



**T.C.**  
**SELÇUK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**PATLICAN KÖK FUNGUSLARI VE  
RHİZOSFER BAKTERİLERİ ARASINDAKİ  
ANTİBİOSİS İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ**

**Gökçen ERSÖZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Bitki Koruma Anabilim Dalı**

**Ocak-2023**  
**KONYA**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza  
Gökçen ERSÖZ

Tarih:

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

## PATLICAN KÖK FUNGUSLARI VE RİZOSFER BAKTERİLERİ ARASINDAKİ ANTİBİOSİS İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ

Gökçen ERSÖZ

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nuh BOYRAZ

2023, 54 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Nuh BOYRAZ

Prof. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ

Doç. Dr. Ali Tefrik UNCU

Bu çalışmada patlıcan rizosfer bakterilerinin, patlıcanda kök bölgesinden izole edilen funguslara karşı *in vitro* koşullarda antibiyosis etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Patlıcanın rizosfer bölgesinden *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ochraceus* ve *Penicillium digitatum* gibi funguslar izole edilmiştir. Bu funguslara karşı yine patlıcan kök bölgesinden *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Lycinibacillus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Exiguobacterium* cinslerine ait değişik sayıda bakteri türleri izole edilerek *in vitro* etkinliklerine bakılmıştır. Farklı patlıcan üretim alanlarındaki hasta ve sağlıklı bitkilerin rizosfer bölgelerinden alınan toprak örneklerinden 24 değişik bakteri türü izole edilmiş ve 22 tanesi aday biyokontrol ajan olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *Fusarium solani*'ye karşı *Bacillus thuringiensis* %100, *Bacillus subtilis* %74,4, *Bacillus cereus* %53, *Pseudomonas chlororaphis* %51 etkili; *Fusarium oxysporum*'a karşı *Pseudomonas putida* %100, *Pseudomonas chlororaphis* %100, *Bacillus subtilis* %88,8, *Pseudomonas chlororaphis* %85,5 ve *Bacillus cereus* %44,4 etkili; *Fusarium proliferatum*'a karşı *Bacillus subtilis* %100, *Bacillus cereus* %100 ve *Pseudomonas chlororaphis* %72,2 etkili; *Aspergillus nidulans*'a karşı *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus* %100 etkili; *Penicillium digitatum*'a karşı *Bacillus subtilis* %60 etkili; *Aspergillus ochraceus*'a karşı *Bacillus subtilis* %100 ve *Acinetobacter vivianii* %72,5 etkili; *Rhizoctonia solani*'ye karşı *Bacillus subtilis* %42 etkili; *Macrophomina phaseolina*'ya karşı *Bacillus thuringiensis* %49,5 ve *Bacillus cereus* %59 oranlarında etkili olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Antibiyosis, bakteri, biyokontrol ajan, kök fungusları, patlıcan

## ABSTRACT

### MS THESIS

## DETERMINATION OF ANTIBIOSIS RELATIONSHIP BETWEEN EGGPLANT ROOT FUNGI AND RHIZOSPHERE BACTERIA

Gökçen ERSÖZ

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF  
SELÇUK UNIVERSITY

THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

Advisor: Prof. Dr. Nuh BOYRAZ

2023, 54 Pages

Jury

Prof. Dr. Nuh BOYRAZ

Prof. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ

Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU

In this study, it was aimed to determine the antibiosis effects of eggplant rhizosphere bacteria against fungi isolated from root region of eggplant *in vitro* conditions. Fungi such as *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium digitatum* were isolated from the rhizosphere of eggplant. Against these fungi, potential biocontrol agents such as *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Lycinibacillus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Exiguobacterium*, were isolated from the root region and investigated *in vivo*. 24 bacteria were isolated from soil samples taken from the rhizosphere regions of infected and uninfected plants in different eggplant production areas and 22 of them were evaluated as candidate biocontrol agents. According to the results of the research, *Bacillus thuringiensis* 100%, *Bacillus subtilis* 74.4%, *Bacillus cereus* 53%, *Pseudomonas chlororaphis* 51% effective against *Fusarium solani*; *Pseudomonas putida* 100%, *Pseudomonas chlororaphis* 100%, *Bacillus subtilis* 88.8%, *Pseudomonas chlororaphis* 85.5% and *Bacillus cereus* 44.4% against *Fusarium oxysporum*; *Bacillus subtilis* 100%, *Bacillus cereus* 100% and *Pseudomonas chlororaphis* 72.2% effective against *Fusarium proliferatum*; *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus* are 100% effective against *Aspergillus nidulans*; *Bacillus subtilis* 60% effective against *Penicillium digitatum*; *Bacillus subtilis* 100% and *Acinetobacter vivianii* 72.5% effective against *Aspergillus ochraceus*; *Bacillus subtilis* 42% effective against *Rhizoctonia solani*; *Bacillus thuringiensis* 49.5% and *Bacillus cereus* 59% were effective against *Macrophomina phaseolina*.

**Keywords:** Antibiosis, bacteri, biocontrol agent, eggplant, root fungi

## ÖNSÖZ

Bu çalışmada bana araştırma imkânı sağlayan, çalışmanın tüm aşamalarında benden ilgi, bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, kendisinden çok şey öğrendiğim ve bana süreç boyunca inanan danışman hocam sayın Prof. Dr. Nuh BOYRAZ'a, tez projeme maddi imkân sağlayan BAP Koordinatörlüğü'ne, çalışmam boyunca tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na, araştırmalarımın tüm aşamalarında nazik yardımları için ve ayrıntılı geri bildirimleri için Arş. Gör. Özden SALMAN'a, tanıdığım ilk andan itibaren rol modelim olan, her telefon edişimde duygusal ve entelektüel desteğini esirgemeyen hocam Tülin SARIGÜL ERTEK'e, laboratuvar ve survey aşamalarında birlikte çalışırken geçirdiğimiz eğlenceli zamanlar ve mentorlukları için Dr. Öğr. Üy. Raziye KOÇAK'a, Arş. Gör. Ayşegül GÜR'e ve zarif arkadaşlarım Yük. Zir. Müh. Fatma Rana BAYRAM ve Yük. Zir. Müh. Öznur YILMAZ'a, manevi desteğini her an hissettiğim canım arkadaşım Hatice YILDIZ'a, bu uzun sürece benimle birlikte katlanan, maddi-manevi desteklerini esirgemeyen ve bana her zaman nihai hedefimi hatırlatan anneme ve babama, her konuşmamızda motivasyon kaynaklarım olan ve cesaretlenmemi sağlayan, tecrübelerini esirgemeyen abilerim Av. Doç. Dr. Ahmet Kürşat ERSÖZ ve Dr. Alpaslan ERSÖZ'e, son olarak beni seven herkese sonsuz teşekkür ederim.

*“Tek yapmamız gereken, bize tanınan zamanla ne yapmamız gerektiğine karar vermek.  
Gandalf, Lord of the Rings: The Fellowship of the Ring”*

Gökçen ERSÖZ  
KONYA-2023

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>	<b>4</b>
2.1. Patlıcanda kök bölgesi fungusları ile ilgili çalışmalar .....	75
2.2. Patlıcanda kök funguslarına karşı yapılan biyolojik mücadele çalışmaları.....	18
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>12</b>
3.1. Materyal .....	12
3.1.1. Bitki Materyali .....	12
3.1.2. Toprak Materyali .....	12
3.1.3. Denemede Kullanılan Kök Funguslar.....	12
3.1.4. Denemede Kullanılan Rizosfer Bakteriler.....	23
3.1.5. Kullanılan Besi Yerleri.....	24
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Bitki ve Toprak Örneklerinin Toplanması.....	14
3.2.2. Tek Spor İzolasyonu .....	15
3.2.3. Fungal İzolatların Tanımlanması .....	16
3.2.4. Topraktan Rizosfer Bakterilerinin İzolasyonu.....	16
3.2.5. Rizosfer bakterilerin Funguslara Karşı <i>in vitro</i> da Etkinliklerinin Belirlenmesi .....	17
3.2.7. Antagonistik Özellikteki Bakteri İzolatlarının MALDI-TOF Yöntemi ile Tanılaması.....	18
3.2.6. İstatistiksel Analizler .....	19
<b>4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>	<b>20</b>
4.1. Patlıcan Köklerinden İzole Edilen Funguslar .....	20
4.2. Antagonistik Özellik Gösteren Bakteri Türleri.....	23
4.3. Antagonistik Özellik Gösteren Bakterilerin <i>in vitro</i> da Patlıcan Kök Funguslarına Karşı Etkinlikleri.....	24

<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b> .....	<b>32</b>
5.1 Sonuçlar .....	32
<b>KAYNAKLAR</b> .....	<b>34</b>



## ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge.1. Ülkemizde patlıcan üretim verileri (TÜİK, 2020-2021).....	2
Çizelge.2. MALDI-TOF yöntemi ile tanılanan antagonist bakteriler.....	23
Çizelge.3. Bakteri izolatlarının patlıcan köklerinden izole edilen funguslara karşı <i>in vitro</i> da etkinlikleri.....	26





## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil.1. Konya'dan alınan hastalıklı bitki örneğinin boyuna kesit alındığında görülen iletim demeti tıkanıklığı.....	15
Şekil.2. a) Dual kültürde bakteri ve fungus arasında görülen hiperparazitizik ilişki. b) Kontrol petrisi....	17
Şekil.3.Bitki materyalinin kök boğazından boyuna kesit alındığında görülen nekroz.....	21
Şekil.3.1.Bitki materyalinin yapraklarda kahverengileşme ve solgunluk belirtisi.....	22
Şekil.3.2. Fungal izolasyon için toplanan hastalıklı bitki örnekleri.....	25
Şekil.4. Toplanan bitki örneklerinden izole edilen kök funguslarının PDA görüntüleri (a,b,c,d,e,f,g,h)	
Şekil.5. <i>Fusarium solani</i> ye karşı <i>Pseudomonas chlororaphis</i> in dual kültürü.....	27
Şekil.5.1. <i>Fusarium solani</i> ye karşı <i>Bacillus thuringiensis</i> 'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.....	27
Şekil.5.2. <i>Fusarium proliferatum</i> 'a karşı <i>Bacillus subtilis</i> 'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.....	28
Şekil.5.3. <i>Fusarium proliferatum</i> 'a karşı <i>Pseudomonas chlororaphis</i> 'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.....	29
Şekil.5.4. <i>Fusarium oxysporum</i> 'a karşı <i>Bacillus subtilis</i> 'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.....	29

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

mm :	Milimetre
cm :	Santimetre
m <sup>2</sup> :	Metrekare
oC :	Santigrad derece
% :	Yüzde
µl :	Mikrolitre
ml :	Mililitre
mg :	Miligram
l :	Litre
g :	Gram
PDA :	Patates Dekstroz Agar
NA:	Nutrient agar
sp.:	Tür
spp. :	Türleri

## 1. GİRİŞ

Siyah, beyaz, pembe, yeşil ve mor-beyaz renklerde parlak bir sebze olan, oval veya yumurta şeklinden uzun sopa şekline kadar çok çeşitli meyve şekilleri olan patlıcan (*Solanum melongena*), ilk insanlar Çin ve Hindistan bölgesinde tüketmeye başlamışlardır (Thompson ve Kelly, 1957; Purewal, 1957; Martin ve Rhodes, 1979). İtalyanların keşfetmesi 1300'lü yılları bulmuştur. Orijinal adı İtalyanca olan "mela insana" (sağlıksız elma), günümüze kadar "melanzana" olarak gelmiştir. Avrupa kıtasında "aubergine" olan Fransızca kökenli bir isimle bilinmekle beraber, Arapça ve Sanskritçe dillerinden gelen "Brinjal" ismi Hint alt kıtalarında yaygın olup (Daunay ve Janick 2007), "eggplant" adı bazı çeşitlerin meyveleri beyaz ve tavuk yumurtasını andırdığı için bu isim verilmiştir (Brunson 2012). Botanik uzmanları anavatanının Güney Asya olduğunu düşünürler ve halen tropikal Asya'da yabani olarak yetişmektedir. Tropik iklimlerde küçük ağaç şeklinde birkaç yıllık, serin iklimlerde tek yıllıktır. Türkiye'de hem örtü altında hem de tarla koşullarında yetiştirilmektedir. Ülkemiz, dünyada Çin, Hindistan ve Mısır'dan sonra patlıcan üretiminde 4. sıradadır (FAO,2018).

Sebzeçilik ülkemizin hemen hemen her yöresinde yapılmakla birlikte, yaklaşık 80 milyon m<sup>2</sup> olan örtü altı alanlarda ticari olarak özellikle Akdeniz, Ege ve Marmara Bölgelerinde yapılmaktadır. Türkiye, örtüaltı yetiştiriciliği bakımından dünyada ilk dört ülke arasında, Avrupa'da ise İspanya'nın ardından ikinci sırada yer almaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019a). Ülkemizde örtü altı sebze üretiminde sırasıyla 3.8 milyon ton ile Antalya (%48), 1.2 milyon ton ile Mersin (%16), 1 milyon ton ile Adana (%13) ve 690 bin ton ile Muğla (%9) illeri takip etmektedir (Anonim, 2019a). Nitekim toplam örtü altı alanlarının %86'sı Akdeniz Bölgesinde yer almaktadır. Üretim alanına direkt tohum ekimi iş gücünü artırdığından ve ekonomik olmadığından günümüzde daha ekonomik ve zamandan kazanılması açısından fide yöntemi tercih edilmektedir. Ülkemizde, örtü altında domates (%49), hıyar (%14), karpuz (%10), biber (%9), muz (%5), patlıcan (%4), kavun (%3), kabak (%3), çilek (%2) ve diğerlerinin (%2) yetiştiriciliği yapılmaktadır (Anonim, 2019a). Patlıcanın Nisan-Mayıs aylarında fide dikimi ile başlayan üretim dönemi Ağustos-Ekim ayları arasında hasat dönemi ile son bulur. Sera koşullarında patlıcanların yetiştirilme sezonlarının dışında üretime gidilmesinden dolayı, sebzelerde çok sayıda fungal hastalık ortaya çıkmakta ve önemli ekonomik zararlar ortaya çıkmaktadır.

Çizelge.1. Ülkemizde patlıcan üretim verileri (TÜİK, 2020-2021)

**Meyvesi için yetiştirilen sebzeler denge tabloları, 2020-2021**

	<b>Patlıcan</b>
<b>Üretim (Ton)</b>	835 422
<b>Üretim kayıpları (Ton)</b>	10 860
<b>Arz=Kullanım (Ton)</b>	<b>824 584</b>
<b>Arz</b>	
<b>Kullanılabilir üretim (Ton)</b>	824 562
<b>İthalat (Ton)</b>	22
<b>AB 27 (Ton)</b>	4
<b>Kullanım</b>	
<b>Yurt içi kullanım (Ton)</b>	<b>789 926</b>
<b>İnsan tüketimi (Ton)</b>	710 933
<b>Kayıplar (Ton)</b>	78 993
<b>İhracat (Ton)</b>	34 658
<b>AB 27 (Ton)</b>	12 434
<b>Stok değişimi (Ton)</b>	-
<b>Kişi başına tüketim (Kg)</b>	8,5
<b>Yeterlilik derecesi (%)</b>	104,4

Kapoor'a (2008) göre, yaygın olarak üretilen patlıcan çeşitlerinin çoğu fungal hastalıklara duyarlıdır ve kontrolü için sıklıkla fungusit kullanımına gidilir. Fungal enfeksiyondan kaynaklanan patlıcan üretimindeki kayıplar %50'den fazladır (Tsitsigiannis ve ark. 2008). Patlıcanda kalite ve verimi düşüren toprak kökenli bazı fungal hastalıklar (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora* spp., *Botrytis cinerea* (hava kökenli de olabilir), *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phomopsis vexans*, *Colletotrichum melongenae*, *Verticillium albo-atrum*, *Alternaria solani*) vardır.

Fungal hastalıkların yayılmasını önlemek için bitkilerdeki enfeksiyonun erken izolasyonu ve tanımlanması açısından önemlidir. Bu nedenle, fungal patojenlerden kaynaklanan hastalıkların enfeksiyonlarını önlemek için çalışma ve kontrol olasılıklarını keşfetmeye ihtiyaç vardır. Fungal hastalıklar, ürün rotasyonu, dayanıklı çeşitlerin kullanımı ve fungusitler gibi bazı yaygın stratejilerle yönetilebilir. Tüm bu yöntemler arasında fungusit kullanımı gibi geleneksel yaklaşımlar en etkili yöntemdir ancak gelişigüzel kullanımı rizosfer

mikroflorasının bozulmasına yol açar (Lewis ve ark.,1996), bu nedenle çiftçiler hastalıkların kontrolü için alternatif yöntemlerin kullanımına yönelmektedir. Böylesi umut verici bir strateji, biyokontrol ajanlarının kullanılmasıdır. Sürdürülebilir tarımın yanı sıra bitki gelişimini ve büyümesine katkıda bulunduğu için biyoajanlar aracılığı ile biyolojik mücadele önemli bir konu başlığıdır ve uzun süredir araştırma konusu olmakla birlikte ve dünya çapında belirli bölgelerde mevcut olan ve pazarlanan geniş bir ürün yelpazesiyile sonuçlanmıştır. Çevre dostu fungusitlerin yetersizliği, patojenlerde fungusit dayanıklılığının ortaya çıkışı ve patojen popülasyonlarının konukçu dayanıklılığını kırması (Mc Donald ve Linde, 2002) alternatif mücadele yöntemleri geliştirilme çabalarının altında yatan nedenlerdendir. Bu nedenle yapmamız gereken, bitkinin ve rizosferin doğal işleyişine müdahale etmeden fitopatojenleri seçici olarak hedefleyen bir strateji tasarlamaktır.

Bu çalışmanın amacı, bakteriyel antagonistlerin *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium proliferatum*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ochraceous*, *Penicillium digitatum*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*'ya karşı etkinliğini değerlendirmektir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Patlıcanda kök bölgesi fungusları ile ilgili çalışmalar

Antalya, Mersin ve Samsun illerinde survey yapılan alanların sırasıyla, ortalama % 40, % 60 ve % 50'sinin solgunluk hastalıkları ile bulaşık olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma kapsamında, Antalya, Mersin ve Samsun illeri ve ilçelerinde inceleme yapılan sera/tünellerde solgunluğa neden olan patojenlerin *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* ve *Verticillium dahliae* oldukları belirlenmiştir (Altınok ve ark., 2012).

*Fusarium* solgunluk etmeni *Fusarium solani* f.sp. *melongena*, dünya çapında patlıcan yetiştirilen bölgelerde yıkıcı bir hastalık olarak kabul edilmektedir (Beckman, 1987; Bondad-Reantaso ve diğerleri, 2005). Hatta bazıları insanlarda hyalohifomikoz, mikotik keratit ve onikomikoz gibi hastalıklara neden olan fırsatçı patojenlerdir. *Fusarium* türleri, bitki patojenik yapıları nedeniyle kötü bir şöhrete sahip olsalar da, *Fusarium proliferatum* BRL1 gibi bazı endofit türleri, bitki büyüme destekleyicisi olarak kullanılmıştır (Bilal ve diğerleri, 2018). Simptomlar basta yapraklarda hafif sararma ve üst yapraklarda solma olarak ortaya çıkar. Genç köklerden bitkiye giren *Fusarium* sp., makro ve mikrokonidileriyle iletim demetlerini tıkayarak su ve besin elementlerinin taşınmasını engellemekte, alt yapraklardan üst yapraklara doğru bitkide genel bir solgunluğa neden olmakta ve şiddetli enfeksiyonlarda bitkiyi tamamen kurutabilmektedir (Altınok, 2005). Solma ilerledikçe, yapraklar cansız yeşil renginden kahverengiye dönebilir ve bitkiye bağlı kalabilir. Gövde ve köklerden enine kesit alındığında iletim demeti dokularında kahverengileşmeler görülür. *Fusarium* solgunluğunda kortikal çürüme sonucu yer altı gövdeleri kuru ve kahverengi olurken, kökler yumuşak ve sulu bir görünüme sahip olabilir. Bodurlaşma, olgunlaşmamış meyve solgunluğu, alt yaprakların sararması, apikal kısmın sarkması, iletim demetlerinin esmerleşmesi ve tüm bitkinin nihai olarak kuruması ciddi belirtilerdir. *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Streptomyces*, *Fusarium* sp. 'a karşı yaygın olarak kullanılan bakteriyel biyokontrol ajanlarıdır (Daguerre ve ark., 2014).

Patlıcanda kök çürüklüğü ve çökerten etmenleri (*Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia* spp.) ile enfekteli fidelerin kök boğazı çürür ve ardından bitkiler toprağa devrilirler. Hastalık hem çıkış öncesi hem de çıkış sonrası homojen bir yayılım göstermez ve ocaklar halinde fideler de ölümler görülür. Çimlenen tohumlar, ilk aşamada

fungus tarafından enfekte edilir. Enfeksiyon daha sonra hipokotillerin bazal gövdesine ve gelişen köklere yayılır. Devrilme aşaması bitkinin kök boğazındaki genç dokuları enfekte ederek başlar. Hastalanan fideler soluk yeşil olur ve kök boğazında kahverengimsi lezyonlar bulunur, bu da fidelerin devrilmesine neden olur.

*Rhizoctonia* etmeninin yaygın olmasının sebebi onun çevreye uyma yeteneğinin güçlü olmasıdır. Hastalık belirtileri konukçulara göre değiştiği gibi, aynı konukçunun farklı gelişme dönemlerine ve çevre koşullarına göre de değişebilir (Onoğur, 1996). Soğuk ve nemli havalarda patlıcan gibi yere yakın gelişen sebzelerde *Rhizoctonia* çürüklüğünün görüldüğünü rapor etmektedir (Karaca, 1974).

*Macrophomina phaseolina* patlıcan bitkisinde kök çürüklüğü ve solgunluk hastalığına neden olan etmenlerden biridir. Fide döneminde çökerten olarak kendini gösterir. Toprakta oluşturdukları dayanıklı yapılar olan sklerotlarla toprakta uzun yıllar konukçuları olmaksızın canlı kalabilmektedirler (Punja ve Rahe, 1992; Mihail, 1992; Sneh ve ark., 1997; Katan ve ark., 2012; Malcolm ve ark., 2013; Katan, 2017). Özellikle ılıman iklim bölgelerinde ve inokulumun fazla olduğu örtü altı ve açık alan sebze yetiştiriciliği yapılan alanlarda önemli ürün kayıpları meydana getirirler. Bitkinin yetişkin döneminde kök, kök boğazı ve gövde kısımlarında nekrozlar görülür. Etmen bitkinin kök boğazından giriş yaparak gövdeye doğru ilerler ve gövde özünün boşalmasına ve çürümesine neden olur. Bu karakteristik belirtilerinden dolayı hastalığa “özü kuru” adı verilir. Hastalık şiddeti toprak sıcaklığı (30-42°C), düşük nem oranı, uygunsuz çevre koşulları ile gelen stresle birlikte artmaktadır. Bitki sıklığının fazla olması, sıcak dönemler, aşırı miktarda azotlu gübre kullanımı ve beraberinde gelen kuraklık, dolu ya da zararlılar hastalığın gelişimini olumlu yönde etkiler (Anonim 2009). Etmen Türkiye’de ilk kez 1942’de İzmir ve Ankara’da pamuk, anason, susam, tütün, patates, biber ve patlıcanda saptamıştır (Karaca, 1974).

*Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. ekonomik, ekolojik ve tıbbi açıdan önemli ve büyük cinslerdir. *Penicillium* sp. konukçu dokusunu direkt penetrasyon yeteneğine sahip olmayıp saprofitik beslenme özelliğine sahiptirler. Bitki dokularına giriş yapabilmeleri için mutlaka bitki dokuları zedelenmelidir. Ülkemizde özellikle hasat, nakliye ve depolama işlemleri sırasında bu tür ürünlerde ciddi oranda çürümelerine neden olabilir. Ürettikleri sporlar insan sağlığı açısından tehlikeli olduğu için çalışmamızın *in vitro* aşamalarında maske kullanılmıştır. *Aspergillus* ve *Penicillium* türleri, depolanan gıdalarda yaygın olarak kontaminant olarak bulunur. Ayrıca morfolojik özellikleri teşhis için ortak olarak kullanılmaktadır. Turunçgil meyvelerinde görülen ve yeşil çürüklüğün etmeni olan *Penicillium digitatum*'un özellikle Akdeniz Bölgesinde her zaman bulunduğunu ve takiben %5 oranında meyve çürümelerine sebep olmaktadır (Karaca, 1968). *Penicillium* sp.'nin oluşturduğu hastalığın ürünün depolanması sırasında düşük depolama sıcaklığına maruz kalarak bundan zarar görmesi veya herhangi bir doku zedelenmesi sonucu oluştuğu bildirilmiştir (Snowdon, 1991). *Penicillium digitatum* çürüklüğünün, uygun depolama sıcaklığı ve doku tahribatının önlenmesinin yanı sıra ürünün düşük oksijen (%3) ve yüksek karbondioksit (%3-%5) ortamında tutulmasıyla önlenebileceğini rapor edilmiştir (El-Grooni ve Sommer, 1981).

Araştırmamızın başrolü olan PGPR, rizosferin doğal toprak sakinleri olmakla birlikte bitkinin iç doku ve yüzeyinde mükemmel bir koloni kurma yeteneğine sahip biyokaynaklardır. Bitkilerde kuraklık stresinin zararlı etkilerini etkili bir şekilde yenebilirler (Sati ve diğerleri, 2022). *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ve *Serratia*, bitkilerle ilişkili yaygın PGPR cinsleridir (Abdelaal ve diğerleri, 2021). PGPR'in biyoinokulantlar olarak yeni ve geniş bir potansiyele sahip olarak ortaya çıkan yeni suşları vardır; bu bakterilerin çoğunun, fitohormonlar, amino asitlerin sentezi yoluyla doğal koşullar altında farklı abiyotik streslere maruz kalan çoğu mahsulde besin varlığı ve nitrojen fiksasyonunun artırılması ile büyüme özelliklerini ve verim parametrelerini iyileştirebileceğini göstermektedir (Alkahtani ve diğerleri, 2020a,b). PGPR, indol asetik asit (IAA), gibberellinler, sitokinler, sideroforlar, 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz ve manganez, çinko ve fosfor gibi önemli besin maddelerinin üretimi ile, verimsiz toprakları verimli topraklara dönüştürebilir. Ayrıca bir bitkinin kuraklık stresi, tuzluluk ve hastalıklar gibi diğer uygunsuz koşullara karşı stresini azaltarak gelişimini teşvik edebilirler.



Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPR) ayrıca, bitkilerde hem biyotik hem de abiyotik stres faktörlerine karşı indüklenmiş sistemik tolerans (IST) ve indüklenmiş sistemik direnci (ISR) sağlayan antibiyotikler gibi çeşitli etki mekanizmalarına sahiptir (Olanrewaju ve diğerleri, 2017; Fadji ve Babalola, 2020a; Akanmu ve diğerleri, 2021; Sarkar ve Rakshit, 2021). *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* son yıllarda çokça çalışma yapılmış PGPR'ler arasındadır (De Souza Vandenberghe ve diğerleri, 2017).

## 2.2. Patlıcanda kök funguslarına karşı yapılan biyolojik mücadele çalışmaları

Yapılan bir çalışmada genom madenciliği ile *Fusarium* sp.'deki efektör genlerin tahmin edilmesini, önceliklendirilmesini ve tanımlanmasını sağladığı için, bitkinin ilgili fitopatojenlere karşı sürdürülebilir genetik bağışıklığa giden yolu açabilecek konukçu-patojen etkileşimi açıklanabilmiştir. Genom madenciliği, doğal ürünlerin biyosentetik yollarının ve bunların olası etkileşimlerinin keşfedilmesi için genomik bilginin kullanılmasını tanımlar (Albarano L. ve ark.,2020). ituDABC (*Bacillus* sp.) ve phlACBD (*Pseudomonas* sp.) gibi bitki büyümesini teşvik eden bakterilerdeki gen kümelerinin, *Fusarium* sp.'nin çoğalmasını kontrol etmek için sırasıyla iturin ve 2,4-diasetilfloroglusinol üretiminde yer aldığı belirlenmiştir (Patel R. Ve ark., 2022).

Yapılan bir çalışmada ise fungal patojenin hücre duvarını parçalayıcı enzim (kitinaz ve  $\beta$  1-3 glukanaaz) bulunduran *T. harzianum*, *T. viride*, *T. lignorum*, *T. hamatum* ve *T. reesei* ile patlıcan bitkisinde *Fusarium* solgunluk etmeninin kontrolünü sağlanmaya çalışılmıştır. *In vitro* da hepsi % 100 başarı gösterirken tarla koşullarında ise *Trichoderma harzianum* ve *Trichoderma viride* biyoajanları topraktaki *Fusarium solani* popülasyonunu azaltmıştır (Chakraborty ve ark., 2008).

Yapılan bir diğer çalışmada, *Ocimum basilicum* (fesleğen) sağlıklı yapraklarından endofitik *Aspergillus terreus* ON380424 izole edilmiştir ve *in vitro* ve *in vivo* olarak *Alternaria solani*'ye karşı umut verici ve güvenli bir alternatif antifungal ajan olarak kullanılabilceği ortaya konmuştur. Aynı zamanda çalışmadan elde edilen umit verici bir diğer sonuçlar ise, endofitik *Aspergillus terreus* ON380424'ün patlıcanın

sistemik direncini arttırdığını ortaya koymaktadır. *Aspergillus terreus* izolatu, hastalık şiddetini %29.16.0 oranında azaltmış ve enfekteli bitkilerle karşılaştırıldığında %66.67 oranında yüksek koruma kaydetmiştir. Ek olarak *Aspergillus terreus* ile tedavi edilen enfekteli bitkiler, sürgünlerin ve köklerin uzunluğu ve bitki başına yaprakçık sayısı açısından en güçlü etkiyi göstermiştir (Attia ve ark.,2022). Yapılan bir başka çalışmada *Bacillus safensis* RF69, *Bacillus* sp. RP103 ve *Bacillus* sp. RP242'nin Aflatoksin B1 (AFB1) üreticisi *Aspergillus flavus*'a karşı biyokontrol yeteneklerini değerlendirmek amaçlanmıştır. Tüm *Bacillus* suşları, *Aspergillus flavus* un misel büyüme hızını, konidial çimlenmeyi ve canlılığı *in vitro* olarak azaltabilmiştir (Einloft, 2021). Liu ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı bir çalışmaya göre, *Bacillus velezensis* HC6, *Aspergillus* ve *Fusarium* dahil olmak üzere patojenik fungus ve bakteriler (özellikle *Listeria monocytogenes*) üzerinde antagonistik etki göstermiştir. Ul Hassan ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptığı bir çalışmaya göre, *Bacillus licheniformis* BL350-2'nin *Aspergillus* ve *Penicillium*'un mikotoksijenik suşlarına karşı antagonistik aktivitesini araştırmak için tasarlanmıştır. 5 gün boyunca *in vitro* koşullarda *Penicillium verrucosum* MC12 %53 ve *Aspergillus ochraceus* MD1 %44 oranlarında bir inhibisyon gözlenmiştir.

Başka bir çalışmada patlıcan yetiştiriciliğinde *Botrytis cinerea*'nın biyolojik mücadelesinde en etkili iki bakteri suşunun biyokontrol ajanı olarak *in vitro* ve *in vivo* koşullarda *Pseudomonas chlororaphis* susp. *aurofaciens* ve *Bacillus amyloliquefaciens* *Botrytis cinerea*'ya karşı etkili olmuştur (Akça ve Tozlu, 2022).

Yapılan bir diğer çalışmada ise endofitik bakterilerin antagonistik aktivitelerini belirlemek için *in vitro* ve sera deneyleri yapılmıştır. Söz konusu bakterilerden olan *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes* ve *Pseudomonas mendocina*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium semitectum* ve *Macrophomina phaseolina*'nın neden olduğu kök çürüklüğü şiddetini ve patlıcan fidelerinin insidansını azaltma potansiyellerini göstermiştir. Endofitik bakteriler, bitki direncini indükleme ve enzimleri olumlu yönde etkileme yeteneğine sahiptir. Bu çalışma, endofitik *Pseudomonas* spp.'nin farklı bitki türlerinden izole edilebileceğini ve bu endofitik bakterilerin farklı formüllerde patlıcandaki kök çürüklüğü enfeksiyonunu azaltma ve bitki büyümesini desteklemede rol oynayabileceğini göstermiştir (Emam ve ark.,2022).

1932'de Weindling, bir *Trichoderma* izolatının *Rhizoctonia solani*'nin narenciye fidelerinde neden olduğu hasarı azaltabildiğini gösteren ve bazı olası etki mekanizmalarını açıklayan birkaç makale yayınlamıştır (Weindling, 1932, 1934, 1941). Günümüzde, *Trichoderma* sp. dünya çapında biyokontrol ajanı olarak en yaygın kullanılan etmenlerdir (Lorito ve diğerleri, 2010).

Bir çalışmada, organik atıklardan hazırlanmış kompostlar toprak kökenli hastalıklara karşı etkin antagonistik etkiye sahip bakterilere konukçuluk ettiği olgusu üzerine yürütülen bu çalışmada antagonistik potansiyele sahip bakteri izolatlarının çoğunluğunu farklı *Bacillus* spp.'a ait izolatlar (% 73.3) oluşturmuştur. Farklı kompost materyallerinden izole edilen bakteriler arasında *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*'e karşı en yüksek antagonistik etki %48.33 engelleme oranı ile *Entereobacter gergoviae* K4B:4:7:1 izolatı tarafından gösterilmiş olup, bu izolatı sırasıyla *Bacillus cereus* K1B:4:8:1 (%47.5), *Salmonella typhimurium* K5B:1:4:3 (% 46.67), *Bacillus amyloliquefaciens* K5B:0:5:1 (%43.33) ve *Bacillus subtilis* K3B:4:8:1 (%40.83) izolatları izlemiştir.

Başka bir çalışmada ise, toprak örneklerinden elde edilen 88 *Trichoderma* izolatından *in vitro* koşullarda *Macrophomina phaseolina*'ya karşı en etkili bulunan 15 izolatın morfolojik ve moleküler tanımlama sonucunda *Trichoderma afroharzianum*, *T. guizhouense*, *T. harzianum* olduğu belirlenmiştir. *Trichoderma guizhouense* ülkemizde ilk kayıttır. Ayrıca bu izolatların siderefor, selülaz, kitinaz aktivitesinin pozitif olduğu saptanmıştır. *T. afroharzianum* Tr138 ve Tr132 izolatlarının sekonder metabolitleri bitki gelişimini teşvik ettiği gibi *M. phaseolina*'nın gelişimini sınırlandırdığı belirlenmiştir. Arazi çalışmasında *Trichoderma* izolatlarının uygulandığı parsellerde *M. phaseolina* popülasyonunun azaldığı, bitki ölüm oranının kontrole göre daha düşük olduğu ve %25-%37 verim artışı sağlamıştır. Aydın ili tarım alanlarından elde edilen *Trichoderma* türlerinin bitki gelişimini teşvik ettiği, verim artışı sağladığı ve çilekte kömür çürüklüğü hastalığının mücadelesinde kullanılabileceği ortaya konmuştur (Korkom ve ark., 2022)

Biyolojik mücadele, bir patojenin hayatta kalmasının veya aktivitesinin başka bir canlı mikroorganizma (fungus/bakteri) aracılığıyla engellendiği veya azaltıldığı ve bunun sonucunda patojenlerin neden olduğu hastalık insidansında azalmanın görüldüğü kimyasal mücadeleye karşı alternatif bir yoldur.

Floresan *Pseudomonas*'lar ve *Bacillus* sp. patojenlerin baskılanmasında önemli rol oynarlar. PGPR'lar tarafından üretilen ve antiviral, antimikrobiyal, antioksidan, sitotoksik, antitumor ve bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip olan antibiyotikler şunlardır: 2,4 diasetil floroglusinol, fenazin-1-karboksilik asit, fenazin-1-karboksamit, pyoluteorin, pirolnitritin, oomycinA, viscosinamide, butirolaktonlar, kanosamin, zwittermycin-A, aerugine, ramnolipitler, cepaciamide-A, ekomisinler, pseudomonik asit, azomisin, antitumor antibiyotikler FR901463, cepafunginler ve antiviral antibiyotik karalycin (Siddiqui, 2005).

Bakteriyel biyoajanlar ile patojenler arasındaki ilişkileri açıklayan 5 ana mekanizma vardır: Rekabet, hipovirulens, hiperparazitizm, antibiyosis ve sistemik dayanıklılık. Antibiyosis, biyoajan bakteriler tarafından üretilen antibiyotikler ile fitopatojenlerin popülasyonunun çoğalmasında engelleyebilen en etkili mekanizmalardan biridir. Bu duruma ilk örnek *Pseudomonas fluorescens* strain 279 ve *Pseudomonas aureofaciens* strain 3084 tarafından üretilen phenazine buğdayda karapas etmenine karşı etkili olmuştur (Weller ve Cook,1983; Brisbane ve Rovira, 1988).

Rekabet, rizosfer bölgesinde kolonize olan biyoajanlar bitki tarafından salgılanan eksudatlar karbon kaynağı olduğu için patojen ile bir yarış haline girerler ve biyoajanlar patojenlere göre üstün karbon parçalama yeteneği ile patojeni baskılayabilirler. Ayrıca demir ( $Fe^{+3}$ ) mikroorganizmalar için önemli bir besin kaynağıdır. Bu sebeple demir ihtiyaçların sideroforlar ile karşılarlar. Sideroforlar düşük molekül ağırlıklı proteinler oldukları için demir iyonlarına bağlanarak siderofor-demir komplekslerini bakteri hücresi bünyesine alabilir. Bu sayede özellikle demir elementi yönünden zayıf topraklarda siderofor üreten biyoajanlar, demirle kompleks oluşturarak patojeni baskılar.

Hiperparazitizm, biyoajanlar patojenlerin hücre duvarlarını ürettikleri hidrolitik enzimler (proteaz, selüloz, B-1,3 glukanase ve kitinaz) ile bozup eritebilir. Bu rekabet yer açısından da olabilir.

Hipovirulens ise düşük virulensiğe sahip genlerin yüksek derecede hastalandırma genleri taşıyan organizmalara aktarılması sonucunda bu virulent patojenlerin hastalık oluşturamaz duruma gelmesi temeline dayalı bir etkileşim tipidir.

Sistemik dayanıklılık ise, biyoajanlar ile konukçu bitkilerin sistemik dayanıklılık mekanizmalarını aktif hale getirmesiyle tanımlanabilir. 3 başlık altında incelenir; çapraz koruma, indüklenmiş sistemik dayanıklılık (ISR), sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR). Çapraz koruma (Cross protection), biyoajanların konukçu bitki dokusunda antibiyosis, rekabet, hifsel interferans veya hiperparazitizm gibi mekanizmalarla veya her hangi biriyle patojen popülasyonunun baskılama da rol oynar. İndüklenmiş sistemik dayanıklılık (ISR), biyoajan veya zayıf virülensiğe sahip bir patojenin gerçek bir patojen gibi davranarak, konukçu bitkinin savunma sistemini harekete geçirerek tetikte olmasını sağlayan bir mekanizmadır. Karanfilde *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*'ye karşı *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417'nin antagonistik aktivitesi test edildiğinde, bakterinin, bitki kök sistemiyle sınırlı kaldığı halde, patojen gövdeye kesilerek inokule edildiğinde hala koruyucu oldukları bulunmuştur. Bu durumda rizobakteriler ile patojenin bitki üzerinde hiçbir zaman birbiriyle temas etmediği tespit edildiğinden, koruyucu etkinin bitki aracılı olması gerektiği anlaşılmıştır (Van Peer ve ark., 1991).

Sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR), konukçu üzerinden sağlanan bir biyolojik savaş olanağını kapsar. Antagonistin kimi salgıları ya da içerdiği kimi kimyasal maddeler konukçu bitkide patojene karşı dayanıklılık sitemlerinin çalışmasını ya da harekete geçmesini sağlar. Konukçunun artan savunma etkinliği patojeni konukçuda engeller. Özellikle, bitki köklerini kolonize eden non-patojenik kök bakterileri hastalıkları baskılama ve konukçu bitkide sistemik dayanıklılığı uyurma (ISR) özellikleri yönünden ön plana çıkmıştır (Aslan ve ark.,2005).

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Bitki Materyali**

Çalışmada kullanılan bitki materyalleri Amasya'nın Sevincer, Karaköprü ve Karasenir mevkileri, Konya-Alakova, Karaman ilinin en çok yetiştirilen köylerinden, Aydın ili Söke İlçesi, Antalya ili Manavgat ilçesi, Kayseri ili gibi patlıcan üretimi yapılan tarla ve sera alanlarından hastalıklı bitkilerle çalışılmıştır.

##### **3.1.2. Toprak Materyali**

Çalışmada kullanılan Amasya, Konya, Karaman, Aydın, Antalya, Kayseri, Muğla ve Konya'daki patlıcan üretim alanlarındaki enfeksiyonlu veya enfeksiyonsuz bitkilerin kök bölgesinden toprak örnekleri alınmıştır.

##### **3.1.3. Denemede Kullanılan Kök Funguslar**

Çalışmada kullanılan *Aspergillus nidulans*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus ochraceus*, *Trichoderma* spp., *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium proliferatum* Amasya'nın Sevincer, Karaköprü ve Karasenir mevkilerinden patlıcan üretimi yapılan hastalıklı bitkilerin kök kısımlarından elde edilmiştir.

##### **3.1.4. Denemede Kullanılan Rizosfer Bakteriler**

Çalışmada kullanılan 22 adet bakteri Aydın, Amasya, Muğla'nın Fethiye ilçesi, Antalya'nın Manavgat ilçesi ve Konya'daki patlıcan üretim alanlarındaki hastalıklı doku parçaları ile enfeksiyonlu veya enfeksiyonsuz bölgelerden alınan bitkilerin rizosfer bölgesinden izole edilmiştir.

### 3.1.5. Kullanılan Besi Yerleri

#### 3.1.5.1. Nutrient Agar (Clesceri ve ark., 1998)

Alınan toprak örneklerinden izole edilen bakterilerin kültürü için kullanılmış olup g/lt olarak aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Beef Extract	3,0 g
Peptone	5,0 g
Agar	20,0 g
pH	7,2

#### 3.1.3.2. Potato-Dekstroz Agar (Dhingra ve Sinclair, 1995)

Patates Dekstroz Agar (PDA), fungusların kültivasyonunda kullanılır ve bakteri üremesini engellemek için asit veya antibiyotiklerle desteklenebilen bir besiyeridir. Patates infüzyonu besin açısından zengin baz görevi görür ve funguslarda sporlanmayı teşvik eder. Besi ortamı aşağıda belirtildiği gibi g/lt olarak hazırlanmıştır;

Potato Extract	4,0g
Dextrose	20,0g
Agar	20,0g
pH	6,8

Fungusların izolasyon aşamasında PDA, yukarıda belirtilen ölçülerde hazırlanıp 121°C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra soğutulup 40 mg streptomisin sülfat/100 ml eklenmiştir.

### 3.1.3.3. Su Agarı (SA)

Fungus izolasyonunun basamaklarından biri olan tek spor aşamasında kullanılan bu besi yeri, aşağıda belirtilen ölçülerde hazırlanmıştır.

Agar 20.0g

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Bitki ve Toprak Örneklerinin Toplanması

Hastalıklı ve sağlıklı bitki örnekleri enfeksiyonlu bölgelerde takibi yapılarak toplanmıştır. İlk örnekler Amasya'dan Ağustos 2019 tarihinde 10 adet alınmıştır. 2019-2021 yılları arasındaki patlıcan hasadına yakın olan ve solgunluk simptomlarını gösterdiği dönemlerde (Ağustos-Eylül-Ekim-Kasım) Antalya, Kayseri, Karaman, Konya, Muğla, Aydın ve Amasya'da patlıcan üretiminin yapıldığı yerlere gidilerek güdümlü örnekleme esasına göre hastalıklı ve sağlıklı bitkiler kökleriyle beraber sökülüştür. Kök kısmını çevreleyen topraktan 1-2 kg alınıp poşetlere alındıktan sonra bitkilerin kökleri ayrı poşetlere konulup etiketleri oluşturularak laboratuvara getirilmiştir. Etiketlere tarlanın yeri, örnek alınan tarihi ve tarla sahibinin ismi yazılıp kimlik oluşturulmuştur. Simptom gösteren bitkiler fotoğraflanmıştır.

### 3.2.2. Fungal İzolasyon

Toplanan bitki örnekleri laboratuvara getirilip, hastalıklı bitkilerin köklerinden 0,5-1 cm arası dokular steril bisturi yardımıyla kesilerek sterilizasyon işlemine geçilmiştir. Sterilizasyon işlemi 5 adımdan oluşmaktadır. İlk adımda 100 ml suya %1 NaClO eklenmiştir. Doku parçaları bu çözeltide 3 dakika bekletilmiştir. Sonra steril pens yardımıyla 3 kez 100 ml'lik steril saf suda 3'er dakika bekletilerek kurutma kâğıdına aktarılmıştır. Dokuların kuruması için laminar kabinde 1 gece bekletilmiştir. Daha sonrasında doku parçaları PDA (Potato Dextrose Agar) ortamında, her petriye 4-5 parça olacak ekilmiştir. Gelişmeleri için 25°C'deki inkübatore konulmuştur. 2. günden



itibaren kontrol edildiğinde saprofit gelişenler atılıp karışık gelişim gösteren petrilere PDA (Potato Dextrose Agar) ortamına aktarım yapılarak saf kültür elde edilmiştir.



Şekil.1. Fungal izolasyonu için araziden toplanan patlıcan bitkilerinden bir örnek

### 3.2.2. Tek Spor İzolasyonu

7 günlük 24-25°C'de PDA ortamında gelişen *Fusarium* preparatların uç kısmından steril öze yardımıyla alınıp içerisinde 1000µl steril saf su bulunan ependorf tüpe aktarılmıştır. Diğer aşamada söz konusu ependorf tüp 30 saniye vortexlenmiştir. Homojen olan bu tüpten steril pipet yardımıyla 30µl alınıp içerisinde yine 1000µl saf su bulunan ependorf tüpe aktarılmıştır. Bu tüpte 30 saniye vortexlenmiştir. 2 kez seyreltme işleminden sonra son tüpten yine steril pipet yardımıyla 30µl alınıp %2'lik su agara (20,0g Agar-100ml su- 30 ml Streptomycine çözeltisi) ekimi yapılmıştır. Daha sonrasında bu preparatlar 20±5°C'de 12 saat karanlık ve 12 saat aydınlık dönüşümlü olan inkübatore konulmuştur. 12-18 saat sonrasında mikroskop ile petrilere kontrol edildiğinde çim borusu oluşturan sporelerden steril bisturi yardımıyla kesilerek 40mg Streptomycine/100ml bulunan PDA ortamına ekimi yapılmıştır. Gelişmeleri için 25°C'lik inkübatore konulmuştur (Altug,2001).

7-10 haftalık gelişim takip edildikten sonra funguslar daha sonrasında kullanılmak üzere 3 adet saklama yöntemine başvurulmuştur. Birincisi eğik agara aktarılıp +4°C'de saklanmıştır. İkincisi %15'lik gliserol süspansiyonu bulunan ependorf tüplere *Fusarium* kolonileri -80°C'de saklanmıştır. Üçüncü yöntem ise uzun süreli

saklama yöntemi olan Whatman filtre kâğıtlarında inkube edilen *Fusarium* kolonileri - 80°C’de saklanmıştır.

### **3.2.3. Fungal İzolatların Tanımlanması**

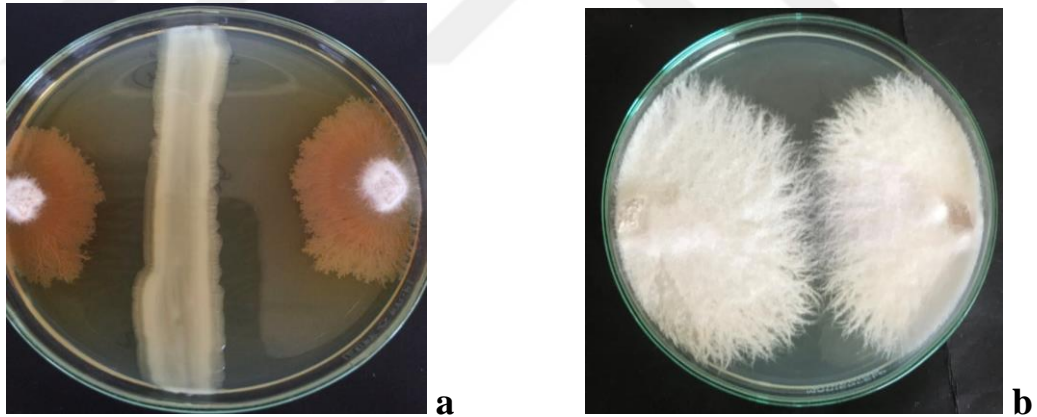
Amasya, Konya ve Karaman bölgelerinden toplanan hastalıklı ve sağlıklı bitki örneklerinden kesilen doku parçalarından elde edilen yaklaşık 200 adet fungus arasından rastgele seçilen 8 adet farklı saf fungus preparatları matriks yardımcı lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süreli kütle spektroskopisi (MALDI-TOF MS) cihazı ile (Bruker Microflex LT Biotyper, Bruker Daltonics, Bremen, Germany) yoluyla karakterize edilmiştir. MALDI-TOF sistemi doğrudan bakteriden lazer ile elde edilen protein profillerinin cihaz tarafından kütüphanesinde tanımlı izolatlar ile karşılaştırılma prensibine dayanan en son teknolojik bir tanımlama sistemidir (Soylu ve ark. 2020).

### **3.2.4. Toprakta Rizosfer Bakterilerinin İzolasyonu**

İzolasyon aşamaları (Kusek, 2007) referansı ile yapılmıştır. Tarlalardan alınan rizosfer çevresindeki toprak örneklerinden 10g alınıp 250ml lik erlenlere konularak 90ml fizyolojik serum eklenmiştir. Su banyosunda 25°C’de 30 dakika çalkalandıktan sonra bu süspansiyondan mikropipetle 1 ml alınarak içerisinde 9 ml steril saf su bulunan ependorf tüplere aktarılmıştır. Seriler halinde hazırlanana bu süspansiyonlardan NA (Nutrient Agar) ortamına drigasti spatula ile yayıp gelişmeleri için 27°C’deki inkübatore 1 gece bekletilmek suretiyle konulmuştur. 10 ve 10<sup>-2</sup> seyreltmelerde makromorfolojik gözlem yapıldığında farklı ve tek düşen kolonilerden steril öze yardımıyla saflaştırma yapılmıştır. Elde edilen bakteri kolonileri +4°C’de %30’luk gliserol ve 500µl Nutrient broth konularak daha sonra kullanılmak üzere saklanmıştır (Bozkurt, 2016).

### 3.2.5. Rizosfer Bakterilerin Funguslara Karşı *in vitro* da Etkinliklerinin İncelenmesi

Potansiyel antagonist bakterilerin, patlıcanda kök fungusları ile arasındaki antibiyosis ve hiperparazitizm mekanizmasıyla çalışan ilişkilerini testlemek amacıyla (Rodriquez ve ark., 2011) dual (ikili) kültür denemeleri yapılmıştır (Xiaoning ve ark., 2014). Denemeler 1 kontrol ve 3 tekerrür olmak üzere kurulmuştur. Rizosfer bakteri izolatları *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ochraceous*, *Penicillium digitatum*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium proliferatum*'a karşı PDA besi ortamında testlenmiştir. Söz konusu fungusların 4-5 günlük saf PDA kültüründen alınan 5 mm'lik iki adet misel diskleri petrinin iki kutbuna konulduktan sonra, bakterilerin 24 saatlik saf NA kolonisinden öze yardımıyla alınarak aynı petriye ekvatorial olarak çizgi ekim yapılmıştır. Kontrol petrilere bakteriyel izolat çizilmemiştir. Her bakteri-fungus kombinasyonu için dual kültürler 3 tekerrürlü yapılmıştır.



Şekil.2. a) Dual kültürde bakteri ve fungus arasında görülen antibiyosis ilişkisi.  
b) Kontrol petrisi.

Daha sonra dual kültür petrilere 27°C'de inkübatore bırakılarak bazı petrilere gelişen fungus hiflerinde gözlenen morfolojik değişikliklerin incelemeleri uygulamalardan 7 gün sonra, direkt besi ortamı üzerinde gelişen miseller üzerinde gelişmeleri takip edilmiştir.

Bakteri ve fungus arasındaki interaksiyon incelendiğinde antibiyosis mekanizmasını kullanan bakterilerin fungusun miselyumunun gelişmesini engelleyerek inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür. Bu zon bölgesinin çapı aşağıdaki formülle

hesaplanarak elde edilen değer, potansiyel biyoajan bakterilerin antibiyosis etkilerini ölçmede kullanılmıştır (Xiaoning ve ark., 2014).

$$\text{Engelleme oranı (\%)} = (r_1 - r_2 / r_1) \times 100$$

Formüle göre: r1, patojenin radyal gelişimi; r2, patojen ile biyolojik ajanın radyal gelişimini temsil etmektedir (Tozlu, 2003; Ghildiyal ve Pandey,2008).

### **3.2.6. Antagonistik özellikteki bakteri izolatlarının tanılaması**

Toplanan toprak örneklerinden yaklaşık 300 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların içerisinde dual kültür testleri sonucu antagonistik özellik gösterenler MALDI-TOF MS ile karakterize edilerek tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır.

### 3.2.7. İstatistiksel Analizler

Deneme sonucu elde edilen ölçüm değerleri; engelleme oranları (%) SPSS İstatistik Programı (SPSS Inc., versiyon 17.0) ile değerlendirilmiştir.

Tek yönlü ANOVA ile veri analizi yapılarak Tukey çoklu karşılaştırma testi ( $P \leq 0.05$ ) ile faktöriyel denemeler arasındaki farklılıklar incelenmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

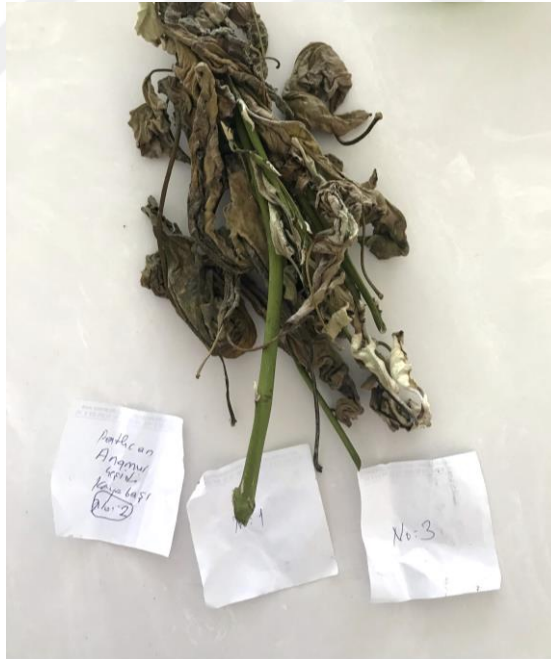
### 4.1. Patlıcan köklerinden izole edilen funguslar

Bitki ve toprak örneklerinin toplanması Ağustos ve Eylül aylarında aşılı ve aşısız patlıcan bitkilerinde hasada başlamadan gerçekleştirilmiştir. Araştırmamızı kapsayan alanlarda patlıcan yetiştiriciliği sıklıkla yapılan Amasya ili Karasenir, Karaköprü, Sevincer, İpek, Kayabaşı mevkilerinden 30 adet; Konya ili Alakova ve Hocacihan mahallelerinden 6 adet; Aydın Söke ilçesinden 2 adet; Muğla Fethiye ilçesi Çatalarık mevkisinden 2 adet toprak örneği; Antalya ili Manavgat ilçesinden 2 adet; Kayseri ili Kocasinan ilçesi Mahzemin mahallesinden 2 adet; Karaman ili Merkez ve Bostanözü - Bucakkışla köylerinden 10 adet hem sağlıklı hem hastalıklı bitki ve toprak örnekleri güdümlü örnekleme ile tarlaların büyüklüğüne göre incelenerek alınmıştır. Solgunluk ve sararma belirtisi gösteren patlıcan bitkileri sökülüp ve kök bölgesindeki topraktan 1 kg alınarak Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Moleküler Bitki Patolojisi Laboratuvarı'na getirilmiştir. 54 adet bitki ve toprak örneği üzerinde çalışılmıştır. Bitki gövdesinden boyuna kesit alındığında ksilem dokusunda nekroz görülmüştür. Çalışılan funguslardan *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium oxysporum* hasada yakın belirti gösterirler ve meyve veriminde düşüşe sebep olurlar. *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. patlıcanda hasat sonrası depo çürüklüklerine sebep olurlar. *Rhizoctonia solani* ve *Macrophomina phaseolina* ise patlıcanda kök çürüklüğü, çökerten ve solgunluk gibi hastalıklara neden olurlar. Patlıcan tarlalarında bu belirtileri gösteren hastalıklar homojen bir şekilde dağılmamıştır. Enfekteli bitki yakınındaki sağlıklı bitki toprağından da örnek alınmıştır. Bahse konu belirtiler çalışmamıza benzer oldukları için tezimizdeki sonuçları desteklemektedir.

Ağustos- Ekim aylarında patlıcan üretim alanlarına yürütülen incelemelerde toplanan örneklerin laboratuvarında izolasyonları yapılmıştır. İzolasyon aşamasında en çok görülen etmen *Fusarium* sp. olmuştur. Toplamda 272 adet fungus izole edilmiş olup makromorfolojik ve mikroskopik özelliklerine bakılarak farklı türlere ait 8 adet fungus seçilmiş ve tanılması yapılmıştır.



**Şekil.3.** Bitki materyalinin kök boğazından boyuna kesit alındığında görülen nekroz



**Şekil.3.1.** Bitki materyalinin yapraklarda kahverengileşme ve solgunluk belirtisi



**Şekil.3.2** Fungal izolasyon için toplanan hastalıklı bitki örnekleri.

Enfeksiyonun erken dönemlerinde patlıcan bitkisinin yapraklarında her hangi bir belirti olmadığı için hasada yakın dönemlerde yapraklarda sararma ve solma belirtileri ortaya çıkmaktadır. İlerleyen safhalarda ise nekroza dönüşerek bitki kurur ve ölür (Şekil.4 ve Şekil.4.1).



#### 4.2. Antagonistik özellik gösteren bakteri türleri

Toprak örneklerinden 357 adet bakteri izole edilmiştir. Çalışmada kullanılmak üzere rastgele seçilen 24 bakteriden etkili olup olmadıkları kontrol edildikten sonra 22 adet bakteri ile kök funguslarına karşı ikili kültür denemelerine gidilmiş ikili kültür denemeleri 3 tekerrür 1 kontrol olacak şekilde kurularak yapılmıştır. 2 bakteri MALDI-TOF MS yöntemi ile tanılama aşamasında üreme göstermediği için elenmiştir.

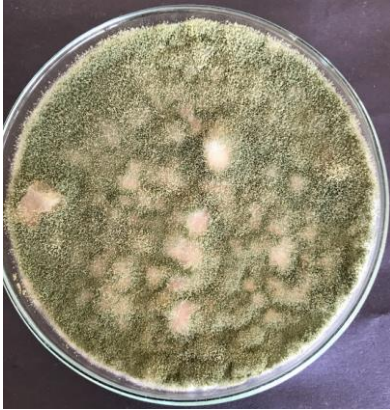
Çizelge.2. MALDI-TOF yöntemi ile tanılanan antagonist bakteriler.

İzolot No	Tür Adı	Benzerlik Oranı*
1B	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2.089
2B	<i>Lysinibacillus basiliiformis</i>	1.96
3B	<i>Pseudomonas putida</i>	1.94
5B	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.981
6B	<i>Bacillus megaterium</i>	1.868
7B	<i>Enterobacter bugandensis</i>	2.244
8B	<i>Bacillus megaterium</i>	1.733
9B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	1.794
10B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2.065
11B	<i>Bacillus subtilis</i>	1.947
12B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	1.862
13B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2.062
14B	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2.319
16B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2.049
17B	<i>Acinetobacter vivianii</i>	2.02
18B	<i>Enterobacter bugandensis</i>	2.094
19B	<i>Exiguobacterium sp.</i>	1.769
20B	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	2.051
21B	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	2.203
22B	<i>Bacillus thuringiensis</i>	1.734
23B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	2.156
24B	<i>Bacillus cereus</i>	1.978

\*Benzerlik Oranı: 2.000-2.229 güvenli cins ve olası türleri tanımlarken, 1.700-1.999 arası olası cins tanılama oranını göstermektedir.

### 4.3. Antagonistik özellik gösteren bakterilerin *in vitro* koşullarda patlıcan kök funguslarına karşı etkinlikleri

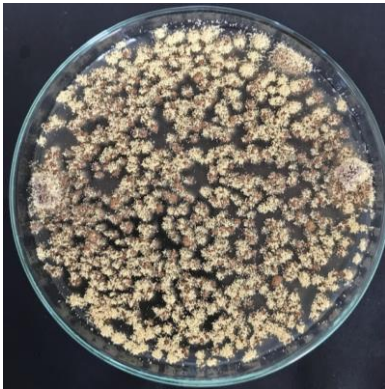
İnkübasyon dönemi sonunda 24°C de ve 7 gün PDA ortamında gelişen kök fungusları kültürel özellikleri yani koloni şekli, rengi, hif yapısı ve spor yapılarına bakılarak teşhisi yapılmıştır. 8 fungus PDA ortamında 4-5 gün içerisinde petriyi kaplayabilmektedir. *Fusarium proliferatum* mor renkli hifler oluştururken *Fusarium solani* beyaz renkli pamuksu bir morfoloji sergiler. *Fusarium oxysporum* ise beyaz renkli dallı bir hif yapısı ile gelişim gösterir. *Aspergillus nidulans*' ın miselleri 3 renkli olduğu görülmüştür. *Aspergillus ochraceous* sarı renkli koloni yapısı geliştirirken yeşil çürüklük etmeni olan *Penicillium digitatum* koyu yeşil koloniler oluşturmuştur. *Macrophomina phaseolina* ise koyu siyah renkli morfoloji oluşturmuştur. Aşağıdaki görsellerde 8 adet kök funguslarının PDA ortamında 5 günlük gelişimleri görülmektedir.



a) *Penicillium digitatum*



b) *Aspergillus nidulans*



c) *Aspergillus ochraceous*



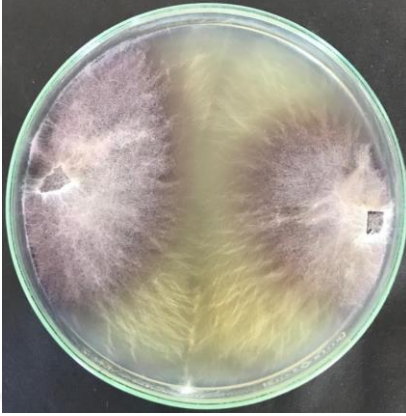
d) *Rhizoctonia solani*



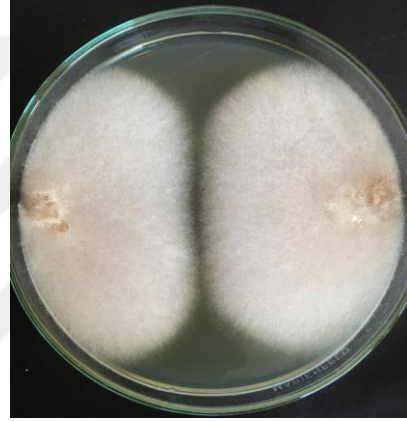
e) *Macrophomina phaseolina*



f) *Fusarium oxysporum*



g) *Fusarium proliferatum*



h) *Fusarium solani*

**Şekil.4.** Toplanan bitki örneklerinden izole edilen kök funguslarının PDA görüntüleri (a,b,c,d,e,f,g,h)

Toprak örneklerinden izole edilen 357 bakteri arasından rastgele seçilen 24 bakterinin önce etkili olup olmadığı incelendikten sonra 8 adet fungusu karşı ikili kültür denemeleri 3 tekerrür 1 kontrol olacak şekilde kurularak yapılmıştır.

**Çizelge.3.** Bakteri izolatlarının patlıcan köklerinden izole edilen funguslara karşı *in vitro* da etkinlikleri

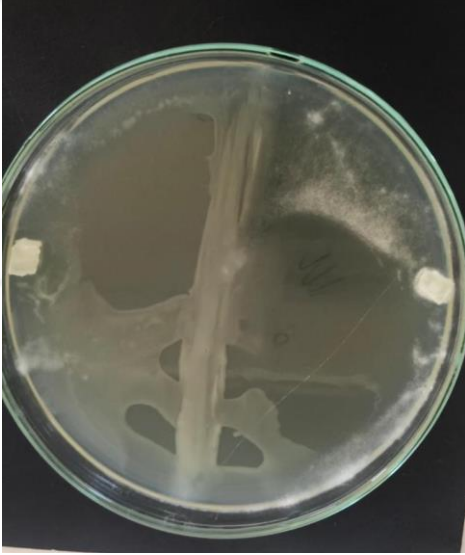
KOD NO	BAKTERİLER	ENGELLEME ORANLARI (%)							
		<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. proliferatum</i>	<i>A. nidulans</i>	<i>P. digitatum</i>	<i>A. ochraceous</i>	<i>R. solani</i>	<i>M. phaseolina</i>
1B	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	46,65 <sup>u</sup>	36,6 <sup>v</sup>	37,7 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
2B	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	36,6 <sup>v</sup>	25,5 <sup>v</sup>	38,8 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
3B	<i>Pseudomonas putida</i>	33,3 <sup>v</sup>	100 <sup>a</sup>	23,3 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
5B	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	57,75 <sup>k</sup>	77,75 <sup>c</sup>	23,3 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
6B	<i>Bacillus megaterium</i>	47,75 <sup>t</sup>	42,2 <sup>y</sup>	38,85 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
7B	<i>Enterobacter bugandensis</i>	0	54,4 <sup>n</sup>	26,6 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
8B	<i>Bacillus megaterium</i>	0	0	44,4 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
9B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	42,15 <sup>v</sup>	55,5 <sup>m</sup>	57,7 <sup>k</sup>	0	0	0	0	0
10B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	42,2 <sup>y</sup>	100 <sup>a</sup>	26,6 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
11B	<i>Bacillus subtilis</i>	74,4 <sup>f</sup>	88,85 <sup>b</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>d</sup>	60 <sup>j</sup>	100 <sup>a</sup>	42 <sup>v</sup>	35 <sup>v</sup>
12B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	51,05 <sup>q</sup>	55,5 <sup>m</sup>	44,4 <sup>v</sup>	0	0	0	32,5 <sup>v</sup>	0
13B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	52,15 <sup>q</sup>	85,55 <sup>c</sup>	72,2 <sup>g</sup>	0	0	0	0	0
14B	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	56,6 <sup>l</sup>	66,65 <sup>h</sup>	64,4 <sup>l</sup>	0	0	0	0	0
16B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	35,5 <sup>v</sup>	42,2 <sup>y</sup>	54,4 <sup>n</sup>	0	0	0	0	0
17B	<i>Acinetobacter vivianii</i>	0	31,05 <sup>v</sup>	29,95 <sup>v</sup>	0	0	72,5 <sup>g</sup>	0	0
18B	<i>Enterobacter bugandensis</i>	0	100 <sup>a</sup>	28,85 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
19B	<i>Exiguobacterium sp.</i>	35,5 <sup>v</sup>	37,7 <sup>v</sup>	29,95 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
20B	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	39,9 <sup>v</sup>	36,65 <sup>v</sup>	22,2 <sup>w</sup>	0	0	0	0	0
21B	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	41,05 <sup>v</sup>	28,85 <sup>v</sup>	34,4 <sup>v</sup>	0	0	0	0	0
22B	<i>Bacillus thuringiensis</i>	100 <sup>a</sup>	42,2 <sup>y</sup>	35,5 <sup>v</sup>	0	0	0	0	49,5 <sup>t</sup>
23B	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	34,4 <sup>v</sup>	33,25 <sup>v</sup>	48,6 <sup>s</sup>	0	0	0	0	0
24B	<i>Bacillus cereus</i>	53,3 <sup>o</sup>	44,4 <sup>v</sup>	100 <sup>a</sup>	100 <sup>o</sup>	0	0	0	59 <sup>j</sup>
KONTROL		0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>	0 <sup>x</sup>

P≤0.05 (Aynı sütunda aynı harfle ifade edilen ortalamalar arasında istatistiki açıdan fark yoktur.)

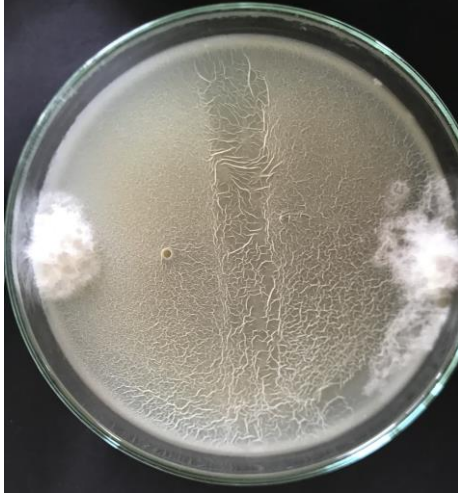
Çalışmalar sonucunda tablodan da anlaşılacağı gibi *Fusarium solani*'ye karşı %100 etkili olan bakteri *Bacillus thuringiensis* iken, *Bacillus subtilis* %74,4 oranında etki göstermiştir.



**Şekil.5.** *Fusarium solani*'ye karşı *Pseudomonas chlororaphis*'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.



**Şekil.5.1.** *Fusarium solani*'ye karşı *Bacillus thuringiensis*'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.



**Şekil.5.2.** *Fusarium proliferatum*'a karşı *Bacillus subtilis*'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.



**Şekil.5.3.** *Fusarium proliferatum*'a karşı *Pseudomonas chlororaphis*'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.



Şekil.5.4. *Fusarium oxysporum*'a karşı *Bacillus subtilis*'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.



Şekil.5.5. *Fusarium oxysporum*'a karşı *Pseudomonas chlororaphis*'in PDA ortamında ikili kültür denemesi.

Yapılan bir biyolojik mücadele çalışmasında *Bacillus* ve *Pseudomonas* bitki büyüme düzenleyici rizobakterler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria - PGPR) patlıcan köklerinden izole edilmiş ve hücre duvarı yıkıcı enzimlerden olan siderofor, proteaz ve cyanide enzim üretimi test edilmiş ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae*'ye karşı bu bakterilerin antagonistik etki göstererek hastalık şiddetini azalttığını belirtilmiştir (Jarl.,1999).

*Fusarium proliferatum*'a karşı %100 engelleme oranıyla *Bacillus subtilis* ve *Bacillus thuringiensis* miseliyal gelişimini durdurmuştur. *Pseudomonas chlororaphis* ise %72,2 engelleme oranıyla başarılı biyolojik ajan olmuştur.

*Fusarium oxysporum*'a karşı *Pseudomonas putida* ve *Enterobacter bugandensis* %100 etkili olmuştur. Aynı zamanda *Staphylococcus epidermidis* %77,7 oranında ve *Pseudomonas chlororaphis* %85,5 oranla miseliyal gelişimi engellediği gözlenmiştir.

*Aspergillus nidulans*'a karşı *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus* biyoajanları %100 etki göstererek etkileyici bir sonuç ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, aynı türden bazı *Bacillus* suşlarının, çeşitli fitopatojen fungusların büyümesini engelleme kapasitesinin yüksek olduğunu bulan Madhaiyan ve diğerleri (2010) ve Zhang ve diğerleri (2012) tarafından elde edilenlere benzerdir dolayısıyla iturin ve subtilin ailesine ait olan uçucu bileşikler ve antibiyotiklerin sentezi ile fungusların hücre duvarında etkili olabilmektedirler. Ayrıca enerji kaynağı olarak kullanılan polisakkaritleri, nükleik asitleri ve lipidleri parçalayacak hidrofilik enzimlerin üretimi de söz konusu olabilmektedir.

*Penicillium digitatum*'a karşı *Bacillus subtilis* %60 engelleme oranı ile gelişimini azaltmıştır. *Penicillium digitatum*'un neden olduğu narenciye yeşil küfü, narenciye meyvelerinin hasat sonrası aşamalarında en yıkıcı hastalıklardan biridir. Yapılan bir çalışmada, sağlıklı narenciye bitkilerinden izole edilen potansiyel bir endofit *Bacillus subtilis* L1-21, patojen *Penicillium digitatum*'a karşı biyokontrol aktivitesi açısından değerlendirilerek, *Bacillus subtilis* L1-21'in patojeni 3,51 ± 0,08 cm'lik bir inhibisyon bölgesi ile inhibe ettiğini öne sürülmüştür. Ayrıca, *B. subtilis* L1-21 için MALDI-TOF-MS, potansiyel fungus önleyici bileşikler olarak yüzey aktifin, fengisin, basillan ve basilisin saptanmıştır (Rashad ve ark., 2022).

*Aspergillus ochraceus*'a karşı *Bacillus subtilis* %100, *Acinobacter vivivanii* %72.5 engelleme yüzdeleri ile yayılımını önlemişlerdir. Taze geyik pisliğinden izole edilen bir *Bacillus subtilis* CW 14 *Aspergillus ochraceus* ve *Aspergillus carbonarius*'un büyümesini sırasıyla %33.0 ve %33.3'lük inhibisyon oranlarıyla inhibe edebildiğini ortaya koymuştur (Shi ve ark., 2014).



*Rhizoctonia solani*'ye karşı *Bacillus subtilis* %42 engelleme oranı ile etkili olmuştur. Yapılan bir çalışmaya göre, endofit *Bacillus subtilis* SR22'nin *in vitro* olarak *R. solani*'ye %51 engelleme oranı ile güçlü bir antagonistik aktivitesi olduğu bildirilmiştir (Rashad ve ark., 2022).

*Macrophomina phaseolina*'ya karşı %49,5 ile *Bacillus thuringiensis*, %59 ile *Bacillus cereus* etkili olmayı başarmışlardır. Soylu ve arkadaşlarının 2020 yılında yaptığı bir çalışmaya göre *M. phaseolina*'nın misel gelişimini %65.83 engelleme oranı ile *Bacillus pumilus* BV1-8, %61.67 engelleme oranı ile *Virgibacillus pantothenicus* BV1-1 ve %57.5 oranlarla *Bacillus pumilus* BV2-g izolatları tespit edilmiştir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1 Sonuçlar

Amasya, Konya, Karaman, Aydın, Antalya, Kayseri ve Muğla illerinde patlıcan yetiştirilen tarla ve örtü altı alanlarda görülen kök çürüklüğü, solgunluk, sararma ve nekroz görülen bitkileri biyolojik kontrol yöntemiyle tedavi edilmesi için bu çalışma yapılmıştır.

Araştırmamızda ilk olarak 2019 yılı Ağustos-Eylül aylarında Amasya'nın Kayabaşı, Karaköprü, Sevincer, İpek ve Karasenir köylerinden alınan enfekteli bitki-toprak ve sağlıklı bitki-toprak örnekleri alınmıştır. Toplanan bitki örneklerinden patojen olarak *Fusarium* spp. ve *Alternaria* sp., potansiyel biyoajan olan *Actinomyces*'e ait bir bakteri elde edilmiştir. Alınan toprak örneklerinden izole edilen 357 bakteriden rastgele 24 bakteri seçilerek biyoajan potansiyelleri *in vitro* da test edilmiştir. Tamamı etkili bulunmasına rağmen, MALDI-TOF MS biyotipleme metodu ile tanılama aşamasında 4B ve 15B kodlu bakteri izolatlarında üreme görülmediği için elenmiştir. Kalan 22 bakteri 5 farklı cinse ait 8 adet kök fungusu türleriyle *in vitro* da antibiyosis etkilerine bakılmıştır, %40 ve üzeri oranda engelleme oranına sahip olan biyoajan bakteriler başarılı kabul edilmiştir. 11B kodlu *Bacillus subtilis* biyoajanı *Macrophomina phaseolina* hariç diğer 7 fungusta %100 e yakın etkili bulunmuştur. *Macrophomina phaseolina* yı en fazla etkileyebilen biyoajan %59 oran ile 24B kodlu *Bacillus cereus* olmuştur. *Fusarium oxysporum* a karşı %100 etkili olan 18B kodlu *Enterobacter bugadensis* insan patojeni olma olasılığından dolayı kullanılamayacağı düşünülmektedir. Çevre dostu fungusitlerin yetersizliği, patojenlerde fungusit dayanıklılığının ortaya çıkışı ve patojen popülasyonlarının konukçu dayanıklılığını kırması (Mc Donald ve Linde, 2002) alternatif mücadele yöntemleri geliştirilme çabalarının altında yatan nedenlerdendir. Bu nedenle yapmamız gereken, bitkinin ve rizosferin doğal işleyişine müdahale etmeden fitopatogenleri seçici olarak hedefleyen bir strateji tasarlamaktır.

Gerek bitkinin gerek rizosfer bölgesindeki bu büyüme mekanizmalarının işleyişi biyoaktif bileşiklerin varlığını düşündürmektedir. Biyolojik ajanların etkinliği normalde çevresel faktörlere, formülasyonların hedef olmayan konukçulara karşı güvenliğine ve ekolojik etkiye bağlıdır. Bu nedenle, bu biyoaktif bileşikleri ve bunların patojenlerin büyümesini nasıl baskıladıklarını belirlemek için daha fazla araştırma yapmak önemlidir. Bununla birlikte, *Bacillus subtilis* gibi biyo-ajanlar için saha değerlendirmesi, oldukça etkili ve çevre dostu bir biyofungisit geliştirmek için tek başına ve/veya diğer biyo-ajanlarla birlikte kombinlenmesi tavsiye edilmektedir.



## KAYNAKLAR

- Abdelaal K. (2015). Pivotal role of bio and mineral fertilizer combinations on morphological, anatomical and yield characters of sugar beet plant (*Beta vulgaris* L.). *Middle East J. Agric. Res.* 4 717–734.
- Alkahtani M. D., Attia K. A., Hafez Y. M., Khan N., Eid A. M., Ali M. A., et al. (2020a). Chlorophyll fluorescence parameters and antioxidant defense system can display salt tolerance of salt acclimated sweet pepper plants treated with chitosan and plant growth promoting rhizobacteria. *Agronomy* 10:180. 10.3390/agronomy10081180
- Altınok, H.H., 2005. First report of *Fusarium* wilt of eggplant caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* in Turkey. *Plant Pathol.*, 54 (4): 577.
- Altınok, H. H., Boyacı, H. F., & Topçu, V. (2012). Antalya, Mersin ve Samsun illeri örtü altı patlıcan üretim alanlarında *Fusarium* ve *Verticillium* solgunluklarının yaygınlığı ve izolatların virülensliklerinin coğrafi dağılımı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 43(2), 107-115.
- Akanmu A. O., Babalola O. O., Venturi V., Ayilara M. S., Adeleke B. S., Amoo A. E., et al. (2021). Plant disease management: leveraging on the plant-microbe-soil interface in the biorational use of organic amendments. *Front. Plant Sci.* 12:700507. 10.3389/fpls.2021.700507
- Akça, A. & Tozlu, E. (2022). Investigation of the Biocontrol Effectiveness of Some Bacterial Strains on Eggplant Gray Mold Disease (*Botrytis cinerea*) in in vitro and in vivo conditions . *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* , 25 (5) , 1098-1108 . DOI: 10.18016/ksutarimdog.vi.953977
- Albarano L, Esposito R, Ruocco N, Costantini M (April 2020). "Genome Mining as New Challenge in Natural Products Discovery". *Marine Drugs*. 18 (4): 199. doi:10.3390/md18040199. PMC 7230286. PMID 32283638.
- Anonim, 2006, Tarım istatistikleri özeti, DİE Yayınları, No;12, Ankara, 22-23.
- Anonim, 2009, Charcoal Rot fact sheet, version 1.copyright 2009  
[http://www.pannarseed.co.za/uploads/documents/1/charcoal\\_rot.pdf](http://www.pannarseed.co.za/uploads/documents/1/charcoal_rot.pdf)
- Anonymous, 1989, Farm accountancy data network, an A-Z of methodology” Commission Report of the EC, Brussels, 16-19.

- Aslan, E., & Özaktan, H. (2005). Kök Bakterileri Tarafından Konukçu Bitkide Hastalıklara Karşı Sistemik Dayanıklılığın Uyarılması. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 15(1), 84-100.
- Attia, M.S., Hashem, A.H., Badawy, A.A. et al. Biocontrol of early blight disease of eggplant using endophytic *Aspergillus terreus*: improving plant immunological, physiological and antifungal activities. *Bot Stud* 63, 26 (2022). <https://doi.org/10.1186/s40529-022-00357-6>
- Beckman, C.H. (1987). *The Nature of Wilt Diseases of Plants*. The American Phytopathological Society Press, USA, 175 p.
- Bilal, L., Asaf, S., Hamayun, M., Gul, H., Iqbal, A., Ullah, I., Lee, I.-J., Hussain, A., 2018. Plant growth promoting endophytic fungi *Asprgillus fumigatus* TS1 and *Fusarium proliferatum* BRL1 produce gibberellins and regulates plant endogenous hormones. *Symbiosis* 76 (2), 117–127. <https://doi.org/10.1007/s13199-018-0545-4>.
- Bondad-Reantaso, M.G., Subasinghe, R.P., Arthur, J.R., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Tan, Z. & Shariff, M. (2005). Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet. Parasitol.*, 132: 249-272.
- Brisbane, P.G., and Rovira, A.D., 1988, Mechanisms of inhibition of *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici* by fluorescent pseudomonads. *Plant Pathol.* 37:104-111
- Brunson, K.E. 2012. Comparisons Between Conventional and Sustainable Eggplant (*Solanum melongena* l.) Production Systems, Doktora Tezi. Graduate Faculty of The University of Georgia in Partial Fulfillment of the Requirements for The Degree, Doctor of Philosophy Athens, Gürcistan.
- Chakraborty, M.R., Chatterjee, N.C. (2008). Control of *Fusarium* Wilt of *Solanum melongena* by *Trichoderma* spp. *Biologia Plantarum*, 52 (3), 582- 586.
- Corliss, R., 1993, *Pacific Overtures Times*, 142 (11), 68-70.
- Daguerre, Y., Siegel, K., Edel-Hermann, V., Steinberg, C., 2014. Fungal proteins and genes associated with biocontrol mechanisms of soil-borne pathogens: a review. *Fungal Biol. Rev.* 28 (4), 97–125.
- Dasgupta, D., 1998, *Artificial immune systems and their applications*, Springer-Verlag, Berlin - Heidelberg, 45-52.
- Daunay ve Janick. 2007. History and iconography of eggplant. *Chronica Horticulturae*, 47(3), 16-22.

- De Castro, L. N. and Von Zuben, F. J., 2000, Artificial immune systems: Part I- Basic theory and applications, *DCA-RT 02/00, Brasil*, 23-28.
- De Souza Vandenberghe L. P., Garcia L. M. B., Rodrigues C., Camara M. C., De Melo Pereira G. V., De Oliveira J., et al. (2017). Potential applications of plant probiotic microorganisms in agriculture and forestry. *AIMS Microbiol.* 3:629. [10.3934/microbiol.2017.3.629](https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.629)
- Duffy B, Schouten A and Raaijmakers JM. 2003. Pathogen self-defense: Mechanism to counteract microbial antagonism. *Annual Review Phytopathology* 41: 501-538. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.phyto.41.052002.095606>
- Einloft, T. C., de Oliveira, P. B., Radünz, L. L., & Dionello, R. G. (2021). Biocontrol capabilities of three *Bacillus* isolates towards aflatoxin B1 producer *A. flavus* in vitro and on maize grains. *Food Control*, 125, 107978.
- Emam, T., Omer, A., Ahmed, A., Agha, M., & Yaseen, R. (2022). Effective Formulations to Improve the Efficiency of Bacterial Inoculum as Biological Control Agents against Some Root Diseases. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 11(04), 1073-1090.
- El-grooni, M. A. ve N. F. Sommer, 1981. Effect of Modelling Atmospheres on Postharvest of Fruit and Vegetables. *Hortic. Rev.*, 3, 412-461
- Ezziyyani M, Pérez-Sánchez C, Requena ME, Rubio L and Candela-Castillo ME. 2004. Biocontrol por *Streptomyces rochei* -Ziyani-, de la podredumbre del pimiento (*Capsicum annum* L.) causada por *Phytophthora capsici*. *Anales de Biología* 26: 69-78. Available online: <https://www.um.es/analesdebiologia/numeros/26/PDF/08-BIOCONTROL.pdf>
- Fadiji A. E., Babalola O. O. (2020a). Elucidating mechanisms of endophytes used in plant protection and other bioactivities with multifunctional prospects. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 8:467. [10.3389/fbioe.2020.00467](https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467)
- Güneş, S. ve Polat, K., 2009, Elektrokardiyogram (EKG) aritmi teşhisinde en az kareli destek vektör makinaları kullanımına dayalı medikal teşhis destek sistemi, *13. Biyomedikal Mühendisliği Ulusal Toplantısı, BİYOMUT-2009*, İstanbul, 170-173.
- Harman GE. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96: 190-194. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>
- Ul Hassan, Z., Al Thani, R., Alnaimi, H., Migheli, Q., & Jaoua, S. (2019). Investigation and application of *Bacillus licheniformis* volatile compounds for the biological

- control of toxigenic *Aspergillus* and *Penicillium* spp. *ACS omega*, 4(17), 17186-17193.
- Holland, M., 2002, *Guide to citing Internet sources*, Poole, Bournemouth University, [http://www.bournemouth.ac.uk/library/using/guide\\_to\\_citing\\_internet\\_sourc.html](http://www.bournemouth.ac.uk/library/using/guide_to_citing_internet_sourc.html)
- Huilgol, S. N., Nandeesh, K. L., & Banu, H. (2022). Fungal Biocontrol Agents: An Eco-friendly Option for the Management of Plant Diseases to Attain Sustainable Agriculture in India. In *Fungal diversity, ecology and control management* (pp. 455-481). Springer, Singapore.
- İskenderoğlu, F., 2014, Mardin İli Kavunlarında (*Cucumis melo* L.) Kök Ve Kök Boğazı Çürüklüğüne Neden Olan Toprak Kaynaklı Funguslar İle Yaygınlıklarının Belirlenmesi
- Kapoor, A.S. (2008). Biocontrol potential of *Trichoderma* spp. against important soil borne diseases of vegetable crops. *Ind. Phytopathol.*, 61: 492-498.
- Karaca, İ. 1974. Sistematik Bitki Hastalıkları, Cilt IV. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No: 217, s.272.
- Katan J, Shtienberg D, Gamliel A 2012. The Integrated Management Concept in the Context of Soilborne Pathogens and Soil Disinfestation. In: Gamliel A., Katan J. (eds). *Soil Solarization: Theory and Practice*, pp. 91-97. APS Press, USA.
- Katan J 2017. Diseases Caused by Soilborne Pathogens: Biology, Management and Challenges. *Journal of Plant Pathology*, 99(2): 305-315.
- Korkom, Y. (2022). Aydın ili tarım alanlarından elde edilen *Trichoderma* spp.'nin tanılanması ile çilekte kömür çürüklüğü hastalığına ve bitki gelişimine etkilerinin belirlenmesi.
- Liu, Y., Teng, K., Wang, T., Dong, E., Zhang, M., Tao, Y., & Zhong, J. (2020). Antimicrobial *Bacillus velezensis* HC6: production of three kinds of lipopeptides and biocontrol potential in maize. *Journal of applied microbiology*, 128(1), 242-254.
- Lorito, M., Woo, S.L., Harman, G.E. & Monte, E. (2010) Translational research on *Trichoderma*: from 'omics to the field. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 395– 417.
- Malcolm GM, Kuldau GA, Gugino BK, Jimenez-Gasco M 2013. Hidden Host Plant Associations of Soilborne Fungal Pathogens: An Ecological Perspective. *Phytopathology*, 103: 538-544.

- Martin, F.W. and A.M. Rhodes, 1979. Subspecific grouping of eggplant cultivars. *Euphytica*, 28: 367-383.
- Mason, J., 1832, Map of the countries lying between Spain and India, 1:8.000.000, London: Ordnance Survey.
- Madhaiyan M, Poonguzhali S, Kwon SW and Sa TM. 2010. *Bacillus methylotrophicus* sp. nov., a methanol-utilizing, plant-growth-promoting bacterium isolated from rice rhizosphere soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 60: 2490-2495. <http://dx.doi.org/10.1099/ijs.0.015487-0>
- McDonald BA, Linde C 2002. Pathogen Population Genetics, Evolutionary Potential and Durable Resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 349-379.
- Mihail JD 1992. Macrophomina. In: Singleton LL, Mihail JD, Rush CM (eds), *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press, Minnesota, pp 134-136.
- Olanrewaju O. S., Glick B. R., Babalola O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 33 191–116. [10.1007/s11274-017-2364-9](https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9)
- Onoğur. E. 1996. Bitki Fungal Hastalıkları I Ege Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları, Ders notları: 25- 33: 3
- Özğören, M., 2006, Flow Structure in the downstream of square and circular cylinders, *Flow Measurement and Instrumentation*, 17 (4), 225-235.
- Thompson, C.H. and C.W. Kelly, 1957. *Vegetable Crops*. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, Pages: 501
- Patel R., Mehta K., Prajapati J., Shukla A., Parmar P., Goswami D., Saraf M., (2022) An anecdote of mechanics for *Fusarium* biocontrol by plant growth promoting microbes, *Biological Control*, Volume 174, 105012, ISSN 1049-9644, <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105012>.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1049964422001773>
- Punja ZK, Rahe JE 1992. Sclerotium. In: Singleton LL, Mihail JD, Rush CM (eds), *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press, Minnesota, pp 166-170.
- Purewal, S.S., 1957. *Vegetable cultivation in North India*. ICAR Farm Bulletin No. 36, Indian Council of Agricultural Research (ICAR), New Delhi, India.



- Rashad YM, Abdalla SA, Sleem MM. Endophytic *Bacillus subtilis* SR22 Triggers Defense Responses in Tomato against *Rhizoctonia* Root Rot. *Plants*. 2022; 11(15):2051. <https://doi.org/10.3390/plants11152051>
- Sarkar D., Rakshit A. (2021). Bio-priming in combination with mineral fertilizer improves nutritional quality and yield of red cabbage under Middle Gangetic Plains, India. *Sci. Hortic.* 283:110075. 10.1016/j.scienta.2021.110075
- Sati D., Pande V., Pandey S. C., Samant M. (2022). Recent advances in PGPR and molecular mechanisms involved in drought stress resistance. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 2022 1–19. 10.1007/s42729-021-00724-5
- Shi, L., Liang, Z., Li, J., Hao, J., Xu, Y., Huang, K., ... & Xu, W. (2014). Ochratoxin A biocontrol and biodegradation by *Bacillus subtilis* CW 14. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(9), 1879-1885.
- Siddiqui Z.A. (ed.), *PGPR: Biocontrol ve Biofertilization*, 67-109, 2005
- Sneh B, Jabaji-Hare S, Neate SM, Dijst G 1997. *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer, London.
- Snowdon, A.L. 1991, A. *Colour Atlas of Postharvest Diseases and Disorders of Fruit and Vegetables. General Introduction and Fruits* . pp: 11–53. Wolfe Scientific Ltd.
- SOYLU, Emine Mine, et al. "Sebzelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların in vitro antagonistik etkilerinin belirlenmesi." *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 23.1 (2020): 7-18.
- Tsitsigiannis DI, Antoniou PP, Tjamos SE, Paplomatas EJ (2008) Major diseases of tomato, pepper and egg plant in green houses. *Eur J Plant Sci Biotechnol* 2(1):106–124
- TÜİK, *Bitkisel Ürün Denge Tabloları, Meyvesi için yetiştirilen sebzeler denge tabloları, 2020-2021*, <https://data.tuik.gov.tr>
- Ul Hassan, Z., Al Thani, R., Alnaimi, H., Migheli, Q., & Jaoua, S. (2019). Investigation and application of *Bacillus licheniformis* volatile compounds for the biological control of toxigenic *Aspergillus* and *Penicillium* spp. *ACS omega*, 4(17), 17186-17193.
- Van Peer, R., Nieemann, G. J., and Schippers, B., 1991, Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81:728-734.

- Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti MJ, Li H, Woo SL and Lorito M. 2008. A novel role of Trichoderma secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72: 80-86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.05.005>
- Weller, D. M., and Cook, R. J.,1983, Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopathology* 73:463-469.
- Weindling, R. (1932) *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, 22, 837– 845.
- Weindling, R. (1934) Studies on a 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 toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. *Phytopathology*, 31, 991– 1003.
- Zhang QL, Liu Y, Ai GM, Mia LL, Zhen HY and Liu ZP. 2012. The characteristics of a novel heterotrophic nitrification aerobic denitrification, *Bacillus methylotrophicus* strain L7. *Bioresource Technology* 108: 35-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.12.139>
- Zeilinger S and Omann M. 2007. *Trichoderma* biocontrol: Signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism. *Gene Regulation and Systems Biology* 1: 227-234. Available online: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2759141/pdf/grsb-2007-227.pdf>