinical *Fusarium* spp. isolates identified by molecular methods. J Antimicrob Chemother, 61, 805-809.

Ali, H. and Nadarajah K., 2014. Evaluating the efficacy of *Trichoderma* spp. and *Bacillussubstilis* as biocontrol agents against *Magnaporthe grisea* in rice. Australian Journal of Crop Science, 8 (9), 1324-1335.

Altınok, H.H., Dikilitas M. and Yıldız H.N., 2013. Potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates as biocontrol agents against *Fusarium* wilt of eggplant. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 27 (4), 3952-3958.

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

Altıparmak, G., 2007. Samsun ili mısır ekim alanlarında koçan çürüklüğüne neden olan *Fusarium* spp.'nin saptanması, fumonisin b1, fumonisin b2 ve deoxynivalenol düzeylerinin belirlenmesi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.

Altomare, C., Norvell W.A., Bjbrkman T. and Harman G.E., 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plantgrowth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied Environ Microbiol, 65, 2926-2933.

Anonim, 2000. Türkiye metil bromür (mebr) eylem planı ve yönetmeliği. Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü.

Anonim, 2018. https://www.tarim.gov.tr (20.07.2018).

Anonim, 2019: http://www.uib.org.tr (03.04.2019)

Aslanpay, B. ve Demir S., 2015. Arbüsküler mikorizal fungus (AMF) ve hümik asitin biber (*Capsicum annuum* L.) bitkisinin gelişimi ve *Phytophthpra capsici* Leonian'ın neden olduğu kök boğazı çürüklüğü hastalığına etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 25 (1), 48-57.

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.

Aybak, H.Ç., 2002. Biber Yetiştiriciliği Hasad Yayıncılık 155 s.

Bacon, C.W., Porter J.K. and Norred W.P., 1996. Production of fusaric acid by *Fusarium* species. Applied and Environmental Microbiology, 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 *Fusarıum* wilt by *Trichoderma*species under *in vıtro* and in vivocondıtıons. Cercetări Agronomice în Moldova, 49 (1), 91-98.

Basumataray, 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.

Bilgili, A., Fidan H., Yücel S. and Güldür M.E., 2017. Determination of mixed *Fusarium* spp. Infections causing dryings in pepper growing areas in the GAP region of Turkey. International Workshop Plant Health, Challenges and Solutions, Abstract Book, 23-28 April 2017, Antalya-Turkey, 59.

Bilgili, A., Yücel S. ve Kavak H., 2015. GAP Bölgesi biber üretim alanlarında kurumalara sebep olan toprak kökenli funguslar, GAP VII, Tarım Kongresi, Şanlıurfa.

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

Bora, T. ve Özaktan H., 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, İzmir. 205 s.

Bora, T., Özaktan H. ve Yıldız M,. 1995. "Tarla koşullarında kavun ve karpuz Fusarium solgunluklarının siderofor üreten flouresnt pseudomonaslarla önlenmesi üzerine araştırmalar", VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 26-29 Eylül, Adana, 216-219.

Bouizgarne, B., Brault M., Pennarun A.M., Rona J.P., Ouhdouch Y., El Hadrami 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. Journal of Phytopathology, 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 Phytologist, 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 orobanche ramosa. Molecular Plant Microbe Interactions, 19, 550-556.

Boyacı, H.F., 2007. Patlıcanlarda *Fusarium* solgunluğuna dayanıklılık kaynakları ve dayanıklılığın kalıtımı. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.

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

Chakraborty, M.R., Chatterjee, N.C., 2008. Control of *Fusarium* wilt of *Solanum melongena* by *Trichoderma* spp. Biologia Plantarum, 52 (3), 582-586.

Chandler, J.A., Lang J.M., Bhatnagar S., Eisen J.A. and Kopp A., 2011. Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: ecological context of a host-microbe model system. PLoS Genetics 7:e1002272.

Chen, J., Wu L., Xiao Z., Wu Y., Wu H., Qin X., Wang J., Wei X., Khan M.U., Lin Sheng. and Lin W., 2017. Assessment of the Diversity of Pseudomonas spp. and *Fusarium* spp. in Radix pseudostellariae Rhizosphere under Monoculture by Combining DGGE and Quantitative PCR Front. Microbiol. 8:1748. doi: 10.3389/fmicb.2017.01748.

Chin-A-Woeng, T.F.C., Bloemberg G.V. and Lugtenberg B.J.J., 2000. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. New Phytologist, 157, 503-523.

Ciegler, A., Detroy R.W. and Lileho F.B. 1971. Patulin, penicillic acid and other carcinogenic lactones. Microbial. Toxins, Fungal Toxins.

Davis, D., 1969. Fusaric acid in selective pathogenicity. Phytopathology 59, 1391-1395.

Demir, S. and Akköprü A., 2007. Using of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens, in: Biological Control of Plant Diseases.Dergisi, 17-37.

Dorn, B., Forrer H.-R., Schürch S. and Vogelgsang S., 2009, *Fusarium* species complex on maize in Switzerland: occurrence, prevalence, impact and mycotoxins in commercial hybrids under natural infection, *European Journal of Plant Pathology*, 125 (1), 51-61.

Dugan, F. M., Hellier B. C. and Lupien S.L. 2003. First report of *Fusarium proliferatum* causing rot of garlic bulbs in North America, Plant Pathology 52, 426.

El-Abyad, M.S., El-Sayed M.A., El-Shansoury, A.R. and El-Sabbagh S.A., 1993. Towards the biological control of fungal and bacterial diseases of tomato using antagonistic Streptomyces spp. Plant Soil 149, 185-195.

Elad, Y. and Kapat A., 2000. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. EurJ Plant Pathol 105, 177-189.

Elad, Y. and Baker R., 1985. The role of competitium for ıron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. Phytopathology, 75, 1053-1059.

Elad, Y. and Kapat, A., 1999. The rol of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. European Journal Plant Pathology, 105, 177-189.

Elmer, W.H. and Ferrandino F.S., 1993. Comparison of amonium sulfate and calcium nitrate fertilization effects on *Verticillium* wilt of eggplant. Plant Disease, 78, 811-816.

Erdoğan, O. and Benlioğlu K., 2010. Biological control of *Verticillium* wilt on cotton by the use of fluorescent Pseudomonas spp.. Biological Control, 53 (1), 39-45.

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

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. Brazılıan Archıves Of Bıology and Technology, 53 (1), 1-9.

Gorlach-Lira, K. and Stefaniak, O., 2009. Antagonistic activity of bacteria isolated from crops cultivated in a rotation system and a monoculture against *Pythium debaryanum* and *Fusarium oxysporum*. Folia Microbiol. 54, 447–450. doi:10.1007/s12223-009-0062-1.

Göğüsgeren, N., 2009. *Trichoderma* spp.'e etkili antibiyotik üreten *Bacillus* spp. suşlarının saptanması ve bunların ganoderma lucidum misel kültürlerinde in situ kullanılma olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

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

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. Applıed and Envıronmental Mıcrobıology, 63 (8), 3189-3198.

Grosu, A.I., Sıcuıa O.A., Dobre A., Voaıdes C. and Cornea C.P., 2015. Evaluation of Some Bacillus spp. Strains for the Biocontrol of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* in Wheat. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 559-566.

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

Gullino, M.L., Minuto A. and Garibaldi A. 2002. Soil fumigation with chloropicrin in ıtaly, experimental results on melon eggplant and tomato, Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet., 67, 171-180.

Hardoim, P.R., van Overbeek L.S., van Elsas J.D., 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.*16 463-471. 10.1016/j.tim.2008.07.008.

Harman, G.E., 2006. http://www.nysaes.cornell.edu, (04.07.2006).

Harman, G.E., 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *T. harzianum* T-22. Plant Diseases, 84, 377-393.

Harman, G.E., Howell C.R., Viterbo A. and Lorito I.M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat Rev 2, 43-56.

Hasenekoğlu, İ., 1991. Soil Microfungi (In Turkish). Erzurum/Turkey, Atatürk Univercity Press. Yayınları, No, 689, Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Yayınları 11, 1-7.

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.

Huffaker, C.B. and Messenger P.S., 1976. Theory and Practice of Biological Control, Academic Pres, New York.

Inbar, J., Menendez A. and Chet I. 1996. Hyphal ınteractıon between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biologıcal control. Soil Biol. Biochem, 28 (6), 757-763.

İmriz. G., Özdemir F., Topal İ., Ercan B., Taş, M., Yakışır E. ve Okur O., 2014. Bitkisel üretimde bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (Pgpr)'ler ve etki mekanizmaları, Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 2, 1.

Janisiewicz, W.I. and Korsten I., 2002. Biological Control of Postharvest Disease of Fruits. Annual Review of Phytopathology, (40), 411-441.

Jarl, C.I., Rietveld E.M. and De Haas J.M., 1999. Transfer of fungal tolerance through ınterspecific somatic hybridization between solanum melongena and S. torvum. Plant Cell Reports, 18, 791-796

Jones, J.P., Jones J.B., Mıller W., 1982. *Fusarium* Wilt on Tomato. Fla. Dept. Agric.and Consumer Serv., Drv. Of Plant Industry, Plant Pathology Circular No: 237.

Bilgili, A. ve Güldür M. E., 2018. GAP Bölgesinde biberlerde *Fusarium oxysporum* sp. *vasinfectum* kök çürüklüğü hastalığına arbüsküler mikorizal fungusların etkinliği, Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi 22 (1), 88-108.

Kapoor, I.J. and Kar B., 1988. Antagonistic effects of soil microbes *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing tomato wilt. International Journal of Tropical Plant Disease, 6, 257-262.

Keleş, D., 2015. Biber Yetiştiriciliği, T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Erdemli-Mersin

Keleş, D.. 2007. Characterization of different pepper genotypes and low temperature tolerance, Çukurova University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Adana (Turkey) Çukurova University, Graduate School of Natural and Applied Sciences.

Kılıç, G. and Erper İ., 2014. Samsun ili kapya biber yetiştirilen alanlarda bulunan fungal etmenlerin tespiti ve patojeniteleri. Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi, 3-5 Şubat 2014, Antalya, 239.

Kleifeld, O. and Chet I.. 1992. *Trichoderma harzianum* interaction with plants on effect on growth response. Plant Soil 144, 267-272.

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

Kloepper, J.W., Ryu C.M. and Zhang S., 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by Bacillus spp. Phytopathology 94 (11), 1259-1266.

Krebs, B., Hoding B., Kübart S., Alemayehu Workie M., Junge H., Schmiedeknecht G., Grosch R., Bochow H. and Hevesi M., 1998. Use of Bacillus subtilis as biological

control agent. I. Activities and characterization of Bacillus subtilis strains. Journal of Plant Disease and Protection 105, 181-97.

Koral, A.Ö. ve Türktaş, M., 2018. Patlıcanda *Fusarium* solgunluğuna dayanıklılık ve mücadele çalışmaları, Çukurova Tarım Gıda Bilimleri Dergisi Çukurova Journal of Agricultural and Food Science, 33 (1), 111-124.

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.

Lahuf, A.A., 2019. First report of *Fusarium proliferatum* causing stem and root rot on lucky bamboo (*Dracaena braunii*) in Iraq, Hellenic Plant Protection Journal 12, 1-5.

Loebenstein, G. and Lecoq H., 2012, Viruses and virus diseases of the vegetables in the Mediterranean Basin, Academic Press-Elsevier. Amsterdam, Pays-Bas, 595.

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

Malathrakis, N.E., 1999. Soil fumigation with methyl bromide, advantages and disadvantages. 3rd International Workshop on Methyl Bromide Alternatives. 7-10 December. Heraklio of Grete Greece. 46.

Mandhare, V.K. and Patil P.L., 1993. Varietal screening and effiacacy of fungucides against *Fusarium* wilt of brinjal. Journal of Maharashtra Agricultural Universities, 18, 34-36.

Mari M., Guizzardi M. and Pratella G.C., 1996. Biological control of gray mould in pears by antagonistic bacteria. Biological Control, 7, 30-37.

Mendes, R., Kruijt M., de Bruijn I., Dekkers E., van der Voort M. and Schneider J.H. 2011. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. Science, 332, 1097-1100.

Mertely, J.C., Martyn R.D., Miller M.E. and Bruton B.D., 1991. Role of *Monosporscus cannonballus* and other fungi in a root rot yine decline disease of muskmelon. Plant Disease, 75, 1133-1137.

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. 2021 Cofey Road. Columbus, OH, 432101087.

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

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

Munkvold, G.P. and Leslie J.F., 1999. *Fusarium* root rot diseases. Page 13 In: Compendium of corn diseases, 3rd ed. D. G. White, ed. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Nejad, P. and Johnson P.A., 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. Biological Control, 18 (3), 208-215.

Nucci, M., 2007. Anaissie, E., *Fusarium* infections in immmunocompromised patients. Clin Microbiol Rev; 20, 695-704.

Özaktan, H., Aysan Y., Yildiz F.ve Kinay P. 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele. Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1 (1), 61-78.

Özalp, R., 2010. Ülkemizde biber üretimi ve örtüaltı biber yetiştiriciliği. Tarım Türk Dergisi, Temmuz-Ağustos 2010, 24, (5), 29-32.

Özer, G., Bayraktar H. and Oksal E., 2011. First report of *Fusarium proliferatum* causing crown and root rot of Asparagus officinalis in Turkey Journal of Plant Pathology 93 (4, Supplement), 63-89.

Palodhi, P.R. and Sen B., 1979. Role of tyllose development in a muskmelon disease caused by *Fusarium solani.* Plant Disease Reporter, 63 (7), 584-586.

Palti, J. and Joffe A.Z., 1971. Causes of the *Fusarium* wilt of cucurbits in Israel and conditions favoring their development. Phytopathology Z., 70 (1), 31-42.

Parmar, H.J., Bodar N.P., Lakhani H.N., Patel S.V., Umrania V.V. and Hassan M.M., 2015. Production of lytic enzymes by *Trichoderma* strains during *in vitro* antagonism with *Sclerotium rolfsii*, the causal agent of stem rot of groundnut. African Journal of Microbiology Research, 9 (6), 365-372.

Pérez-García, A., Romero D., Zeriouh H. and Vicente A., 2011. Biological control of phytopathogenic fungi by aerobic endosporeformers.Pages 157180. In: Endospore-forming Soil Bacteria. N. A. Logan and P. Vos, eds. Springer, Berlin, Heidelberg.

Pernezny, K., Roberts P.D., Murphy J.F. and Goldberg N.P., 2003. Compendium of pepper diseases, The American Phytopathological Society, 63.

Pınar, H., Ata A., Keleş D., Büyükalaca S., Bircan M., Karipcin M.Z. ve Rastgeldi U., 2013. Determination of Tolerance Of Deficied Irrigation Application of Some Pepper Genotypes International Plant Breeding Congress 25-28

Podile, A.R., Prasad G.S. and Dube H.C., 1985. *Bacillus subtilis* as antagonist to vascular wilt pathogens. Current Science 54, 864-865.

Ramamoorthy, V., Raguchander T. ve Samiyappan R., 2002. Enhancing resisitance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with *fluorescent Pseudomonas*. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 429-441.

Rego, A.M., 1994. Diseases caused by fungi on cucurbitaceae. Informe-Agropecuario-Beb Horizonte, 17 (182), 48-54.

Ritieni, A., Moretti A., Logrieco A., Bottalico A., Randazzo G., Monti S.M., Ferracane, R. and Fogliano V., 1997. Occurrence of fusaproliferin, fumonisin B1, and beauvericin in maize from Italy, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45 (10), 4011-4016.

Rizza, F., Mennela G., Collonier C., Sihachakr D., Kashyap V., Rajam M.V., Prestera M. and Rotino L.G., 2002. Androgenic dihaploids from somatic hybrids between solanum melongena and solanum aethiopicum group gilo as a source of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*. genetic transformation and hybridization. Plant Cell Repots, 20, 1022-1032.

Sağır, A., 1990. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde kavun ve karpuzlarda kök boğazı çürüklüğüne neden olan fungal etmenler. Bitki Koruma Bülteni, 28, 141-150.

Saha, D., Purkayastha G.D., Ghosh A., Isha M. and Saha A., 2012. Isolation and characterization of two new bacillus subtilis strains from the rhizosphere of

eggplant as potential biocontrol agents. Journal of Plant Pathology, 94 (1), 109-118.

Sallam, N.M.A., Abo-Elyousr K.A.M. and Hassan M.A.E., 2008. Evaluation of *Trichoderma* Species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and Efficacy of Suggested Formula Egypt. Journal of Phytopathology, 36 (1-2), 81-93.

Samancıoğlu, A., Yıldırım E. ve Şahin Ü., 2016. Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri uygulamalarının farklı sulama seviyelerinde yetiştirilen lahanada fide gelişimi, bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkisi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi, 19 (3), 332-338.

Samuels, G.J., 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*, 96 (2), 195-206.

Saravanakumar, K., Yu C., Dou K., Wang M., Li Y. and Chen J., 2016. Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum*. Biological Control, 94, 37-46.

Scher, F.M. and Baker R., 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic ıron chelator on ınduction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. Phytopathology, 72, 171-176.

Sharma, P., 2011. Complexity of *Trichoderma-Fusarium* interaction and manifestation of biological control. Australian Journal of Crop Science 5 (8), 1027-1038

Sıngleton, L.L., Mıhaıl J.D. and Rush C.M., 1992. Methods For Research On Soilborne Phytopathogenic Fungi, Aps Press. St. Paul Minnesota. 115-128.

Sivan, A. ve Chet I., 1986. Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *T. harzianum*. PhytopathoL, 116, 39-47.

Skidmore, A.M. and Dickinson C.M., 1976. Colony ınteractions and hyphal ınterference between sepatoria nodorum and phylloplane fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 66, 57-64.

Srobarova, A., Moretti A., Ferracane R., Ritieni A. and Logrieco A., 2002. Toxigenic *Fusarium* species of *Liseola* section in pre-harvest maize ear rot, and associated mycotoxins in Slovakia, *European Journal of Plant Pathology*, 108 (4), 299-306.

Sundaramoorthy, S. and Balabaskar P., 2013. Biocontrol efficacy of *Tricoderma* spp. Against wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* J Appl Biol Biotechnol 1 (3), 036-040.

Synder, E.L., Smith M., James R. and Hezzey A., 1981 Effect of microaggregate blood filtration on platelet concentrates *in vitro* The Journal of AABB 427-434.

Şalk, A., Arın, L., Deveci, M., Polat, S., 2008. Özel sebzecilik, Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 448.

Şenol, M., 2014. "*Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus subtilis* bakterilerinin Fusarium culmorum'a Karşı Antifungal Etkinliği, Bakterilerden Elde Edilen Kitinaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı Kinetik Özelliklerinin Belirlenmesi", Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 64 s.

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

Thirumalachar, M.J., Rhalkar P.W., Sukapure R.S., Pawar P.H. and Desia P.V., 1970. Control of damping-off and root rot with use of *Streptomyces* species. Hindustan Antibiotics Bulletin, 12, 138-141.

Tjamos, E.C, Papavizas G.C. and Cook R.J., 1992. Biological control of plant diseases. Progress and challenges for the future. New York: Plenum Press.

Toua, D., Benchabane M., Bensaid F. and Bakour, R., 2013. Evaluation of Pseudomonas fluorescens for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax African Journal of Microbiology Research, 7 (48), 5449-5458.

Toussoun, T.A. and Nelson P.E., 1968. A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. Pennsylvania State University Press.

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., 2016. Bazı Bakteriyel Biyokontrol Ajanlar ile Havuç Acı Çürüklük Hastalığı (*Geotrichum candidum* Link)'nın Biyolojik Mücadelesi Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 47 (1), 1-9.

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., 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 (ICAFOF), 15-17 May 2017, Cappadocia, Turkey, p 514.

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 biopestıcıde. Fresenius Environmental Bulletin, 27 (6), 4232-4238.

Turhan, G., 1981. A new race of Streptomyces ochraceiscleroticus in the biological control of some soil-borne plant pathogens II. In vivo studies on the possibilities of using C/2-9 against some important diseases. Journal of Plant Diseases and Protection 88, 422-434.

Tuwardzhieva, L.V., 1974. Species composition of causal agents of *Fusarium* wilt of melon. Review of Plant Pathology, 41-2536.

TÜIK, 2019. Türkiye İstatistik Kurumu. http://www.tuik.gov.tr (15.08.2019)

Ustun, R., Cat A., Catal M. and Uzun B., 2018. First report of *Fusarium proliferatum* causing seed rot on soybean (*Glycine max*) in Turkey, Journal of Biotechnology, 280, 12-31.

Uygun, N., Ulusoy M.R. ve Satar S., 2010. Biyolojik Mücadele Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi, 1 (1), 1-14.

Valenzuela, N. L., Angel D.N., Ortiz D.T., Rosas R.A., Garcia Ortiz C.F. and Santos M.O. 2015. Biological control of anthracnose by postharvest application of *Trichoderma* spp. on Maradol papaya fruit. Biological Control, San Diego, v. 91 (12), 88-93.

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.

Verit A., Yeni E. and Ünal D., 2001. Tarihten Günümüz Ürolojisine Kırmızı Acı Biber Türk Üroloji Dergisi, 27 (4), 399-402.

Vinale, F.R., Scala F., Ghisalberti E.L., Lorito M. and Sivasithamparam K., 2006. Major secondary school metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active againts different Phytopatholgens Lett Appl. Microbiol. 43, 143-148.

Vural, H., Eşiyok D. and Duman İ., 2000. Kültür sebzeleri sebze yetiştirme. Ege Üniversitesi, İzmir 440.

Wang, J., Liang J., Chen Y., Gao J. and Zhang Z., 2005. Inhibition of capsaicin on hyphal growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* and its effects on the protective enzymes activity of pepper plant. *Acta Phytopathologica Sinica*, S1, S641.3;S432.4

Waraitch, K.S. and Mushi G.D., 1977. A new wilt disease of muskmelon in India. Rev.Appl. Mycol., 56 (6), 2731.

Waterhouse, D.F. and Norris K.R., 1987. Biological Control, Pacific Prospects., Inkata Pres, Melbourne, Australia 454.

Weindling, R., 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, 22, 837-845.

Weindling, R., 1934. Studies on lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology*, 24, 1153-1179.

Weindling, R., 1941. Experimental consideration of the mold toxin of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology*, 31, 991-1003.

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

Wiese, M.V., 1987. Compendium of wheat disease. 2nd ed. American Phytopathological Society, St. Paul MN. 53-55.

Woo, S.L., Ruocco M., Vinale F., Nigro M., Marra R., Lombardi N., Pascale A., Lanzuise S., Manganiello G. and Lorito M., 2014. *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycol J*, 8 (Suppl.-1, M4): 71-126.

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.

Yücel, S., Özarslandan A., Çolak A., Ay T. and Can C., 2007. Effect of solarization and fumigant applications on soilborne pathogens and root-knot nematodes in greenhouse grown tomato in Turkey. Phytoparasitica, 35, 450-456.

Yücel, S., 1994. Akdeniz Bölgesi Örtü Altı Sebze Alanlarında Görülen Fungal Hastalıklar. Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Bitki Koruma Bülteni, 34, 1-2.

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 Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Araştırma Yayınları Serisi Yayın No: 64, Ankara.

Yücel, S., 1995. A study on soil solarization and combined with fumigant application to control of *phytophthora* crown blight (*Phytophthora capsici* Leonian) on Peppers in the East Mediterranean Region of Turkey. *Crop Protection*. 14 (8), 653-655.

Yücel, S. ve Özarslandan A., 2014. Toprak kökenli patojenler ve nematodlar, toprak dezenfeksiyonu için uygulamaların tanıtımı, uygulama şekilleri. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Biyolojik Mücadele Araştırma İstasyonu Adana, 18.

Yücel, S., Pala H., Çalı S. and Erkılıç A., 2000. Combination of *Tricoderma* spp. and soil solarization to control root rot diseases of cucumber in greenhouses conditions. Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate, Iobc Wprs Bulletin 23 (1).

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

ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Narman'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Narman'da tamamladı. 2012 Yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'ne girdi. 2016 yılında aynı fakültenin Bitki Koruma Bölümünden mezun oldu. 2016 yılında Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Halen lisansüstü eğitimine devam etmektedir.