



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAMYA BİTKİSİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI TOHUM ve TOPRAK
KÖKENLİ FUNGAL HASTALIK ETMENLERİNE KARŞI ANTAGONİST
BAKTERİLERİN *in vitro* BİYOKONTROL ETKİNLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

GİZEM ATAĞAN TANGÜL

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
EYLÜL-2023



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAMYA BİTKİSİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI TOHUM ve TOPRAK
KÖKENLİ FUNGAL HASTALIK ETMENLERİNE KARŞI ANTAGONİST
BAKTERİLERİN *in vitro* BİYOKONTROL ETKİNLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

GİZEM ATAKAN TANGÜL
ORCID:0000-0002-3214-5242

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Soner SOYLU
ORCID:0000-0003-1002-8958

HATAY
EYLÜL-2023

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAMYA BİTKİSİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI TOHUM ve TOPRAK
KÖKENLİ FUNGAL HASTALIK ETMENLERİNE KARŞI ANTAGONİST
BAKTERİLERİN *in vitro* BİYOKONTROL ETKİNLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

**GİZEM ATAKAN TANGÜL
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Prof. Dr. Soner SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez **12/09/2023** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Soner SOYLU
Başkan

Doç. Dr. Murat ÖZTÜRK
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Merve KARA
Üye

Kod No:

**Doç. Dr. Cengiz KARACA
Enstitü Müdürü**

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 21.YL.046

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

12/09/2023

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Gizem ATAKAN TANGÜL

ÖZET

BAMYA BİTKİSİNDEN İZOLE EDİLEN TOHUM ve TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL HASTALIK ETMENLERİNE KARŞI ANTAGONİST BAKTERİLERİN *in vitro* BİYOKONTROL ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Bamya (*Abelmoschus esculentus* L.), kurağa dayanıklı, ucuz ve bol vitamin kaynağı olması ve besleyici özelliğinden dolayı, dünyanın tropik ve subtropik birçok bölgesinde en çok üretilen ve tüketilen sebzelerden biridir. Bamya bitkilerinde sorun olan tohum ve toprak kökenli hastalık etmenleri ve kontrol yöntemlerinin belirlenmesi üzerine farklı ülkelerde çok az çalışma yapılmış olmasına rağmen, Türkiye’de yetiştirilen bamya bitkilerinde tohum ve toprak kaynaklı fungal hastalık etkenlerinin tanınması üzerine oldukça kısıtlı sayıda çalışma olup, hastalık etmenlerin biyolojik mücadelesine yönelik herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada; (i) Hatay ilinde yetişen bamya bitkilerinde karşılaşılan tohum ve toprak kökenli fungal hastalık etmenlerin tanınması, (ii) sağlıklı bamya ve yakın akraba bitkilerinin farklı bitki kısımlarından epifit ve endofit bakteriyel izolatların yaygın hastalık etmenlerine karşı biyoetkinliklerinin belirlenmesi, (iii) antagonistik ve bitki gelişimini teşvikte (PGP) rol oynayan olası etki mekanizmalarının *in vitro* koşullarda karakterize edilmesi amaçlanmıştır.

Kök ve kök boğazı çürüklüğü görülen kısımlardan, gövdelerin iletim demetlerindeki kararmalardan ve hasta tohumlardan yapılan izolasyonlarda *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Fusarium oxysporum* en yaygın toprak ve tohum kökenli hastalık etmenleri olarak belirlenmiştir. Hastalığın gözlemlendiği tarlalardaki sağlıklı bamya ve yakın akraba bitkilerin (pamuk, ebegümeci, pıtrak vb.) farklı bitki kısımlarından farklı morfolojik görünümlü 28 adet endofit (%39.4), 43 adet ise epifit (%60.6) olmak üzere toplam 71 bakteri izolatu elde edilmiş olup, bu izolatları temsilen seçilen 36 izolat MALDI-TOF MS ile teşhis edilmiş ve fungal etmenlerin misel gelişimini engellenme (antagonizm) potansiyelleri karakterize edilmiştir. İkili kültür testlerinde 4 patojen fungusun misel gelişimi üzerinde güçlü düzeyde (>%50) engelleyen izolat sayısı; *M. phaseolina* için 18 adet, *R. solani* ve *S. sclerotiorum* etmenleri için 28 adet, *F. oxysporum* için ise 18 adet olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus cereus* B1ep, *Bacillus cereus* B2ep, *Pseudomonas aeruginosa* B3ep, *Bacillus cereus* B11ep ve *Bacillus subtilis* B12ep izolatları fungal etmenlere karşı yüksek düzeyde ($\geq$ %70) antagonistik etkinlik göstermiştir. Test edilen izolatlar arasında *Enterobacter cloacae* B10ep en yüksek siderofor, *Microbacterium maritopicum* X5en en yüksek proteaz enzimi, *Pseudomonas aeruginosa* B3ep ve farklı *Bacillus* spp ise en yüksek düzeyde hidrojen siyanür (HCN) ve amonyak üretimine neden olan izolatlar olarak belirlenmiştir. Hastalık etmenlerinin misel gelişiminin engellenmesinde antagonist bakteriler tarafından sentezlenmiş siderofor, proteaz, HCN ve amonyak gibi mekanizmalardan bir veya birkaçının rol oynadığı belirlenmiştir. İzolatlar arasında *Enterobacter bugandensis* B7ep en yüksek IAA üreten, *Bacillus cereus* P7en ise en fazla fosfor çözen bakteri izolatu olarak belirlenmiştir.

Güçlü antagonistik (siderofor, proteaz, amonyak üretimi) ve PGP (IAA ve fosfor çözme) etkinlikleri gösteren, *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp. ait izolatların bamya bitkilerinde toprak ve tohum kökenli hastalık etmenlerine karşı biyolojik mücadele ajanı olarak geliştirilebilme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma antagonist bakteri türlerinin bamya hastalık etmenlerine karşı biyokontrol etkinliğinin ve etki mekanizmalarının araştırıldığı ilk çalışma niteliğindedir.

2023, 93 sayfa

Anahtar kelimeler: Bamya, toprak kökenli, bakteri, antagonist, biyolojik mücadele

ABSTRACT

DETERMINATION of *in vitro* BIOCONTROL EFFICACIES of ANTAGONIST BACTERIA AGAINST SOME SEED and SOIL BORNE FUNGAL DISEASE AGENTS on OKRA PLANT

Okra (*Abelmoschus esculentus* L.), due to its drought resistance, affordability, rich vitamin content, and nutritional properties, is one of the most widely cultivated and consumed vegetables in many tropical and subtropical regions around the world. Despite the fact that there have been very few studies conducted in different countries on the identification of seed and soil-borne disease agents in okra plants and their control methods, there are limited studies on the identification of seed and soil-borne fungal disease agents in okra plants cultivated in Turkey, and there are no studies on biological control of the disease agents. In this study, it was aimed to (i) identify seed and soil-borne fungal disease agents encountered in okra plants grown in Hatay province, (ii) determine the biocontrol potential of epiphytic and endophytic bacterial isolates obtained from healthy okra and closely related plants from different plant parts against common disease agents, (iii) characterize the potential mechanisms involved in antagonism and plant growth promotion (PGP) under *in vitro* conditions.

Isolations from parts of the plants showing root and root collar rot, discolorations in stem vascular bundles, and diseased seeds revealed *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum*, and *Fusarium oxysporum* as the most common soil and seed-borne disease agents. A total of 71 bacterial isolates were obtained from different plant parts of healthy okra and closely related plants (cotton, common mallow, common cocklebur, etc.), with 28 isolates being endophytic (39.4%) and 43 isolates being epiphytic (60.6%). Among these isolates, 36 were selected and identified using MALDI-TOF MS, and their potentials to inhibit mycelial growth of fungal agents (antagonism) were characterized. In dual culture tests, the number of isolates strongly inhibiting mycelial growth of four pathogenic fungi (>50%) was found to be 18 for *M. phaseolina*, 28 for *R. solani* and *S. sclerotiorum*, and 18 for *F. oxysporum*. Isolates *Bacillus cereus* B1ep, *Bacillus cereus* B2ep, *Pseudomonas aeruginosa* B3ep, *Bacillus cereus* B11ep, and *Bacillus subtilis* B12ep exhibited high levels ($\geq 70\%$) of antagonistic activity against fungal agents. Among the tested isolates, *Enterobacter cloacae* B10ep was identified as the highest siderophore producer, *Microbacterium maritropicum* X5 as the highest protease enzyme producer, and *Pseudomonas aeruginosa* B3ep and different *Bacillus* spp. as isolates producing hydrogen cyanide (HCN) and ammonia at the highest level. It was determined that one or more of the mechanisms produced by antagonist bacteria such as siderophores, proteases, HCN, and ammonia played a role in inhibiting the mycelial growth of the disease agents. Among the isolates, *Enterobacter bugandensis* B7ep was identified as the highest IAA producer and *Bacillus cereus* P7en was identified as the most efficient phosphate-solubilizing bacterial isolate.

It was determined that isolates belonging to *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. showing strong antagonistic (siderophore, protease, ammonia production) and PGP (IAA and phosphate solubilization) activities have the potential to be developed as biological control agents against soil and seed-borne disease agents in okra plants. This study is the first of its kind investigating the biocontrol efficacy and mechanisms of antagonist bacterial species against okra disease agents.

2023, 93 pages

Keywords: Okra, fungal diseases, seed-borne, soil-borne, biological control, antifungal

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatım boyunca üzerimde emeği geçen, tez konumun belirlenmesinde, programlanmasında, laboratuvar çalışmaları aşamasında bana çok katkıda bulunan hem psikolojik olarak destek olan hem de bilgilerini aktarma konusunda en ufak bir tereddütü olmayan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Soner SOYLU'ya, çalıştığım konu ile ilgili desteğe ihtiyacım olduğu zaman desteğini esirgemeyen bölüm hocalarıma, projenin yürütülmesine maddi destek veren HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (Proje No: 21.YL.046) ve HMKÜ FBE Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Bakteri ve fungus izolatlarının hem teşhis aşamasında hem de laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Merve KARA, Öğr. Gör. Dr. Aysun UYSAL ve Ar. Gör. Yusuf GÜMÜŞ'e teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi yüksek lisans ve başta anne-babam Songül-Mesut ATAKAN'a eşim Abdullah Volkan TANGÜL'e kardeşim Nisa ATAKAN'a amcalarım Mahmut-Yasin ATAKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	13
2.1. Bamyada Bitkisinde Sorun Olan Hastalık Etmenlerinin Dünya ve Ülkemiz Genelindeki Durumu	13
2.2. Tohum ve Toprak Kökenli Hastalık Etmenleri ile Yapılan Biyolojik Mücadele Çalışmaları.....	18
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	31
3.1. Materyal.....	31
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Fungal ve Bakteriyel İzolatlar	31
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri	31
3.2. Yöntem	32
3.2.1. Fungal Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Tanılanması.....	32
3.2.2. Sağlıklı Bamyada ve Yakın Akarba Bitkilerinden Epifit ve Endofit Bakterilerin İzolasyonu ve Tanılanması.....	34
3.2.2.1. Aday Epifit ve Endofit Bakterilerin İzolasyonu.....	35
3.2.2.2. Aday Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Seçimi.....	36
3.2.2.3. Aday Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Tanılanması	38
3.2.3. Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Fungal Hastalık Etmenlerinin Misel Gelişimini <i>in vitro</i> Koşullarda Engellenme Potansiyellerinin Belirlenmesi	39
3.2.4. Bakteri İzolatlarının Hastalık Etmenlerinin Engellenmesinde Rol Oynayan Biyokontrol Mekanizmalarının Belirlenmesi	40
3.2.4.1. Bakteri İzolatlarının Proteaz Enzimi Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	40
3.2.4.2. Bakteri İzolatlarının Siderofor Oluşturma Potansiyellerinin Belirlenmesi	41
3.2.4.3. Bakteri İzolatlarının Amonyak (NH ₃) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	41
3.2.4.4. Bakteri İzolatlarının Hidrojen Siyanür (HCN) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	42
3.2.5. Bakteri İzolatlarının Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmaların Belirlenmesi	44
3.2.5.1. Bakteri İzolatlarının Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi	44
3.2.5.2. Bakteri İzolatlarının İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	44
3.2.6. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler	46
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	47
4.1. Bamyada Kök ve Kökboğazı, Gövde ve Tohumlardan Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Tanılanması	47

4.2. Bamya ve Yakın Akraba Bitkilerin Farklı Kısımlarından Aday Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanılanması	52
4.3. Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinliklerinin Belirlenmesi	55
4.3.1. <i>F. oxysporum</i> 'un Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinlikleri	55
4.3.2. <i>M. phaseolina</i> 'nın Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinlikleri	57
4.3.3. <i>S. sclerotiorum</i> 'un Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinlikleri	60
4.3.4. <i>R. solani</i> 'nin Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinliklerinin Belirlenmesi	62
4.4. Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesinde (Antagonistik) Rol Oynayan Biyokontrol Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi	67
4.5. Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Bitki Büyüme ve Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Belirlenmesi	73
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	77
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ	92
EKLER	93

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Bamya ve yakın akraba bitkilerden izolasyonu yapılan bakteri izolatlarının tür bazında teşhisi.....	53
Çizelge 4.2. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>F. oxysporum</i> 'un misel gelişiminin engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi.....	56
Çizelge 4.3. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatlarının <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>M. phaseolina</i> 'nın misel gelişiminin engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi.....	59
Çizelge 4.4. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>S.sclerotiorum</i> 'un misel gelişiminin engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi.....	61
Çizelge 4.5. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatlarının <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>R. solani</i> 'nin misel gelişimini engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi.....	63
Çizelge 4.6. Antagonist bakteri izolatlarının test edildikleri fungal etmenlere karşı antagonistik etkinliklerinin karşılaştırılması.	65
Çizelge 4.7. Farklı endofit ve epifit antagonist bakteri izolatların hastalık etmenlerini engellemede kullandıkları olası biyokontrol (antagonistik) mekanizmaları ^a	68
Çizelge 4.8. Farklı epifit ve endofit antagonist bakteri izolatlarının bitki büyümesinin teşvik edilmesinde kullandıkları olası mekanizmalar.	75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya genelinde yıllara göre toplam bamya üretim miktarı (ton) ve alanı (ha).	3
Şekil 1.2. Dünyada en fazla bamya üretimi (ton) yapan ilk 10 ülke.	3
Şekil 1.3. Türkiye’de en fazla bamya yetiştiriciliği yapılan ilk 10 il.	4
Şekil 1.4. Hatay ili genelinde yetiştirilen bamya bitkilerinin kök, gövde, meyve ve tohumlarında sorun hastalık etmenleri tarafından oluşturulan tipik belirtiler (ok).	9
Şekil 3.1. Hatay ili genelinde yetişen bamya bitkilerinin gövde (A), kök (B), tohum (C) ve meyve (D-E) üzerinde hastalık etmenleri ve izolasyon sonucu gelişen fungal kültürler (F).	33
Şekil 3.2. Hatay ili genelinde yetişen bamya bitkilerinin gövde, kök, tohum ve meyve üzerinde hastalık etmenleri ve izolasyon sonucu gelişen fungal kültürler...34	34
Şekil 3.3. Sağlıklı bamya bitkileri ile pamuk ve pıtrak gibi yakın akraba bitkilerin gövde, kök, meyve ve çiçek gibi organlarından epifit ve endofit bakterilerin izolasyon işlemi.	35
Şekil 3.4. (A-B) Tütün yaprağında bakteri izolatları ile yapılan aşırı duyarlılık (HR) testi. Sadece bitki patojeni izolatlar tütün yaprağında HR reaksiyonuna (ok) neden olmuştur. (C) Patates dilimleri üzerinde yapılan çürüklük testi sonucunda patojen bakteri izolatu (ok) yumuşak çürüklük yapmış olup (*) inokulasyonu yapılan diğer izolatlar herhangi bir belirtiye neden olmamıştır.	37
Şekil 3.5. (A) <i>In vitro</i> ’da ikili kültür testi ile antagonist etki yapan endofit ya da epifit bakteri izolatının fungal hastalık etmenini engellemesi (ok). (B) Kontrol amacıyla petriye konulan hastalık etmeninin normal koşullarda gelişimi. ..	40
Şekil 3.6. Antagonistik etki yapan bazı epifit ve endofit bakterilerin etki mekanizmalarının tespiti amacıyla (A) siderofor, (B) proteaz enzimi (proteolitik), (C) hidrojen siyanür (HCN) ve (D) amonyak üretim çalışmaları. Siderofor ve proteaz (A) üretim değerlerinin indeks değeri bakterinin kendi çapının (Bç) zon çapına (Zç) oranlanarak bulunmuştur. HCN ve amonyak için ise D ve E’de görüldüğü gibi filtre kâğıdının ve eppendorf tüpü içindeki solüsyonun renk değişimine göre değerlendirilmiştir.	43
Şekil 3.7. Antagonistik etki yaratan endofit ve epifit bakteri izolatları için IAA üretimi ve fosfatı çözme oranının tespit edilmesi. A ve B’de besi ortamında fosforu çözme oranının tespit edilmesi. Fosfor çözme indeksi; bakteri çapının zon çapına oranlanması ile hesaplanmıştır. (C) Farklı yoğunluklarda IAA oranlarının sıvı besi ortamında oluşturduğu renk farklılıkları.	45
Şekil 4.1. Hastalık belirtisi gösteren bamya bitkileri ile hastalıklı meyvelerin içindeki tohumlarından gelişen <i>M. phaseolina</i> (A-C), <i>R. solani</i> (D, E), <i>V. dahliae</i> (F), <i>Fusarium</i> spp. (G, H) ve <i>S. sclerotiorum</i> (I) gibi farklı fungal hastalık etmenlerin misel gelişimleri.	48
Şekil 4.2. Hastalık belirtisi gösteren bamya bitki tohumlarından elde edilmiş ve patojenisite testinde kullanılmış <i>F. oxysporum</i> (A), <i>S. sclerotiorum</i> (B), <i>M.</i> <i>phaseolina</i> (C) ve <i>R. solani</i> (D) izolatlarının petrideki görünimleri. (E) Hastalık etmenleri ile yapılmış patojenisite testleri sonucu fidelerde ortaya çıkan kök çürüklük belirtileri.	49

Şekil 4.3. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni <i>F. oxysporum</i> 'un misel gelişimini engelleme potansiyelleri.	57
Şekil 4.4. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni <i>M. phaseolina</i> 'nın misel gelişimini engelleme potansiyelleri.	58
Şekil 4.5. İkili kültür testlemeleri ile farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının fungal etmen <i>S. sclerotiorum</i> 'un misel gelişimini engelleme potansiyelleri.	60
Şekil 4.6. İkili kültür testlemeleri ile farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının fungal etmen <i>R. solani</i> 'nin misel gelişimini engelleme potansiyelleri.	62
Şekil 4.7. (A ve B) Antagonist bakteri izolatlarının CAS Agar besi ortamında siderofor üretme potansiyelleri (ok). En yüksek etkinlik <i>Enterobacter cloaceae</i> B10ep tarafından gösterilmiştir (ok).	69
Şekil 4.8. (A ve B) Farklı antagonist bakteri izolatlarından <i>Bacillus pumilus</i> B20ep (ok), <i>Bacillus altitudinis</i> B21ep ve <i>Bacillus subtilis</i> B12ep'in SMLBA besi yerinde proteaz enzimi üretme potansiyelleri. Bakteri izolatlarınca üretilen proteaz etkinliği besi yeri üzerinde farklı çaplarda oluşturulan engelleme bölgeleri (ok) ile karakterize edilmiştir.	71
Şekil 4.9. Farklı antagonist bakteri izolatlarının amonyak üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Antagonist bakteri izolatlarınca besi yeri içerisinde oluşturulan amonyak üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan koyu sarı-kahverengine (ok) dönüşmesiyle belirginleşmiştir.	71
Şekil 4.10. Antagonist bakterilerin glycine içeren TSA besi yerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri. Bakteri izolatları tarafından artan şiddette üretilen HCN sonucu petri kapağındaki filtre kâğıdı sarı renkten turuncu-kırmızı renge (ok) dönüşmüştür.	72
Şekil 4.11. Hastalık etmenlerini engelleyici etkide bulunan antagonist bakteri izolatlarının LB besi ortamı kullanılarak IAA üretim durumları ve üretilen IAA oranlarına göre sarı renkten kırmızı-pembeye doğru renk değişimi (ok).	74
Şekil 4.12. (A ve B) Farklı antagonist bakteri izolatlarının (P1ep, B3ep, B12ep, P2en) PVK besi yerinde fosforu çözebilme potansiyellerinin belirlenmesi. (A) Bazı izolatların fosforu çözemediği gözlenmiştir. (B) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep izolatının besi yeri üzerinde fosfor çözme etkinliği engelleme bölgesi ile karakterize edilmiştir (ok).	75

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Derece Celsius
ha	: hektar
da	: dekar
µg	: mikrogram
Mg	: miligram
G	: gram
Kg	: kilogram
mL	: mililitre
µm	: mikrometre
Min	: Dakika
Ppm	: part per million (milyon birimde bir birim)
Rpm	: rotation per minute (dakikadaki dönme sayısı)

KISALTMALAR

TÜİK	: T ürkiye İ statistik K urumu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (F ood and A griculture O rganisation of The United Nations)
PW	: P epton W ater
UV	: U ltraviyole
HCN	: H ydrogen C yanide (Hidrojen Siyanür)
CAS	: C hrom A zurol- S Agar Besi yeri
SMLBA	: S M L uria B roth Agar Besi yeri
NH ₃	: Amonyak
KB	: K ing's B Agar Besi yeri
LB	: L uria B ertani Agar Besi yeri
NA	: N utrient Agar Besi yeri
PDA	: P atates D ekstroz Agar Besi yeri
TSA	: T rypic S oybean Agar Besi Yeri
HR	: H ypersensitive T est (Tütün aşırı duyarlılık testi)
MALDI-TOF	: M atriks A ssisted L aser D esorption I onization T ime of F light M ass Spectrometry
IAA	: I ndol A setik A sit
PVK	: P ikovskaya Agar Besi yeri
MG	: M ycelial G rowth (Misel Gelişimi)
MGI	: M ycelial G rowth I nhibition (Misel Gelişimin Engellenmesi)
PCR	: P olimeraz C hain R eaction
PGPB	: P lant G rowth P romoting B acteria (Bitki Gelişimini Teşvik eden Bakteri)
YEA	: Y east E xtract Agar (Maya Bazlı Agar)
SPSS	: S tatistical P ackage for the S ocial S ciences

1. GİRİŞ

Bamya (*Abelmoschus esculentus* L.) Malvaceae (Ebegümecigiller) familyasına ait, tek yıllık, beş bölmeli yeşil hafif tüylü meyvesi ve yuvarlak tohumlu görünüşte, kurağa dayanıklı, ucuz ve bol vitamin kaynağı olması, besleyici özelliğinden dolayı dünyanın tropik ve subtropik birçok bölgesinde en çok üretilen sebzelerden biridir. Sıcak iklim bitkisi olması nedeniyle, Güney Asya ve Batı Afrika'da yaygın olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır. Özellikle Doğu Asya ülkeleri ve Hindistan mutfağında önemli sebzelerin başında gelen bamya, ülkemizde genellikle yaz aylarında taze olarak tüketilmekte olup, son yıllarda dondurulmuş ürün halinde her mevsim tüketicilere marketlerde sunulmaktadır. Bamya bitkisinin tohum sayısının ve yağ oranı içeriğinin fazla olması sebebiyle, sebze olarak tüketilmesinin yanısıra yağlık bir bitki olarak üretilmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Bamya meyvelerinin içeriğinde A, B1, B2, C, K vitaminleri, niacin, protein, yağ, karbonhidrat, potasyum, kalsiyum ve demir bulunur. Lif oranı yüksek bir besin olan bamya, taze olarak tüketildiği gibi, idrar söktürücü, mide ve bağırsakların düzenli çalışmasını sağlayarak sindirim sistemine yardımcı olmak suretiyle sayısız faydalara sahiptir. Mineraller açısından da zengin bir sebze olan bamya, halsizliğe iyi gelir. Çiçekleri ezilip kaynatılarak suyu içilirse göğsü rahatlatır ve yumuşatır (Anonim, 2022).

Bamya, sıcak iklim sebzesi olduğundan dolayı ekim için hava sıcaklığının 16°C, toprak sıcaklığının ise 15°C üzerine çıkması gerekir. Ekim tarihi havanın ve toprağın sıcaklığına ve tavına göre 15-20 gün arasında değişiklik gösterebilmektedir. Bamya ılıman iklimlerde tek yıllık, tropikal iklimlerde ise çok yıllık bir bitkidir. Bitki 5-6°C sıcaklığa kadar dayanma özelliğine sahip olmasına rağmen düşük sıcaklıklarda verimde gözle görülebilir bir düşme meydana gelir. Yaz döneminin kısa olduğu dönemlerde bodur ve erkenci çeşitlerin yetiştirilmesi tercih edilmektedir. Bamya bitkisinde toprak seçiciliği yoktur ancak en iyi geliştiği toprak çeşidi derin, geçirgen ve kumlu-tınlı topraklardır. Nemli toprağa ekim yapılması tavsiye edilmez. Yetiştirilecek toprağın pH değerinin 5.0 ile 8.0 arasında olması tavsiye edilir. Bamya bitkisi kurak koşullara adapte olduğu için kökleri derinlere kadar inebilir. Uygun şartlarda yetiştirilen bamyanın kökleri, 0-50 cm uzunluğundadır ve kazık kök yapısı çok kuvvetlidir. Gövde yapısı ise dik olarak gelişme gösterir. Uzunluğu tek yıllıklarda 80-120 cm'dir. Genç aksamalarda

gövdenin üzerinde tüyler bulunur ve bu tüyler zaman geçtikçe diken formunu alabilir. Yaprakları asma yaprağının şeklini andırır, yaprağın alt ve üstünde çok sayıda tüy bulunur.

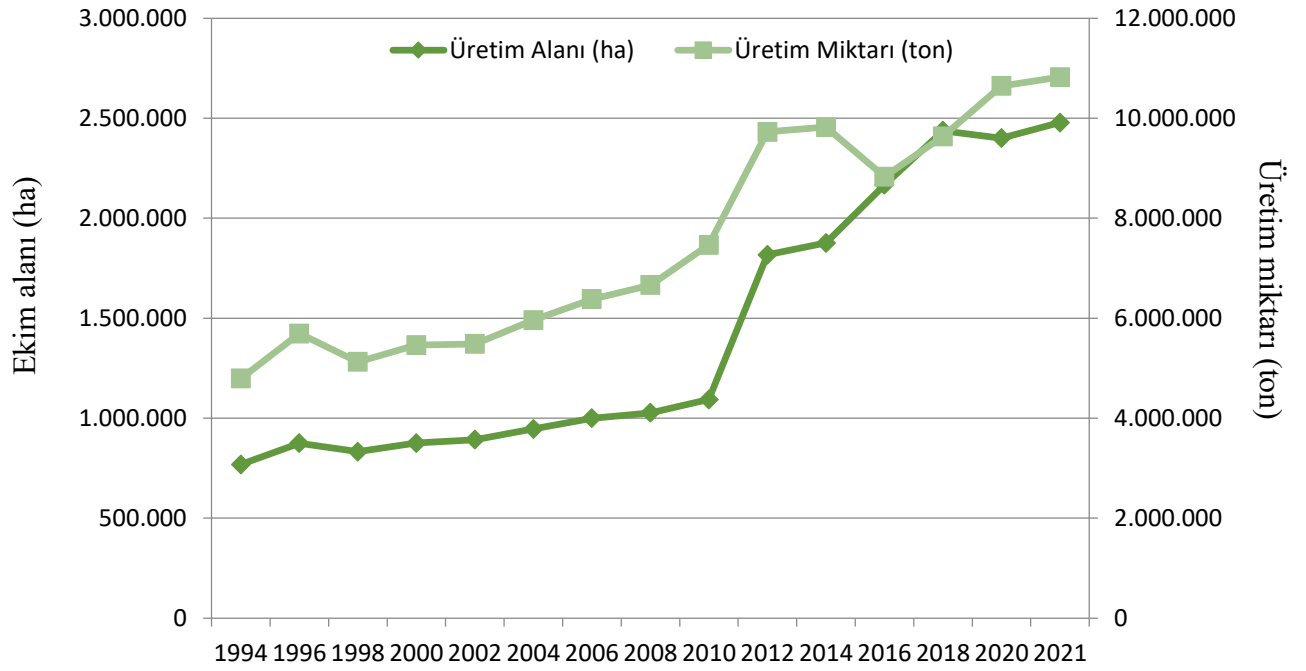
Çiçekler, yaprakların dal ile birleştiği yerde oluşmuş olup her çiçekte 8 tane çanak yaprak bulunur. Çiçeklerin rengi yeşil, kırmızı-yeşil arasında değişebilir. Çiçek yapısı erdişi formundadır ve kendine dölleme durumu oldukça sık görülür. Meyve uzunluk olarak 1-5 cm olduğu zaman yeşil renkte olup 10-15 cm uzunluğuna geldiği zaman rengi değişerek kahverengileşir. Meyvenin üzerinde de tüyler mevcuttur ve tüylerin birleşim yerinde salgı bezleri bulunmaktadır. Tohumun oluşumu meyve içerisinde meydana gelir ve şekli yuvarlaktır. Bir adet meyvedeki tohum sayısı 70 ile 90 arası değişebilmektedir. Tohumlar normal koşullarda 2-3 yıl boyunca canlılıklarını kaybetmezler.

Bamyanın hasat zamanı meyve boyutu 1-3 cm olduğu zaman yapılır ve hasat yöntemi el ile meyvesinin sap kısmından koparılma şeklindedir. Hasat zamanı geciktikçe meyvenin içindeki selüloz oranı yükselir ve tohum oluşur (Anonim 2022).

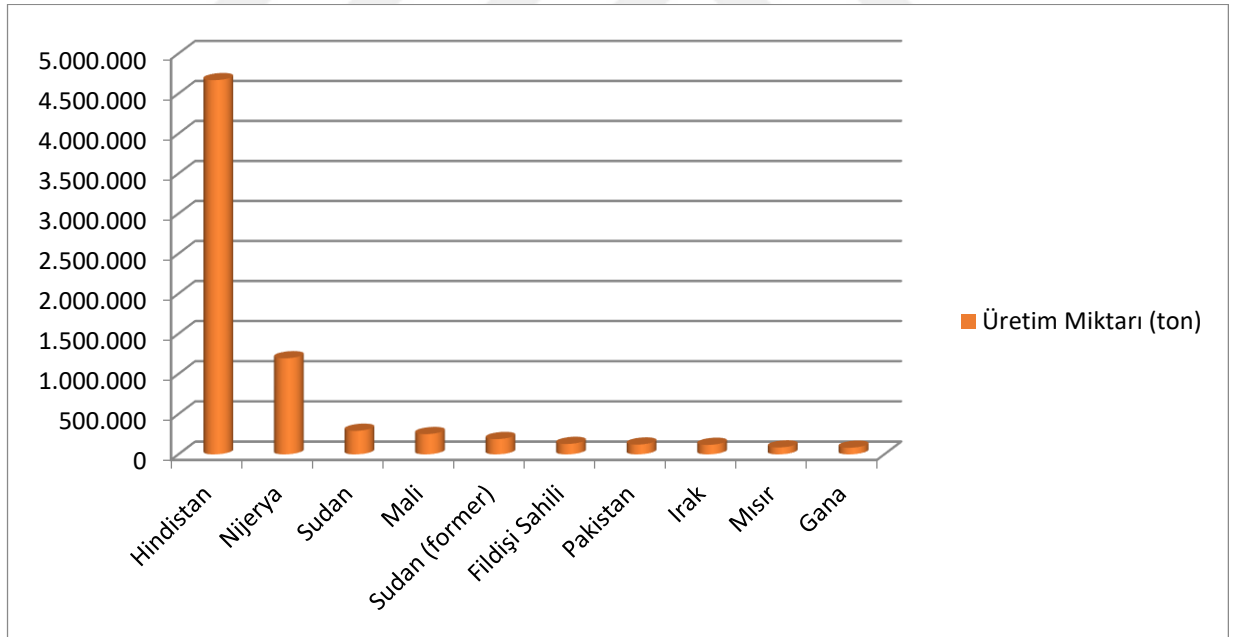
Bamya bitkisinin çiçeklenme dönemi genel olarak tohum ekiminden 40-60 gün sonra başlar. Çiçeklenme döneminden sonra oluşan meyve kullanım şekline göre 1 ya da 3-4 günlük bir zaman dilimi içinde kullanılmalıdır. Hasatın düzenli ve sık olarak yapılması gerekir. Hasat dönemi yeni çiçek oluşumunu da etkiler. Hasat süreci 1-5 ay arasında olmaktadır.

Bamya bitkisi uzun ömürlü bir sebze olmamasından ötürü hasattan sonra çok geciktirmeden torba, çuval ya da kasalara konulmalıdır. Beklemiş meyvede kararmalar meydana gelir ve bu da kaliteyi düşürerek pazar değerinde düşüşe neden olur. Depolama koşullarının 7-10 °C ve %90 nem olması şartıyla 8-10 gün arası depolama yapılabilir.

Dünya genelinde 2021 yılında bamya üretimi 2.478.132 ha alanda 10.822.248 ton olarak gerçekleşmiştir (Şekil 1.1, Anonymous, 2021). Dünyanın önde gelen bamya üretici ülkeleri arasında Hindistan 6.466.000 ton üretimi ile başta gelirken, bu ülkeleri sırasıyla Nijerya, Sudan, Mali, Fildişi Sahili, Pakistan, Irak, Mısır, Gana takip etmiştir (Şekil 1.2).



Şekil 1.1. Dünya genelinde yıllara göre toplam bamya üretim miktarı (ton) ve alanı (ha).



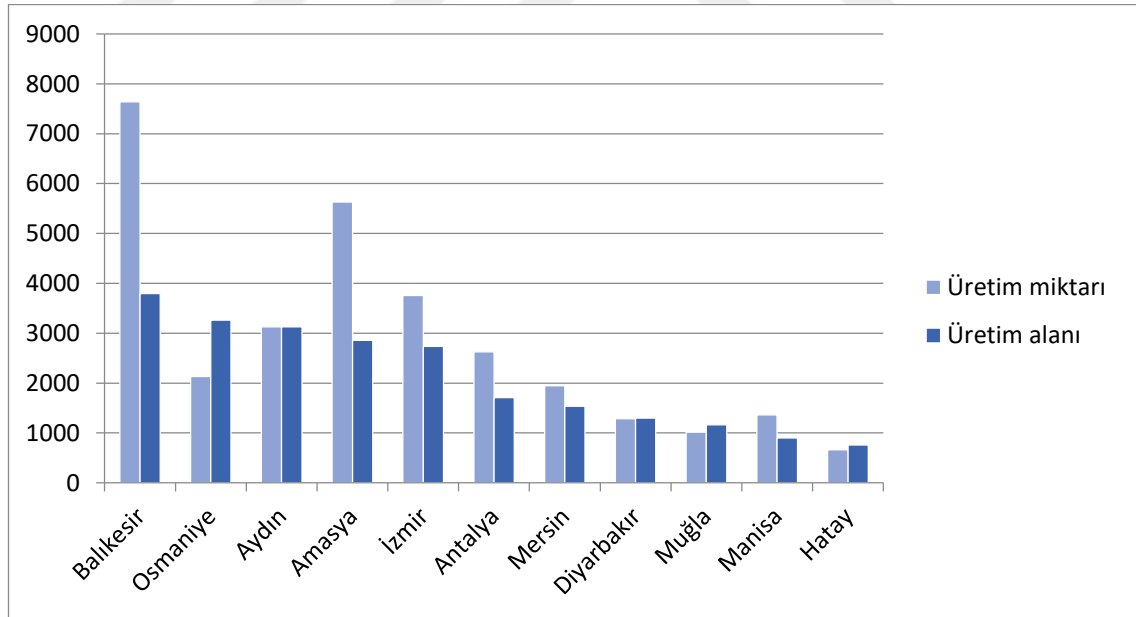
Şekil 1.2. Dünyada en fazla bamya üretimi (ton) yapan ilk 10 ülke.

Ülkemizde 2022 yılında, bamya üretimi yapılan toplam alan 45.542 da olurken toplam üretim miktarı 30.484 ton olmuştur. Ülkemizde bamya ekim alanı en fazla olan il 7.637 da ile Balıkesir olarak bildirilmiştir. Balıkesir'i 5.628 da ile Amasya, 3.754 da

ile İzmir, 3.126 da ile Aydın, 2.623 da ile Antalya, 2.137 da ile Bursa, 2.130 da ile Osmaniye, 1.946 da ile Mersin, 1.608 da ile Denizli ve 1.360 da ile Manisa takip etmiştir. Hatay ili ise 659 dekar ile 17. sırada yerini aldığı Şekil 1.3'te görülmektedir (Anonim, 2022).

Türkiye’de 2022 yılında bamya üretim miktarı toplam 30.484 ton olurken en fazla üretim yapan il (Şekil 1.3) 3.796 ton ile Balıkesir, ikinci sırada 3.259 ton ile Osmaniye, 3.124 ton ile Aydın, 2.855 ton ile Amasya, 2.736 ton ile İzmir, 1.707 ton ile Antalya, 1.533 ton ile Mersin, 1.298 ton ile Diyarbakır, 1.164 ton ile Muğla, 899 ton ile Manisa gelmektedir. Hatay ise 760 ton ile 13. sırada yer almıştır (Anonim, 2022).

Hatay’ın ilinde ise üretim alanı en fazla olan ilçeler 150 da ile Antakya ve Arsuz, 115 da ile Samandağ, 110 da ile Erzin, 75 da ile Defne, 27 da ile Yayladağ, 20 da ile İskenderun ve 12 da ile Reyhanlı şeklinde sıralanmıştır. Üretim miktarı açısından değerlendirildiğinde ise 200 ton ile en fazla Antakya ilçesinde, 180 ton ile Arsuz, 150 ton ile Samandağ, 99 ton ile Erzin, 75 ton ile Defne, 23 ton ile İskenderun, 22 ton ile Yayladağı ve 11 ton ile Reyhanlı sıralamayı takip etmiştir (Anonim, 2022).



Şekil 1.3. Türkiye’de en fazla bamya yetiştiriciliği yapılan ilk 10 il.

Ülkemizde genellikle bamya yetiştiriciliği özellikle Ege ve Marmara bölgelerinde yoğunlaşmış olup, son yıllarda halkın giderek artan yoğun ilgi ve talebinden dolayı Karadeniz ve Akdeniz bölgelerinde de yetiştiriciliği yaygınlık kazanmıştır. Söz konusu

bu durumdan dolayı zaman içerisinde iklimle uyum sağlayan Amasya bamyası, Bornova bamyası, Balıkesir bamyası ve Sultani bamyası gibi yerel bamyası çeşitleri geliştirilerek yetiştiricilik alanları genişlemiştir.

Bornova bamyası; Ege bölgesinde yaygın olarak yetiştirilir. Bornova bamyasının kullanım alanı genellikle sofralık ve konservelik olmuştur. Ayrıca bu bamyası türüne Manikürlü bamyası ve Kınalı bamyası da denilmektedir. Bu bamyası çeşidi sümüksü yapı oluşturmadığından dolayı konserve yapımı için de idealdir. Meyve yapısı olarak Sultani bamyası çeşidinden kısa, uçları şişkin ve beş köşelidir.

Balıkesir bamyası diğer bir deyişle Tombul Bamyası; kısa, altı köşeli, etli, ucu kısa meyve özelliğindedir. Bu çeşit hem taze tüketim için hem de konserve yapımı için idealdir. Ekildikleri bölgelerin ve toprakların özelliklerine göre aroma ve dış görünüş olarak farklılık göstermiştir.

Sultani Bamyası; Dünya’da ve Türkiye’de oldukça yaygın olarak yetiştirilen bir çeşittir. Balıkesir bamyasından farkı köşe sayısı olmuştur. Balıkesir bamyasında köşe sayısı altı iken Sultani bamyada beş olmuştur. Bu çeşit oldukça yumuşak ve lezzetli olduğu için hazır konservelerde en çok kullanılan çeşit olarak bilinmektedir. Ayrıca hasatı geç yapılırsa bile selülozlaşma oranı oldukça yavaş bir şekilde olduğundan dolayı daha çok Ege ve Marmara bölgelerinde yetiştiriciliği yapılır. Amasya Bamyası yani çiçek bamyası ülkemizde özellikle kurutmalık olarak kullanılmaktadır. Daha çok Amasya ve Tokat’ta yetiştiriciliği yapılmaktadır. Çiçek bamyası denilmesinin nedeni çiçek açtıktan sonra tam gelişimi beklenmeden hasadının yapılmasıdır. Bundan dolayı oldukça hassas bir yapıya sahiptir.

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de bamyası bitkisine talep artışıyla beraber bamyası yetiştiriciliği yapılan alanlarda da artış görülmüştür ve bu durumdan dolayı fungal, bakteriyel ve viral hastalıklar ile zararlılar da önemli oranda ürün kayıplarına neden olmuştur (Agrios, 2005). Hastalık ve zararlılardan dolayı ürün kayıpları bamyası yetiştiricilik alanları fazla olan Afrika ve Doğu Asya ülkelerinde rapor edilmiştir. Dünyada farklı bölgelerde yetişen farklı bamyası türlerinde de tohum, yaprak ve toprak kökenli çok sayıda fungal ve bakteriyel patojenler tespit edilmiştir. Hastalık etmenleri arasında yaprakta en fazla görülen patojen bamyası külleme etmeni *Erysiphe cichoracearum* DC. ex Merat olmuştur. Pakistan’da yapılan sorveyler sonucunda tohum kökenli 10 tane olmak üzere 14 farklı fungal patojen belirlenerek bu türlerin arasında

verimi en çok etkileyen önemli türlerin; fide yanıklığına neden olan *Fusarium* spp., *F. oxysporum*, *F. moniliforme* vb., gövde çürüklüğüne neden olan *Macrophomina phaseolina*, antraknoz *Colletotrichum dematium* ve geriye doğru ölüm hastalıkları olduğu bildirilmiştir (Anam ve ark., 2002).

Hastalıklı bamya bitkilerine ait tohumlardan yapılan izolasyonlar sonucunda *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Curvularia lunata*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Stemphylium botryosum*, *Penicillium digitatum* ve *Pythium aphanidermatum* gibi toprak kökenli fungal hastalık etmenleri moleküler çalışmalarla tanılanmıştır (Al-Kassim ve Monawar, 2000; Odofin, 2010). Bamya bitkilerinde görülen hastalık belirtilerinden solgunluk, yaprak lekesi, gövde kanseri ve meyve yanıklığı patojenlerinin tespiti için morfolojik tanılama çalışmalarının sonucunda *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium chlamydosporum* ve *Choanephora cucurbitarum* hastalık etmenleri tespit edilmiştir.

Dünyada farklı iklimlerde ve bölgelerde yetiştiriciliği yapılan bamya bitkilerinde *Phytophthora nicotianae* Irak'ta (Matny, 2013), *Verticillium dahliae* Kuzey Çin'de (Zhai ve ark., 2019), *Cercospora malayensis* (Ju ve ark., 2020) ve *Podosphaera xanthii* (Choi ve ark., 2018) Güney Kore'de, *Podosphaera xanthii* (Fan ve ark., 2019), *Alternaria alternata* (Chai ve ark., 2019), *Colletotrichum gloeosporioides* (Shi ve ark., 2019), *Choanephora cucurbitarum* (Liu ve ark., 2019), *Pythium aphanidermatum* (Qu ve ark., 2021), *Cercospora* cf. *flagellaris* Çin'de (Chai ve ark., 2021), *Sclerotium rolfsii* Fildişi Sahili'nde (Kone ve ark., 2010), *Colletotrichum plurivorum* ise Brezilya'da (Batista ve ark., 2020) ilk kayıt olarak bildirilen hastalık etmenleri olmuştur. Yaptığımız literatür araştırmalarında ise ülkemizde bamya yetiştirilen alanlarda olumsuz etki oluşturan fungal veya bakteriyel hastalıklar, bunların yaygınlığı ve durum tespitine yönelik yapılmış çalışmaya rastlanılmamıştır.

Fusarium türleri iletim demetlerine etki eden patojenler arasında en yaygın ve önemli hastalıklardan birisi olmuştur. Bu hastalığın türleri genel olarak makrokonidilerle, misel ya da klamidiosporlarla bitkileri enfekte eder. Hayat çemberi dormant, parazitik ve saprofitik aşamalar olarak ayrılmıştır. *Fusarium* farklı bitkiler üzerinde büyük ekonomik kayıplara neden olduğundan dolayı önemli bir patojen olarak bilinmektedir (Okungbowa ve Shittu, 2012). *Fusarium oxysporum*'un neden olduğu *Fusarium* solgunluğu, birçok süs ve bahçe bitkisinin en yaygın ve yıkıcı hastalıklarından

biri olmuştur (Beckman, 1987). *Fusarium oxysporum*'un hastalıklı bitkilerde olduğu kadar toprakta ve tohumda da bulunması nedeniyle hastalığın daha yaygın hale gelmesi söz konusudur (Okunbowa ve Shittu, 2012).

Etkilenen bitkiler, gövdelerin tabanından başlayarak koyu kahverengiden siyaha doğru bir renk değişikliği göstermiştir (Şekil 1.4). *Fusarium solgunluğu*; çiçek ve tohum düşmesi, tohum çürümesi, küçülmüş tohum, tohum ve yaprak nekrozu, renk bozulması, çimlenmede azalma ve bitki canlılığında azalma olmak üzere hasarlara neden olmuştur (Okwu ve ark. 2005). *Fusarium*'a ait ilk belirtiler genellikle bitkinin bir tarafında, alt yapraklarda sararma ve kuruma olarak ortaya çıkmıştır. Hastalık ilerledikçe yaprak sararması, nekroz ve bitki bodurluğu daha belirgin bir şekil almıştır. Bu belirtileri vasküler renk değişikliği ve gövdede nekroz takip eder. Bitkide kökten başlayarak tamamına yayılan solgunluk görülür ve sonunda da bitki ölür (Beckman, 1987). *F. oxysporum* toprakta yüksek oranda saprofitik hayatta kalma potansiyeline sahip olduğundan dolayı toprağın temiz ve bitkilerin sağlıklı olması hastalığa karşı mücadelede önemli bir faktördür (Okwu ve ark., 2007).

Bamyada hastalık oluşturan farklı bitki patojenleri arasında toprak kaynaklı en yıkıcı hastalık etmenlerinin başında *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid gelmiştir (Hafiz, 1986). Dünya çapında çok geniş bir konukçu yelpazesine sahip olan *M. phaseolina* etmeninin 500'den fazla kültür ve yabani bitkide hastalığa neden olduğu tespit edilmiştir (Jones ve Canada, 1994; Khanzada ve ark., 2012). Kültür bitkileri yüksek sıcaklık ve düşük nem gibi çevresel stres faktörlerine maruz kaldığında ve çoğunlukla yaz mevsiminde fungal etmenin görülme sıklığında artış gözlemlenmiştir (Abdulhassan, 2020; Gulya ve ark., 2002). Hastalık etmeni genellikle 2 ile 3 hafta boyunca toprak sıcaklığının 27-35 °C'ye kadar düştüğü zaman gelişimini arttırdığı görülmüştür (Yang ve Navi, 2003). Bazı kültür bitkilerinde hastalıktan kaynaklı yaklaşık %5-100 arası verim kaybı kayıtlara geçmiştir (Vyas, 1981). *M. phaseolina* hastalık etmeni misel formunda yedi günden fazla yaşayamazken, sklerot formunda toprakta 10 aydan fazla yaşama potansiyeline sahiptir (Ghaffar ve Akhtar, 1968). Bu fungus içi boş gövde oluşumuna, kök çürüklüğüne, çıkış öncesi ve çıkış sonrası çökertene neden olmaktadır (Reuveni ve ark., 1983; Khanzada ve ark. 2012).

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary, bitki patojenlerinin en yıkıcı olanlarından birisi olarak bilinmektedir. *S. sclerotiorum*'un dünya çapında kültür bitkileri ve yabancı

otlar dahil 400'den fazla konukçusu vardır ve bu konukçular içinde çift çenekli bitkiler (ayçiçeği, soya fasulyesi, kolza, yağlı tohumlar, yenilebilir kuru fasulye, nohut, yer fıstığı, kuru bezelye, mercimek ve çeşitli sebzeler) ve tek çenekli bazı türler için tehlike oluşturmaktadır. ABD'de *S. sclerotiorum*' dan kaynaklanan toplam yıllık kaybın 200 milyon doları aştığı belirtilmiştir. ABD'de 1999 yılında meydana gelen Sclerotinia epidemisi sırasında, ekin kaybının toplam değeri 100 milyon dolara kadar yükselmiştir. Kültür bitkilerinde meydana gelen hasar miktarı, bitkilerin bu hastalığa direncinin az olması, hastalığın kontrolünün zor olması gibi etkenler *S. sclerotiorum* üzerine detaylı araştırmalar yapılması için teşvik edici faktörler olmuştur.

Hastalık etmeni için ABD'de yapılan kongrede hastalık kontrolü üzerine AR-GE çalışmalarını teşvik etmek amacıyla Tarım Bakanlığı tarafından yönetilen Uluslararası Sclerotinia Girişimi için destek ve mali yardım yapmıştır (Bolton ve ark., 2006). *S. sclerotiorum* diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi bamyada da görülen önemli bir hastalık olmuştur. Hastalık enfekteli dokuların üzerinde kabarık beyaz miselyum tabakası oluşturarak üzerinde uzun süre hayatta kalabilme yeteneğine sahip siyah sklerotlar oluşturur. Oluşan sklerotlardan dolayı hastalığın mücadelesi oldukça zordur (Prova ve ark., 2017). Hastalık tüm bitkiye ilerleyerek lezyonlara; nekroz ve bitki dokusunun çürümesine neden olur (Fischer ve ark., 2014).

Rhizoctonia cinsinin en önemli türü olan *Rhizoctonia solani*, konukçu çeşitliliği ve yaptığı zarar açısından toprak kaynaklı önemli bir bitki patojenidir. Konukçuları arasında Poaceae (mısır, pirinç, buğday, arpa, yulaf), Fabaceae (soya fasulyesi, fındık, kuru fasulye, yonca, nohut, mercimek, bezelye), Solanaceae (tütün, patates), Amaranthaceae (şeker pancarı), Brassicaceae (kanola), Rubiaceae (kahve), Malvaceae (pamuk, bamyası), Asteraceae (marul), Araceae (pothos), Moraceae (ficus) ve Linaceae (keten) familyasındaki bitkiler yer alır (Ajayi-Oyetundea ve Bradley, 2018). Fide yanıklığı, kök çürüklüğü ve hipokotil çürükleri, duyarlı genotipler yüksek riskli tarlalara ve hastalık gelişimi için uygun koşullara ekildiğinde gözlemlenen tipik semptomlar olarak belirlenmiştir (Yang, 2015). Farklı bitkilerde tohum ve kök çürüklüğü, taç çürüklüğü, gövde çürüklüğü, gövde kanseri, kabukta siyahlaşma, fide yanıklığı ve çıkış öncesi ve sonrası çökerten hastalığı görülmüştür (Ajayi-Oyetundea ve Bradley, 2018).



Şekil 1.4. Hatay ili genelinde yetiştirilen bamya bitkilerinin kök, gövde, meyve ve tohumlarında sorun hastalık etmenleri tarafından oluşturulan tipik belirtiler (ok).

Belirli bir alanda sürekli aynı ürünün yetiştirilmesi, toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinin gelişmesine neden olarak önemli sorun oluşturmuşlardır. Toprak kökenli hastalık etmenleri toprakta, toprağa içine karışmış bitki/hasat artıklarında ve kök

dokularında aylarca veya yıllarca canlılığını sürdürebilme yeteneğinde olan mikroorganizmalardır. Toprak kökenli hastalık etmenleri abiyotik streslere ve olumsuz iklim koşullarına dayanıklı sklerot, klamidospore ve benzeri eşeyli/eşeysiz yapılar üretmelerinden dolayı bu tür hastalıklarla mücadele etmek oldukça güçtür. Dünyada gıda ve yem varlığının ve veriminin korunması için bitkilerde görülen hastalıkların kontrol altına alınması oldukça önem taşımaktadır. Hastalıkların kontrolünde kültürel yöntemler kullanılsa bile üreticiler genellikle kimyasal ürünlere ve pestisitlere önemli ölçüde yönelmiştir. İlk zamanlarda pestisit kullanımı hastalıkların önlenmesi ve verim artışında önemli faydalar sağlamış olsa bile son 100 yılda aşırı ve sık kullanım, yüksek doz ve yanlış zamanlarda ilaçların kullanımı önemli ölçüde bitkide kalıntı sorunu ve çevre kirliliğine neden olmuştur (Pal ve ark., 2006). Pestisitlerin bilinçsiz ve aşırı kullanımı sonucu çevrenin kirlenmesi, doğal dengenin bozulması ve bitki hastalıklarının kullanılan pestisitlere karşı direnç kazanması ile sonuçlanırken, son yıllarda bitki hastalıkları ile mücadelede kimyasallara alternatif yöntemlerin kullanımı üzerine yapılan çalışmalar önem kazanmıştır (Staub, 1991).

Tohum ve toprak kökenli fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı dezenfektanların kullanımı, sıcak su, UV radyasyon, mikrodalga gibi fiziksel uygulamalar, kimyasal, abiyotik ve biyotik kökenli uyarıcıların (salisilik asit, BTH, BABA, INA vb.) kullanımı, bitki uçucu yağ ve ekstraktların uygulanması kimyasal mücadele yöntemlerine alternatif olarak kullanılan başlıca mücadele şekilleridir. Bitki hastalıklarıyla mücadelede kimyasallara alternatif yöntemler arasında “biyolojik mücadele” ve biyolojik mücadele ürünlerinin (biyopreparat) kullanımı son yıllarda ilk sırayı almıştır. Özellikle gelişmiş ülkelerde kimyasal pestisit kullanımının sebep olduğu olumsuzluklar nedeniyle hastalıklarla mücadelede “biyolojik mücadele etmenlerinin” kullanıldığı sürdürülebilir mücadele çalışmalarına yönelik çalışmalara hız verilmiştir (Cook, 1993; Guo ve ark., 2004; Huang ve ark., 2005).

Biyolojik mücadeledeki amaçlardan birisi de bitkilerde bulunan yararlı mikroorganizmaların bitkinin kök bölgesinde toplanmasına yardımcı olarak bitkilerin direncini artırıp hastalanmasının engellenmesidir (Chet ve Inbar, 1994; Benítez ve ark., 2004). Biyolojik mücadelede kullanılan biyolojik mücadele ürünleri adı verilen faydalı mikroorganizmalar patojenle besin ve yer rekabeti yaparak, çeşitli kimyasallar ve

antibiyotikler üreterek, kültür bitkisinin dayanıklılık ve savunma mekanizmasını artırarak veya hiperparazitizm ile etkili olmaktadır.

Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadele kapsamında kullanılan biyopreparat ürünlerde faydalı bakteriyel, fungal ve viral mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Bu tür preparatlar içerisinde etkin madde olarak yer alan, bitkilerin kök (rizosfer) bölgesinden ve etrafında yaşayan, bitki gelişmesini teşvik eden faydalı bakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacter, PGPR) olarak adlandırılır. Bu türdeki faydalı bakteriler konukçu kültür bitkilerini; hastalık etmeninin zararından, kültür bitkilerinin topraktan besin alımını hızlandırarak yabancı otlardan dolayı oluşan zararlanmadan (Babalola ve ark. 2007), bitkilerin yetiştiği ortamlardaki tuzluluk, kuraklık, ağır metal kirliliği, pH dengesizliği gibi abiyotik streslerden (Egamberdiva 2008; Zahir ve ark. 2008; Kaymak ve ark. 2009; Kumar ve ark 2009) korunmasında yardımcı olurlar.

Bazı PGPR'ler bitki gelişmesini teşvik etmede birden fazla etki mekanizmasını harekete geçirebilir (Ahmad ve ark. 2008). Antibiyosis, hiperparazitizm, patojenlerle besin ve yer rekabetine girerek, antimikrobiyal bileşenler/metabolitler, siderofor, organik asit, indol asetik asit (IAA), amonyak (NH₃), hidrojen siyanür (HCN), proteaz, kitinaz, selüloz gibi litik enzimleri üretmek suretiyle ve birçok farklı etki mekanizmaları kullanarak faydalı bakteriler hastalıklara karşı etkinlik gösterebilir. Bu tür faydalı bakteriler ayrıca toprak parçalarına tutunarak topraktaki organik maddeleri inorganik maddelere çevirerek toprağın verimini arttırdığı gibi, toprakta var olan ancak bitkinin alabileceği formda bulunmayan besin maddelerini bitki tarafından alınabilir forma çevirerek bitkiye faydalı olabilir (Babalola, 2010). Bu mekanizmaların yanısıra faydalı bakteriler konukçu bitkide hastalık etmenlerine karşı dayanıklılığı teşvik ederek de etkili olabilirler.

Yaptığımız literatür araştırmaları sonucunda bamya bitkisinde görülen tohum ve toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı bitki uçucu yağ ve biyolojik mücadelesi ile ilgili oldukça az sayıda çalışmanın yapıldığı belirlenmiştir (Hossain ve Doullah, 1998; Ali ve ark., 2001; Anam ve ark., 2002; Aloui ve ark., 2017; Abduhu ve ark., 2018; Jabeen ve ark., 2021; Urooj ve ark., 2021; Singh ve ark., 2021).

Bu çalışmada; **(i)** Hatay ilinin farklı ilçelerinde yetiştiriciliği yapılan bamya bitkilerinde görülen tohum ve toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinin izolasyonu, **(ii)** tanılanması, **(iii)** tohum ve toprak kökenli yaygın fungal hastalık etmenlerin misel

gelişimlerinin engellenmesi üzerine sağlıklı banya bitkileri ile yakın akraba konukçu bitkilerin farklı kısımlarından izole edilip tanılanan epifit ve endofit bakterilerin *in vitro* antagonistik etkileri, (iv) bakterilerin fungal etmenlerin misel gelişimini engellemede ve bitki gelişimini teşvik etmede rol oynayan bazı mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bamya Bitkisinde Sorun Olan Hastalık Etmenlerinin Dünya ve Ülkemiz Genelindeki Durumu

Oluma ve Nwankiti (2000), Nijerya’da hasat mevsiminde yağmur ormanlarından ve savan bölgelerinden hastalık belirtisi gösteren 50 farklı bamya bitkisi toplanarak yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda hastalık belirtisine neden olan fungal etmenin *Macrophomina phaseolina* olduğu tespit edilmiştir. Kurak ve yağışlı zaman süresince hastalığın yayılma oranı %60-80 ile %30-40 oranlarında değiştiği, hastalık oranı 4. haftada %10-14, 8.haftada ise %50-55 oranında gerçekleştiği bildirilmiştir. Meyvelerin çoğunda çürüme meydana gelirken, yara kısmından verilen patojenin hastalık yapmada daha çok etkili olduğu gözlenmiştir. Yaralı ve sağlam olan 2 günlük bitkilerin çürüme oranları, 7 günlük meyvelere göre daha fazla olmuştur. Elde edilen sonuçlar yaşlı bitkilerin enfeksiyona karşı daha duyarlı olduğunu göstermiştir. Bu çalışma Nijerya’da bamyada görülen *M. phaseolina*’nın kök ve meyve çürüklüğü hakkındaki ilk rapor niteliğini taşımaktadır.

Kone ve ark. (2010), Fildişi sahilinin Rubbino ilçesinde 2010 yılının Ocak ayında sebze tarlalarında yapmış oldukları sörveylerde bamyada bazı hastalık belirtileri gözlemlemiştir. Hastalığın belirtileri, gövdenin toprağa yakın noktalarında koyu kahverengi lekeler, kökün üst kısımlarında koyulaşma, bitkinin alt yapraklarında ise sararma şeklinde karakterize edilmiştir. Hastalığın ilerleyen aşamasında gövdede beyaz pamuksu misel gelişimi ve bu miseller üzerinde ve toprak yüzeyinde oldukça fazla sayıda açık renkli sklerot oluşumları görülmüştür. Hastalığın görüldüğü tarlalarda hastalığın yayılma oranının %15’e kadar yükseldiği bildirilmiştir. Fungusun başlangıçtaki beyaz yapılı sklerotları daha sonra kahverengiye dönmüştür. Yapılan teşhis çalışmaları sonucunda hastalık etmeni *Sclerotinia rolfsii* olarak tanımlanmıştır. Kontrollü olarak sera koşullarında sklerotların toprağa ve 4 haftalık bamya fidelerine verilmesi sonucu benzer simptomlar gözlenmiştir. *S. rolfsii*’nin Fildişi sahillerinde farklı bitkilerde hastalığa neden olduğu bilinmekte olup, bamyalarda hastalık yaptığı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Mathny (2013), tarafından Irak'ta yetiştirilen bamya tarlalarında yapılan sörveylerde, solgunluk hastalığı belirtileri gösteren bitkilerden oomycet hastalık etmeni *Phytophthora nicotianae*'yi morfolojik ve moleküler özelliklerine göre tanılamışlardır.

Li ve ark. (2015), Çin'in Pekin eyaletinde yetiştirilen bamya bitkilerinde yapmış oldukları sörvey çalışmalarında solgunluk belirtileri gözlemlemişlerdir. Enfekteli bitkilerde yapraklarda sararma ve solma aynı zamanda köklerde kahverengileşme görülmüştür. Hastalıklı bitkilerden alınan örnekler izole edildiğinde bu etmenin *Fusarium solani* olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma Çin'de bamya bitkisinde *F. solani*'nin yıkıcı olduğunun ve hastalığın belirlendiğine dair ilk rapor olmuştur.

Prova ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmada Bangladeş'in Gazipur bölgesinde yetiştirilen bamya (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) 'BARI Dherosh-1', bitkilerinde çürüme şeklinde belirtilere rastlanılmıştır. Etkilenen bitkilerde kabarık beyaz miselyum ve büyük sklerota sahip fungal etmen izole edilmiştir. Morfolojik, moleküler ve patolojik analizlerin birleşik sonuçlarına göre, hastalık etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary olarak tanımlanmıştır. Hastalık etmeninin sağlıklı bamya meyvelerine aşılması, sahada daha önce gözlemlenen simptomları tekrarlamıştır. Bu çalışma, Bangladeş'te bamya hastalığına neden olan *S. sclerotiorum*'a dair ilk rapor olmuştur.

Choi ve ark. (2018), Kore'nin Iksan bölgesinde sera alanlarında Red hope bamya çeşidine ait yaprakların her iki yüzeyinde de beyaz lekeler görmüştür. İlerleyen zamanlarda bu lekeler yayılarak yaprak gelişimini azaltmış ve yetiştiricilik yapılan alandaki bamya bitkilerinin yaklaşık %30'luk kısmını olumsuz yönde etkilemiştir. Hastalıklı bitkilerden yapılan izolasyon ve teşhis çalışmaları sonucunda söz konusu belirtilere külleme hastalığı etmeni *Podosphaera xanthii*'nin neden olduğu bildirilmiştir. *P. xanthii* tarafından neden olunan külleme hastalığı aynı zamanda Avustralya, Brezilya, Yunanistan, Hindistan, İsrail, Japonya, Sudan ve Tayvan'da da görülmüştür. Bu çalışma *P. xanthii* etmeninin Kore'de bamyada hastalığa neden olduğu ilk rapor niteliğini taşımaktadır.

Chai ve ark. (2019), 2014 Eylül ayında Pekin'in Yanging bölgesinde yetiştiriciliği yapılan bamya tarlalarındaki bitkilerin yaprak kısımlarında bazı belirtiler gözlemlenmiştir. Yapraktaki belirtileri ilk önce koyu kahverengi veya siyah renğinde 1-3 cm çapında düzensiz küçük yuvarlak nokta şeklinde karakterize edilmiştir. Zaman

geçtikçe oluşan noktalar birleşerek büyük çaplı nekroz alanlarına dönüşmüştür. Hastalığın görüldüğü alanlardan alınan örneklerden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen etmenler morfolojik ve moleküler olarak tanımlanmıştır. Bu analizlerin sonucunda hastalık etmeninin *Alternaria alternata* olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma Çin’de *A. alternata*’nın bamya bitkilerinde görüldüğüne dair ilk rapor olmuştur.

Fan ve ark. (2019), Çin’de 2018 yılının Ocak ayında serada yetiştirilen bamya bitkisinin Hongwufu çeşidinde külleme hastalığının belirtileri gözlemlenmiştir. İlk belirtiler yaşlı yaprakların alt ve üst kısımlarında beyaz lekeler halinde görülmüş ve bu lekeler önce bütün yaprağa daha sonra bitkinin tamamına yayılmıştır. Hastalıktan genç yapraklar daha çok etkilenmiş olup verimde gözle görülür bir azalma saptanmıştır. Enfekte olan örnekler toplanıp izole edilerek appresoryum yapısı, patojenisite testi ve moleküler analizlere göre değerlendirildiği zaman küllemeye neden olan hastalık etmeninin *Podosphaera xanthii* olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışma *P. xanthii*’nin Çin’de bamya bitkisinde hastalık yaptığı ilk çalışma olma özelliğini taşımıştır.

Liu ve ark. (2019), Çin’in Fujian eyaletinde ticari amaçla yetiştirilen bamya bitkilerinde yaprak yanıklığı belirtilerine neden olan hastalığın yaygın olduğu tarlalardaki bitkilerde verimi etkilediğini bildirmişlerdir. Hastalıklı yapraklardan yapılan izolasyonlardan gelişen etmenin sporangium yapısına göre yapılan teşhis sonucunda *Choanephora cucurbitarum* olarak tanımlanmıştır. Yapılan patojenite ve moleküler testlerle de bu teşhis doğrulanmıştır. Bilindiği kadarıyla bu çalışma Çin’de bamya yetiştirilen alanlarda *C. cucurbitarum*’un rapor edildiği ilk çalışmadır.

Shi ve ark. (2019), Çin’in Hunan kentinde serada yetiştirilen bamya bitkilerinde yaprak yanıklığı belirtileri gözlemlenmiştir. Belirtiler yaprakta sarı-kahverengi nekrotik ve çökük lekeler şeklinde görülmüştür. Alandaki beş farklı serada da yapılan sörvey çalışmaları sonucunda hastalığın yayılma oranının %60 olduğu tespit edilmiştir. Hastalıklı bitkilerden alınan örnekler izole edilip morfolojik ve genetik açıdan incelendiğinde hastalık etmeni *Colletotrichum gloeosporioides* olarak tanımlanmıştır. Çin’de söz konusu hastalık etmeni daha önce elma, üzüm, biber gibi bitkilerde görülmüştür. Fakat bu çalışma ile ilk defa hastalık etmeninin bamyada hastalık yaptığı rapor edilmiştir.

Zhai ve ark. (2019), Pekin’in Fangshan bölgesinde Mayıs ile Eylül ayları arasında bamya yetiştirme alanlarında aşamalı olarak yaprak sararması, solgunluk, damarlarda

koyu kahverengiye doğru renk değişimi ve bitkilerde ölüm gibi belirtiler gözlemlenmiştir. Hastalıklı bitki parçasının beyaz miselyum bölgesinden izolasyonu yapıldığında hastalığın *Verticillium dahliae* olduğu anlaşılmıştır. Yapılan çalışma bilindiği kadarıyla Çin’de *Verticillium solgunluğunun* bamya bitkisindeki varlığına dair ilk rapor olma özelliğini taşımıştır.

Batista ve ark. (2020), Brezilya’nın Altamira, Pará bölgelerinde bamya yetiştirilen alanlarda antraknoz belirtileri gözlemlemiştir. Simptom gösteren bitki parçaları toplanarak izolasyonu yapılmıştır. Yapılan filogenetik analizler ile patojenite testleri sonucunda hastalık etmeninin *Colletotrichum plurivorum* olduğu belirlenmiştir. *C. plurivorum* hastalık etmeni daha önce papaya ve manyok bitkilerinde de görülmüştür. Bu çalışma Brezilya’da bamya bitkisinde hastalığa neden olduğunu belirten ilk belge olmuştur.

Ju ve ark. (2020), Kore’nin Iksan kentindeki çiftliklerde yetiştirilen Green Hope bamya çeşidinde yapraklarda lekeler düzensiz şekilde önce kahverengi olarak oluşmuş, daha sonra bu lekeler kırmızı-kahverengine dönerek sarı kenar boşluğu ile çevrilmiş şekilde hastalık belirtileri gözlemlemiştir. Hastalıklı bitkilerden alınan örneklerin izolasyonu yapılarak patojenisite testine tabi tutulmuştur. Yapılan analizler sonucunda hastalık etmeninin *Cercospora malayensis* olduğu tespit edilmiştir. Hastalık etmeni daha önce birkaç ülkede bildirilmesine rağmen Kore’de bildirimi yapılmamıştır. Yapılan bu çalışma Kore’de bamya yetiştirilen alanlarda *C. malayensis*’in görülüp tespitinin yapılması ile ilgili ilk bildirim olmuştur.

Sitara ve ark. (2020), tarafından Pakistan’ın Karachi şehrindeki semt pazarlarından alınan acı kabak (*Casia momordica*), sarımsak (*Allium sativum*), bamya (*Abelmoschus esculentus*), soğan (*Allium cepa*) ve patates (*Solanum tuberosum*) olmak üzere beş sebzedden yapılan hastalık etmeni izolasyonları sonucunda 17 cinse ait 25 fungus türü tespit edilmiştir. Bu funguslardan en yaygınları *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea* ve *Fusarium oxysporum* olarak bildirilmiştir. Yapılan patojenisite testinde *A. niger*’in yaptığı en yüksek çürüklük oranı soğanda, en az çürüklük oranı ise bamyada görülmüştür.

Tok ve ark. (2020), Türkiye’nin sekiz farklı ilinden hastalık belirtisi gösteren bamya bitkilerinden 44 tane örnek toplanarak sera koşulları altında yapılan patojenisite testleri sonucunda hastalık etmeninin *Verticillium dahliae* olduğunu teşhis etmişlerdir.

Kullanılan on sekiz bamya çeşidinden Çorum, Hatay, Şanlıurfa'dan alınanlarda *Verticillium*'un farklı virülenslerine karşı toleransın oldukça düşük seviyede olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak bamyada sıklıkla görülen *Verticillium* hastalığına karşı dayanıklı genotipe sahip bamya bitkilerinin yetiştiriciliği yaygınlaştırılmalıdır.

Chai ve ark. (2021), 2018 Eylül ve 2019 Haziran ayları arasında Yanqing bölgesinde 2 hektarlık bamya alanında yapılan çalışmada bazı bamya bitkilerinin yapraklarında hastalık belirtileri gözlemlenmiştir. Belirtiler önce küçük kahverengi lekeler ve bu lekelerin çevresinde sarı hale oluşumu şeklinde görülmüştür. İlerleyen zamanlarda bu noktalar bir araya gelerek daha geniş lekeler oluşturmuş ve merkez kısmı grimsi beyaz renk almıştır. Hastalıklı yaprakların çevresinden alınan örneklerin izole edilmesi ve patojenisite testinin yapılması sonucu hastalığın *Cercospora* cf. *flagellaris* olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma hastalık etmeninin bamyada yaprak leke hastalığına neden olduğunu tespit eden ilk rapor niteliğinde olmuştur.

Hossain ve ark. (2021), bamya bitkilerinde solgunluk, yaprak lekesi, gövde kanseri ve meyve yanıklığına neden olan hastalık etmenlerin belirlenmesine yönelik yapmış oldukları morfolojik tanılama çalışmaları sonucunda, hastalıklı bitki örneklerinden *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium chlamydosporum* ve *Choanephora cucurbitarum* türlerini belirlemişlerdir.

Qu ve ark. (2022), yaptıkları çalışmada genellikle Çin'in Guangdong, Guangxi, Fujian, Hunan ve Hubei eyaletlerinde yetiştirilen Malvaceae familyasına ait olan bamyanın başka bir türü olan ve süs bitkisi olarak kullanılan *Abelmoschus manihot* (L.) yetiştirilen 1000 dönümlük alanda yapılan sorveyler sonucunda sap çürüklüğü gözlemlenmiştir. Hastalık ilk belirtileri önce sapta renk değişimi ve damarların siyahlaşması ile görülmüştür. Hastalık ilerledikçe sapın içi boş bir hale gelmiştir. Enfekteli bitkilerden alınan örnekler besi ortamlarında izole edilerek önce morfolojik özelliklerine göre daha sonra PCR testinin sonuçlarına göre sınıflandırıldığı zaman bu hastalık etmeninin *Pythium aphanidermatum* olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan bu çalışma Çin'de *P. aphanidermatum*'un *A. manihot* üzerinde gövde çürüklüğü yaptığını belirten ilk rapor niteliğini taşımaktadır.

2.2. Tohum ve Toprak Kökenli Hastalık Etmenleri ile Yapılan Biyolojik Mücadele Çalışmaları

Ehteshamulhaque ve ark. (1990), tarafından yapılan çalışmada, bamya, ayçiçeği, soya ve maş fasulyesinde *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium* spp.'nin neden olduğu kök çürüklüğü hastalığı ile mücadelede mikrobiyal antagonistlerin (*Trichoderma harzianum*, *Gliocladium virens*, *Paecilomyces lilacinus*, *Bacillus subtilis* ve *Streptomyces* sp.) tohum ve toprak ıslatma yoluyla biyoetkinlikleri araştırmıştır. Biyolojik mücadele etmeni izolatların hastalık etmenlerine karşı gösterdikleri etkinlikler konukçu bitki ve patojene göre değişiklikler göstermiştir. Maş fasulyesi, soya fasulyesi ve ayçiçeği bitkilerinde *G. virens* izolatı, soyafasulyesi ve bamya bitkilerinde *T. harzianum* ve *P. lilacinus* izolatları, soya fasulyesi ve ayçiçeğinde *B. subtilis* izolatı, sadece soya fasulyesinde ise *Streptomyces* sp. izolatı *M. phaseolina*'ya karşı yüksek düzeyde biyoetkinlik göstermiştir. Diğer yandan *T. harzianum*, *G. virens* ve *P. lilacinus* izolatları bamya, ayçiçeği, soya fasulyesi ve maş fasulyede, *B. subtilis* ve *Streptomyces* sp. izolatı bamya, ayçiçeği ve soya fasulyesinde sorun olan *R. solani* hastalık etmenine karşı etkili olarak bulunmuştur. *T. harzianum*, *G. virens*, *P. lilacinus*, *B. subtilis* ve *Streptomyces* sp., bamya ve ayçiçeğinde, *T. harzianum*, *G. virens* ve *P. lilacinus* ayçiçeğinde; *T. harzianum* ve *B. subtilis* izolatları ise maşfasulyesinde solgunluk hastalığı etmeni *Fusarium* sp.'ye karşı biyoetkinlik göstermiştir.

Alabouvette ve ark. (1993) tarafından, *Fusarium* solgunluğunun az görüldüğü alanlarda yapılan çalışmalarda faydalı *Fusarium* ve *Pseudomonas* türlerinin biyolojik mücadelede ana rol oynadıkları görülmüştür. Avrupa'daki seralarda domates, salatalık, karanfil ve bazı çeşitlerin yetiştirilmesi için topraksız tarımın uygulanması bu antagonistlerin kullanımı için uygun ortamı oluşturabilir. Chiiteaurenard'dan alınan toprak örneklerinden izole edilen ve patojenik olmayan bir *Fusarium* varyantı topraksız tarım uygulamalarında bitkiler ekilmeden önce sıvı gübre ve talk ile karıştırılıp alt tabakalara verildiğinde patojenin gelişiminde engelleme görülmüştür. Yapılan çalışmalarda domates, karanfil ve sıklamenlerde *F. oxysporum*'dan dolayı meydana gelen solgunluk ile domateslerde görülen taç ve kök çürüklüğüne karşı patojen olmayan *Pseudomonas fluorescens*'in kullanılması ile hastalık etmeninin azaldığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak *P. fluorescens* Fo47 izolatı ile birlikte *Fusarium* solgunluğuna

karşı biyolojik mücadele etkinliğinin olduğuna fakat ticari değerinin geliştirilmesi gerektiğine kanaat getirilmiştir.

Sing ve ark. (1998) tarafından, yapılan çalışmada hıyarda *F. oxysporum*'un neden olduğu Fusarium solgunluğuna karşı *Paenobacillus* sp. ve *Streptomyces* sp.'nin etkili olduğu bildirilmiştir. Bu karışımların hastalığa en iyi şekilde etki etmesi için en az kg başına 6 gr oranında verilmesi gerektiği saptanmıştır. Birkaç karışım denemesi sonucunda zeolit bazlı, kitosan ile değiştirilmiş bir formülasyonun (ZAC) patojene karşı korumada en iyi değeri verdiği saptanmıştır. Ayrıca salatalık tohumu ekilmeden 15 gün önce hastalıklı toprağa ZAC karışımı uygulandığında hastalığı engellediği görülmüştür. Fusarium'a karşı *Paenibacillus* sp. ve *Streptomyces* sp. uygulanması hidrolitik etki oluşturarak hastalığın azalmasında etkili olmakla beraber ZAC formülasyonu ile uygulandığında Fusarium solgunluğuna karşı etkinliğinin arttığı da gözlemlenmiştir.

Khan ve ark. (2005) tarafından, tahıllarda fide yanıklığı ve baş hastalığı etmenlerinden Fusarium'a karşı hastalık kontrolü amacıyla yapılan bu çalışmada, *P. fluorescens* MKB 100 ve MKB 249, *P. frederiksbergensis* 202 varyantı, *Pseudomonas* sp. MKB 158 varyantı ve kitosan, hem buğdayda koleoptil bölgesinde görülen buğday geriliğinde hem de buğday ve arpada oluşan Fusarium'un neden olduğu fide yanıklığına karşı %53 ile %91 oranında engelleme yapmıştır. Kitosan ile değiştirilmiş toprakta yetiştirilen buğday ve arpanın *F. culmorum* ile enfekte edilmiş kök tabanının dokusuna *P. fluorescens* varyantı MKB 249, *Pseudomonas* sp. varyantı MKB 158 veya bu iki bakterinin beraber filtre edilmesinden oluşan kültür verildiğinde enfeksiyondan 12 gün sonra hastalık belirtilerinde azalma görülmüştür.

Sultana ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmada sera koşullarında yetişen bamya fidelerinde; kahverengi, yeşil ve kırmızı deniz yosunlarının toprağın temizlenmesi ve kök çürüklüğüne karşı etkisi incelenmiştir. Çalışmada *Stokeyia indica*, *Padina pavonia* (kahverengi), *Soleria robusta* (kırmızı) olan deniz yosunları toprağa %1 konsantrasyonda verilmiştir. Elde edilen sonuçlarda *M. phaseolina*, *R. solani* ve *F. solani* patojenlerinin gelişme oranlarında azalma görülmüştür. Yapılan çalışmalarda %0,5 oranında *Codium iyengarii* (yeşil) *F. solani*'yi engellerken %1 oranındaki konsantrasyon ise fitotoksik etki oluşturmuştur. *F. solani*'nin mücadelesinde *S. robusta* ile *P. aeruginosa* birlikte karışım halinde kullanıldığında, bu izolatların tek başına kullanıldıklarına kıyasla daha iyi engelleme yaptığı gözlenmiştir. Bitki gelişiminde ise

S. robusta, *P. aeruginosa*'ya göre bitki boyunda ve sürgün miktarında daha fazla artış görülmüştür. Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan deniz yosunları hem tek başına hem de *P. aeruginosa* ile farklı kullanımlar sonucunda bamyada hastalık oluşturan etmenleri engellemesinden dolayı biyolojik mücadelede kullanılabilirliği değerlendirilmiştir.

Fernando ve ark. (2006), kanola bitkisinde kök çürüklüğüne neden olan *S. sclerotiorum*'a karşı PA-23 izolatı olan *Pseudomonas chlororaphis*, BS6 izolatı *Bacillus amyloliquefaciens*, DF41 izolatı olan *Pseudomonas* sp.'nin etkinliğini arazi ve sera koşullarında yapılan mikroskobik çalışmalarla tespit edilmesini amaçlamıştır. Denemelerin kurulmasından 48 saat sonra *P. chlororaphis* izolatı olan PA-23'ün *S. sclerotiorum*'un askospor çimlenmesini azaltmıştır. PA-23 numaralı *P. chlororaphis* izolatı ve BS6 numaralı *B. amyloliquefaciens* izolatı askospor gelişimini engelleyerek hastalık oluşumunu önlemiştir. Ayrıca *P. chlororaphis*'in bamya bitkisinde hastalığa karşı antagonistik etki yapan maddeler salgıladığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu faydalı bakterilerin tarla koşullarında *Sclerotinia* kök çürüklüğünün engellenmesi amacıyla kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Nourozian ve ark. (2006), buğdayda görülen *Fusarium graminearum*'un neden olduğu *Fusarium* baş yanıklığının biyolojik mücadelesinde *Bacillus subtilis*'in 53 ve 71 nolu izolatları, *Pseudomonas fluorescens*'in Biov 1 izolatı ve *Streptomyces* sp.'nin 3 izolatı *Fusarium* baş yanıklığı kontrolü için biyolojik mücadelede kullanılacak potansiyeller olarak seçilmiştir. Bakteriye antagonistlerin hastalığın misel gelişimini %37-97 oranları arasında azalttığı görülmüştür. *Streptomyces* sp. 3, buğday bitkisine verildikten 21 gün sonra *Fusarium* baş yanıklığı'nın hastalık şiddetini azalttığı tespit edilmiştir. *Streptomyces* verilen ve sadece patojen ile enfekte edilmiş kontrollerden *Streptomyces* ile muamele edilen kısımda buğday veriminin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Tariq ve ark. (2007), tarafından yapılan çalışmada Mangrov bitkisinin (*Rhizophora mucronata* Lam.) yaprak ve gövdesinin kurutulmuş tozunun üzerinde *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus* ve *Rhizobium meliloti* bakterileri çoğaltılarak maş fasulyesi ve bamya bitkilerinde kökte enfeksiyona neden olan hastalık etmenlerinin mücadelesinde kullanılmıştır. Bitkinin tüm kısımlarında bu antagonistlerin iyi bir şekilde geliştiği gözlemlenmiştir. *R. meliloti*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*' in en yüksek popülasyon oranı *R. mucronata*'nın sap bölgesinde, *B.*

cereus'un ise *R. mucronata* bitkisinin yapraklarının kurutulmuş tozunda görülmüştür. Kullanılan 4 farklı antagonist tür arasında *R. meliloti* izolatu, mangrov bitkisinde en fazla gelişen antagonist olmuştur. Fasulye ve bamya tohumları bu dört farklı antagonist ile kaplandığında fasulyenin yapraklarında daha çok *B. thuringiensis*'in etkili olduğu, *R. mucronata*'nın gövde tozundan alınan örneğin kullanıldığı fasulye tohumunda ise çimlenmenin maksimum seviyede olduğu görülmüştür. *R. mucronata*'nın gövde tozu üzerinde çoğaltılan *R. meliloti* ve *B. thuringiensis* ise bamyada sürgün uzunluğunda önemli miktarda artış yapmıştır. Bamya ve fasulye tohumlarına verilen bu biyokontrol ajanları yani *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. cereus* ve *R. meliloti*'nin çalışmada kullanılan bitkilerin büyüme değerlerini önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır. Bamyada ve fasulyede *R. solani* ile *M. phaseolina*'nın yaptığı hastalık belirtilerini *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. cereus* ve *R. meliloti*'nin *R. mucronata* bitkisinin yaprak ve gövde tozunda çoğaltıldığı preparatların kullanılması durumunda büyük oranla azalış görüldüğü saptanmıştır. Aynı zamanda bamya ve maş fasulyesinde görülen *Fusarium* sp. karşı *B. subtilis* ve *B. thuringiensis*'in hastalık etmenini önemli ölçüde azalttığı da bu çalışma sonucunda görülmüştür.

Channa ve ark. (2008), farklı bitki özütlerinin hem bitki gelişimine katkısını hem de bamyada kök çürüklüğü yapan *Macrophomina phaseolina*'nın gelişiminin engellenmesi üzerine yaptığı etkiyi incelemişlerdir. Çalışmalarda *Azedarachta indica* (Neem ağacı veya Nim), *Acacia arabica* (Acacia veya Babur) yaprak ekstraktları, *Propolis glandulosa* (Avustralya akasyası veya Devi), *Calotropis gigantea* (Dev süt otu veya Akk) ve *Soladora persica* (Diş fırçası ağacı veya Khabar) bitki özütleri fungus ile enfekte edilmiş bitkilere ıslatma yoluyla verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bitki gelişimine en çok etkisi olan özütün *A. indica* olduğu, bu özütü sırayla *C. gigantea* ve *S. persica* özütleri izlemiştir. Bitki gelişimi ve *M. phaseolina*'nın engellenmesinde en iyi etki *A. indica* özütü tarafından gösterilmiş olup, bu özütü sırayla *A. arabica*, *P. glandulosa*, *C. gigantea* ve *S. persica* özütleri izlemiştir.

Dawar ve ark. (2008), tarafından yapılan çalışmada bamya ve ayçiçeği bitkilerinde kök çürüklüğüne neden olan *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium* spp.'ye karşı *Bacillus thuringiensis*, *Rhizobium meliloti*, *Aspergillus niger* ve *Trichoderma harzianum* gibi değişik antagonistlerin biyolojik mücadelede kullanılabilirliği araştırılmıştır. Bamya ve ayçiçeğinde kullanılan tüm biyolojik mücadele ajanlarında

kontrole göre çimlenme, büyüme, sürgün uzunluğu ve ağırlığı, kök uzunluğu ve ağırlığında önemli ölçüde artış görülmüş ve *M. phaseolina*, *R. solani* ve *Fusarium* spp. gibi kök çürüklüğüne neden olan hastalık etmenlerine karşı antagonist etkide olduğu değerlendirilmiştir. Çalışmada kullanılan farklı biyokontrol ajanlar arasında kök çürüklüğünü en fazla engelleyen biyokontrol ajanı *T. harzianum* olurken, bu izolatu sırasıyla *B. thuringiensis*, *R. meliloti* ve *A. niger* izolatları izlemiştir.

Begum ve Lokesh (2010), tarafından yapılan çalışmada Arka anamika çeşidi bamya tohumlarına 30 dakika boyunca 42°C, 52°C, 62°C sıcaklıkta, 10, 20 ve 30 dakika aralıklarla UV ışık verilerek tohumda görülen bazı patojenlerin engellenme oranları tespit etmeye çalışmıştır. Bu çalışma hem sera hem de tarla koşullarında en iyi sonucu 52°C'de 30 dakikalık sıcak su ve 20 dakika UV ışığı ile muamele edilen uygulamalarda olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda bitki gelişiminde de etkili olarak yaprak, meyve, meyve uzunluğu, çevre ve biyokütle sayısında, meyve başına toplam tohum sayısı, 1000 tohum ağırlığı ve askorbik asit içeriğinde yükselme görülerek tohumun çimlenme ve canlılık oranını arttırmıştır.

Nwangburuka ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmalarda *Moringa oleifera* yaprağı ekstraktı ve sodyum hipoklorid uygulamalarının iki çeşit bamya tohumunda çimlenme, büyüme hızı ve hastalık etmenlerinin gelişimlerinin engellenmesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Tohumlardan yapılan izolasyon çalışmaları ile patojen analizi yapılmıştır. Tohumlarda en fazla tespit edilen hastalık etmenleri farklı *Fusarium* türüne ait izolatlar olurken, en düşük oranda karşılaşılan hastalık etmenlerinin ise *Penicillium* türüne ait izolatlar olarak belirlenmiştir. Tohumlardan 10 tanesine %2.5, %5, %10 oranlarında *Moringa* yaprağı özütü, %4, %5, %6 oranlarında da NaOCl solüsyonu beşer dakika süreyle verilmiştir. Bu çalışmaların sonucunda %4 ve %6 oranlarında uygulanan NaOCl'nin patojen gelişimini engellediği ortaya çıkmıştır. *Moringa* özütü uygulanan bitkilerde de patojen gelişiminde azalma görülmüştür. Yapılan bu uygulamalar patojeni engellemede başarılı olmuş ve tohumun çeşidine göre de canlılığı korunmuştur.

Afzal ve ark. (2013), sağlam olan bamya bitkilerinin kök bölgelerinden alınan örneklerden izolasyon yaptığında elde edilen sonuçlara göre endofitik bir bakteri olan *P. aeruginosa* tespit etmişlerdir. Bu bakteri *in vitro* koşullarda *M. phaseolina*, *F. solani*, *F. oxysporum* ve *R. solani*'ye karşı engelleme zonu oluşturarak enfeksiyon oranında önemli azalmalar göstermekle beraber *P. aeruginosa* ile *Trichoderma viride* birlikte

verildiği zaman hastalıklı bamya köklerinde önemli ölçüde azalma görülmüştür. Aynı zamanda bu biyolojik ajanların tek başına ya da beraber verilmesi durumunda bitki boyunda, taze sürgün ağırlığında ve kök uzunluğunda artış sağladığı tespit edilmiştir.

Hasson ve ark. (2013), Irak'ın Babil ilinde sekiz farklı alandan alınan bamya bitkisinin köklerinden izolasyon yapılarak bulunan sonuçlarda *Rhizoctonia solani*'nin varlığını tespit etmişlerdir. 40 günlük bamya bitkilerine patojen verildiğinde %30 ile 94.75 oranında hastalık şiddeti görülmüştür. Hastalıklı bamya bitkileri 52 günlükken biyolojik mücadelede kullanılan *B. subtilis* + *P. fluorescens*, *B. thuringiensis* + *P. fluorescens* ve *B. thuringiensis* + *B. subtilis* süspansiyonları ayrı ayrı verildiğinde enfeksiyon şiddetinde kontrole göre sırayla %13.10, 14.15 ve 17.42 oranlarında azalma görülmüştür. Ayrıca bu kombinasyonların sonucunda bitkide sürgün, kök, kuru ve yaş ağırlık, bitki boyu ve verim gibi ölçütlerde artış görülmüştür.

Al-Lashi (2013), bamya bitkisinde *Fusarium solani* ve *Macrophomina phaseolina*'nın yaptığı kök çürüklüğüne karşı farklı biyopestisitlerin etkilerini araştırmıştır. *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma viride* hem tek başına hem de *Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus subtilis* ile kombinasyon şeklinde bitkiye verildikten sonra etkisi gözlemlenmiştir. Gözlemler sonucunda *T. harzianum* ve *P. fluorescens* karışımı en iyi sonucu vermiştir. Bu karışım bitki gelişiminde de olumlu etki oluşturarak sürgün ve kök uzunluğu ile birlikte bitki kuru ağırlığını arttırmıştır. Ayrıca bitkide hastalık etmenlerine karşı sistemik direncin meydana geldiğini gösteren peroksidaz ve polifenol oksidaz enzimlerinde artış görülmüştür.

Rostami ve ark. (2013), hıyar rizosferinden 182 adet bakteri izole etmiş ve *in vitro* koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı biyolojik mücadelede kullanılabilirliğini araştırmıştır. Yapılan testler sonucunda *S. sclerotiorum*'a karşı *B. amyloliquefaciens* kullanıldığında hastalık etmenini %72.04 oranında azalttığı tespit edilmiştir. *S. sclerotiorum*'a karşı 7 adet izolatın uçucu bileşimleri, fungusun miselyal gelişiminin %30'dan fazlasını engelleyebildiği görülmüştür. Bakteri izolatlarının toprağa ya da tohumla verilmesi karşılaştırıldığında toprağa verilmesinin hastalığı önlemede daha etkili olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak yapılan bu çalışma ile kullanılan bakteri türlerinin *S. sclerotiorum*'a karşı antagonist etkide bulunduğundan dolayı biyolojik mücadelede kullanılabilirliğini ortaya koymuştur.

Al-Lashi ve Mahmood (2014), *Pseudomonas fluorescens* ve *Bacillus subtilis*'in *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* ve bamyada kök çürüklüğüne neden olan *Macrophomina phaseolina*'ya karşı biyoetkinliği üzerine *in vitro* ve *in vivo* koşullarında yaptıkları çalışmada; faydalı bakterilerin hastalık etmenlerinin oluşturduğu koloni çapında ve hastalık yapma yüzdelерinin azalmasında önemli etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. En yüksek etki %58.43'lük engelleme oranı ile *P. fluorescens* tarafından *M. phaseolina*'ya karşı gösterilmiştir. *F. solani* ile bulaşık toprağı ekilmiş iki bakterinin karışım halinde uygulandığı bamya tohumlarında hastalık çıkışının oldukça yüksek oranda engellendiğı bildirilmiştir. Bakteri uygulaması yapılmış tohumların hastalıklı toprağı ekilen preparatsız (kontrol uygulaması) tohuma göre bamyada sürgün ve kök gelişiminde ciddi artışlara neden olduğu görülmüştür. *P. fluorescens* ve *B. subtilis* uygulanan tohumlarda bakterilerin, kontroldeki tohumlara kıyasla peroksidaz enzim aktivitesinde önemli oranda artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Godvin-Egein ve Okereke (2016), tarafından yapılan bir diğer araştırmada *Fusarium*'a karşı kimyasal uygulamalara alternatif olarak tohum ya da toprak üzerine uygulanan *B. thuringiensis* ve avokado yaprak özütünün (toz şeklinde) etkinliği araştırılmıştır. Sağlıklı bamya bitkilerine yapay olarak hastalık etmeni bulaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre çimlenme yüzdesi en fazla hibrit tohumlarda gözlenmiş olup, bunu avokado özütü uygulanmış tohumlar izlemiştir. Hibrit tohumlara yapılan avokado veya *B. thuringiensis* uygulamalarının *Fusarium* kök çürüklüğü hastalığının çıkışını engellemede etkili olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak toprakta bulunan patojenlerin mücadelesinde *B. thuringiensis*'in ve antagonist etkiye sahip bitki özütlerinin *Fusarium*'a karşı etkili olduğu bildirilmiştir.

Okereke ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada bamyada solgunluk yapan *Fusarium*'a karşı ticari amaçla üretilen *Bacillus thuringiensis* preparatının etkinliğini belirlemiştir. Bamya ekiminden 3, 4, 5 hafta sonra *B. thuringiensis* toprağı ıslama şeklinde verilmiştir. Alınan sonuçlarda *Fusarium* sp.'nin *B. thuringiensis* verilen toprakta daha düşük seviyede yayıldığı görülmüş olup, bakteri preparatının uygulandığı bitkilerin gelişiminde herhangi bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir. *B. thuringiensis*'in üç farklı dozda uygulama yapılması kontrole göre hem yaprakta hem de bitkinin genelinde solgunluk belirtisinin çıkışını azalttığı görülmüştür. En iyi etkinlik 10000 gr saksı toprağına 0.5 ve 1.0 gr bakteri preparatının verildiğı uygulamalarda gözlenmiştir.

B. thuringiensis'in bitki büyümesinde pek fazla etkisi olmasa bile *Fusarium*'a karşı biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Tozlu ve ark. (2016), kırmızı lahanada sorun *Sclerotinia* hastalığı ile mücadelede yararlı bakteri olarak *B. subtilis*'in bazı varyantları, *Bacillus megaterium*, *Bacillus pumilis* izolatlarını kullanmışlardır. Söz konusu bakterilerin hemen hepsi az ya da çok etki göstermekle beraber en yüksek engelleme oranı *B. subtilis* varyantlarında görülmüştür. Özellikle *B. megaterium*'un inokule edildiği kırmızı lahana yapraklarında bazı engelleyici enzimlerin hastalık etmeninin tek başına uygulandığı (kontrol) bitkilere kıyasla fazla olduğu, bu nedenle hastalık etmenini engellediği bildirilmiştir.

Rama ve Naik (2017), sera koşulları altında bamyada *Fusarium solani*'ye karşı antagonist (*Trichoderma viride*, *Pseudomonas fluorescens*) ve PGPR izolatların (*Bacillus megaterium*, *Azotobacter chroococcum*) hastalık etmeninin biyolojik mücadelesi ve bitki gelişimi üzerine olan etkinliklerini araştırmışlardır. Bitkiye, *T. viride* + *P. fluorescens* + *B. megaterium* beraber uygulandığında kontroldeki bitkilere kıyasla daha iyi gelişme görüldüğü, verimde ve bitki boyunda daha çok artışın meydana geldiği gözlenmiştir. Sadece *T. viride* ve *P. fluorescens* uygulamasında bamyanın meyve çapında artış görülmüştür. *P. fluorescens* ile *A. chroococcum*, *Fusarium*'a karşı etkili olurken diğer kombinasyonlara göre meyve çapında küçülme gözlenmiştir. Üçlü kombinasyon şeklinde verilen bitkilerde bitki başına dal sayısında artış gözlenmiştir.

Sun ve ark. (2017), kolza tohumunda hastalık önlenmesini teşvik eden ve bitki gelişimini arttıran bakterilerin *in vitro* koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı biyokontrol etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında 19 bakteri izolatı elde etmişlerdir. Elde edilen 19 bakteri izolatından 13 tanesinin topraktaki fosforu çözebildiği, 10 izolatın IAA üretimini teşvik ettirdiği ve 14 izolatın azot aktivitesi gösterdiğini belirlemişlerdir. *Bacillus subtilis* izolatlarından iki tanesi *S. sclerotiorum*'un misel gelişiminin %80.51 engelleme oranı ile baskılamıştır. İki izolatın karışımı bitki boyunu, taze sürgün ağırlığını ve kök tazeliğini büyük ölçüde arttırmıştır. Sonuç olarak yorumlandığı zaman kolza tohumunda *B. subtilis*'in biyolojik mücadelede kullanılabilişliği ve bitki gelişiminde teşvik edici yararlı bakteriler olduğu saptanmıştır.

Abduhu ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada tohumların Sodyum Hipoklorit (NaOCl) ve sıcak su ile temasının tohum kaynaklı hastalık etmenlerine karşı etkisini araştırmışlardır. Tohumlar %0.1, %0.5 ve %1'lik NaOCl solüsyonlarında 3 ve 5'er

dakika, sıcak suda ise 48°C, 50°C ve 52°C’de 10, 12, 15 dakikalık periyotlar halinde bekletilmiştir. Yapılan uygulamalar ile *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum dematium* ve *Chaetomium* spp.’nin tohumlarda hastalık oluşumunda önemli azalışlar görülmüştür. NaOCl’nin üç farklı uygulamasında da tohum kaynaklı hastalık etmenlerinin yayılması azalarak tohumun çimlenmesinde olumlu etkiler oluşturmuştur. Bu uygulamaların içinde en etkili olanı 5 dakika süre ve en yüksek konsantrasyon olan %1.0’lık oran olmuştur. Sıcak su ile yapılan uygulamada ise 48°C, 50°C ve 52°C’de 10-15 dakika sıcak su uygulaması etkili olmakla beraber 52°C’de ve 12-15 dakikalık sürede tohum kaynaklı enfeksiyon daha etkili olmuş fakat bu sıcaklık uygulamalarında ise tohumlarda çimlenme olumsuz etkilenmiştir. Kontrole göre en fazla çimlenme oranı veren sıcak su uygulaması ise 48°C’de 12 dakikalık uygulamadır. Sonuç olarak bu çalışmada en etkili yöntemler sıcak suda 48°C’de 12 dakika veya 5 dakika süreyle %1 NaOCl uygulaması olmuştur. Yapılan sıcak su ve NaOCl uygulamaları ile tohum kaynaklı hastalık etmenlerinin en aza indirgenebilir ve tohum çimlenmesi hızlandırılabilir.

Ashraf ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışmanın amacı bamyada görülen *Fusarium oxysporum*’un mücadelesinde kullanılan biyolojik kontrol ajanlarının (BCA) antagonistik etkinliğinin belirlenmesi ve bitki gelişimindeki etkisinin tespit edilmesi olmuştur. Fidler önce *Fusarium* etmeni ile enfekte edilmiş ve daha sonra BCA’lardan *Bacillus*’un üç farklı izoaltı (*Bacillus* spp., *Bacillus* spp. Bl, Trihar -6) üç farklı konsantrasyon ile (0.5, 1.0, 1.5 OD yoğunluğunda) hazırlanıp fidelere verilmiştir. Çalışma sonucunda 1.0 od dozunda Tri-har 6 izolatının topraktaki *Fusarium* hastalığını engellemede ve hastalık şiddetini azaltmada önemli etkisinin bulunduğu görülmüştür. Ayrıca *Bacillus* spp.’nin bitki gelişimine de önemli etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Yapılan saksı denemelerinde BCA’ların patojeni kontrol altına alması gelecekte kimyasal mücadeleye alternatif bir yöntem olabileceğinin göstergesi olmuştur.

Grace ve ark. (2019) tarafından, Hindistan’da tohum bilimi ve teknolojisinde yapılan çalışmada biyolojik mücadele ajanlarının bamya bitkisinin gelişimine etkisinin araştırılmıştır. Hem *in vitro* hem de *in vivo* şartlarda 25°C’de deneme kurulmuş ve en ideal sonuçlar *Bacillus*-218, *Pseudomoas* FP37 ve S90 izolatlarında görülmüştür. Bu bakteriler hem tek hem de farklı kombinasyonlar halinde 12 gr/kg şeklinde uygulanmıştır. Çalışma sonucunda *Bacillus*-218, *Pseudomoas* FP37 ve S90 izolatları

verilen bitkilerde kontrole göre tohumun çimlenme yüzdesi ve hızını, kök, sürgün ve fide uzunluğunu, yaş ve kuru ağırlığını arttırdığı görülmüştür.

Rai ve ark. (2019), Hindistan'ın Batı Bengal bölgesinde 2011 ve 2012 yılları arasında *Trichoderma viride* ve *Pseudomonas fluorescens* izolatlarının tohumlara kaplama (biyo-priming) yöntemi ile bitki gelişimindeki rollerini Lalu, Arka Anamika, Ramya, Satsira, Lady Luck, Debpusa Jhar, Japani Jhar ve Barsha Laxmi gibi bamya çeşitleri üzerinde araştırmışlardır. Her iki yıl için de meyve veriminin en fazla olduğu bamya çeşidi Lalu olmuştur. *P. fluorescens* ve *T. viride* ile biyo-priming işlemine tabi tutulmuş olan tohumlarda ilk yılda artış %4.33 ile %20.08 oranında ikinci yılda ise %3.68 ile %19.60 oranında artış kaydedilmiştir. Biyo-priming işlemi tohumun toprak ve tohum kaynaklı patojenlere karşı tohumun faydalı organizmalarla kontak kurmasını ifade eden ekolojik bir yöntem olarak tanımlanabilir. Bu çalışma sonucunda ekimden önce tohumların *T. viride* ve *P. fluorescens* ile biyo-priming işlemi yapılmasının verimi arttırıcı bir yöntem olduğu saptanmıştır.

Sultana ve ark. (2019), kök çürüklüğü, solgunluk ve yaprak lekesine karşı çevreye zarar vermeyen yöntemler üzerinde çalışmak için arazi denemesi yapmışlardır. Toprağa 1 kg/10 m² lik neem yaprağı kompostu, 2 ton/ha hardal yağı küspesi ve 2 ton/da neem yağı küspesi verildiği zaman kontrole göre *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani*'nin neden olduğu kök çürüklüğü ve solgunlukta ciddi ölçüde azalma görülmüştür. Alınan verilerde yapılan uygulama kök çürüklüğü ve solgunluk etmenlerinin %90-100 oranında azaldığı ve bamya veriminde kayda değer artış olduğu gözlenmiştir.

Báez-Vallejo ve ark. (2020), orman bitkilerinde görülen *Fusarium solani* ve *Fusarium kuroshium*'a karşı antifungal etki gösteren biyolojik mücadele ajanlarını tespit etmek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Lauraceae familyasından seçilen 3 türün rizosfer ve filosferinden izole edilen 195 bakteri türünden 32 izolat belirlenmiştir. Teşhisi yapılan bakteri izolatlarından çoğunun *F. solani*'ye karşı etkili olan *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Actinobacteria* cinslerine ait olduğu anlaşılmıştır. *Aiouea efusa*'nın rizosferinden elde edilen *Bacillus* sp. izolatu olan CCeRi1-002, *F. solani*'nin misel gelişimini azaltarak %62.5'lik oranda engelleme sağlamıştır. *Pseudomonas* sp. varyantının uçucu bileşeninde *F. solani*'nin gelişimini engelleyen maddeler tespit edilmiştir. *Bacillus* sp.'nin hem CCeRi1-002 varyantının ve hem de ham özütlerinin *F. kuroshiuma*'ya karşı engelleme yaptığı bu çalışmada tespit edilmiştir.

Bindu (2020), biyo-priming yöntemi ile 2017-18 yıllarında bamyada tohumun çimlenmesi, büyümesi, verimi ve hastalık yaygınlığında kullanılan biyolojik mücadele ajanlarının etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Biyo-priming tohumu korumak amacıyla tohumun toprak ve tohum kaynaklı patojenlere karşı faydalı organizmalarla kontak kurmasını ifade eden ekolojik bir yöntem olarak tanımlanabilir. Ayrıca bu yöntem tohumun çevre koşullarından etkilenmesini en aza indirgeyerek tohumların homojen ve hızlı gelişip fidelerin güçlü olmasını sağlar. Bamya tohumlarına ekim öncesi biyo-priming yöntemi ile 8 gr/l oranında *Pseudomonas* sp. izolatının verilmesi sonucunda tohumların çimlenme yüzdesinde, bitki boyunda, bitki başına boğum sayısında, bitki başına düşen dal sayısında, bitkide oluşan meyve sayısında, meyve boyunda, çapında ve ağırlığında artış görülmüş olup hastalık ve zararlı oranında ise azalış görülmüştür. Denemede kullanılan farklı bamya türleri arasında Arka Anamika çeşidinde en iyi sonuç alınmıştır. En düşük değerler ise kontrol olarak bırakılan biyo-priming yöntemi ile *Pseudomonas* verilmeyen tohumlarda görülmüştür. Sonuç olarak ekim öncesi tohumlara biyo-priming yöntemi ile *Pseudomonas* sp. verildiği zaman hem hastalık yayılımında azalış hem de bitki gelişimine olumlu etki oluşturmuş olup yapılan uygulama kimyasal mücadeleye alternatif bir yöntem olarak da değerlendirilebilir.

Madhi ve ark. (2020), bamyada kök çürüklüğüne neden olan funguslara karşı *Pseudomonas fluorescens*' in biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılma durumunu araştırmışlardır. Tohumlardan yapılan analizlerin sonucunda patojen sıklığı en fazla olan hastalık etmeni *Rhizoctonia solani* olup *Fusarium solani* ile *Macrophomina phaseolina* etmenleri şeklinde sıralanmıştır. Sonuç olarak *P. fluorescens*' in tohumda çimlenme yüzdesini arttırarak hastalık belirtilerini azalttığı gözlemlenmiştir. Bitki kök yüzeyinde doğrudan verilen *P. fluorescens*'in hastalık etmenine karşı rekabetçi ve antagonistik etki oluşturarak patojene karşı parazitik ilişki kurup engelleme yaptığı anlaşılmıştır. Ayrıca *P. fluorescens*'in kökte bulunması bitkide sistemik direnci uyatarak patojen gelişimini engelleyecek antibiyotikler üretmesini ve bitki gelişimini hızlandırarak bitkinin dirençli olması için bitki gelişim düzenleyicilerinin üretilmesini teşvik etmiştir. Aynı zamanda *P. fluorescens*'in hidrojen siyanür (HCN) ve siderofor gibi bazı kimyasalları üreterek de hastalık etmenine karşı antifungal etkide bulunduğu da tespit edilmiştir.

Urooj ve ark. (2020), bamyanın kök bölgesinde enfeksiyona neden olan *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* ve *Macrophomina phaseolina*'ya karşı endofit olan *Penicillium* sp. ve *Pseudomonas monteilii* su ile seyreltilmiş şekilde saksı ve arazi koşullarında kök hastalıklarına karşı direnç oranı ve meyvede yaptığı etkiyi incelemişlerdir. Deneme sonucunda kontrol bitkisine göre değerlendirme yapıldığında kökte hastalık oranını azaltmayı sağlayan antioksidan, direnç seviyesi, polifenol ve salisilik asit seviyesinde artışa sebep olarak kök hastalıklarının oranını önemli ölçüde azaltmıştır. Sonuç olarak *Penicillium* sp. ve *P. monteilii* bamyanın kök bölgesinde polifenol ve antioksidan salınımını sağlayarak savunma bölgeleri oluşturmuş ve hastalık etmeninin gelişimini engellemiştir.

Yang ve ark. (2020) tarafından, kolza tohumu üzerinde yapılan çalışmada tohum üzerinde etkili olan *S. sclerotiorum*' a karşı farklı topraklarda *B. megaterium*' un etkinliğini incelemişlerdir. *B. megaterium* izolatu verilen alanlarda sadece fungusit verilen alanlara göre hastalıkta önemli ölçüde azalmalar görülmüştür.

Hossain ve ark. (2021), yaptıkları çalışmada bamyada görülen yaprak lekesi, gövde kanseri ve meyve yanıklığına neden olan fungusların teşhisini amaçlamışlardır. Yapılan morfolojik, patojenisite ve moleküler tanılama çalışmaları sonucunda elde edilen izolatlar *Fusarium oxysporum*, *Curvularia lunata*, *Fusarium chlamydosporum* ve *Choanephora cucurbitarum* ile sırasıyla %98, 100, 97, 100 oranında benzerlik göstermiştir.

Poonguzhali ve ark. (2021), biyosüpfaktan üretim maliyetini en aza indirgeyerek kimyasal süpfaktanlara göre hem daha ucuz hem de çevreci bir yaklaşımın oluşturmak amacıyla *Pseudomonas aeruginosa* ile *in vitro* çalışmalar yapmışlardır. Bamya bitkisinde hastalık yapan *Fusarium solgunluğunu* kontrol etmek için *Pseudomonas aeruginosa* ile maliyeti düşük olan pirinç ortamı Response yüzey metodolojisi yöntemi kullanılarak biyosüpfaktan oluşturmak istenmiştir. Yapılan biyosüpfaktan saksı denemelerinde hem toprak ıslatma yöntemi ile hem de yapraklara sprey şeklinde verildikten sonra *in vitro* ortamda etkinliği saptanmıştır. Çalışmada biyosüpfaktan üretiminde kullanılan pirinç suyu ile *P. aeruginosa* kullanılarak *Fusarium solgunluğunu* engellemiş ve biyosüpfaktan üretimini de tespit ederek biyokontrol ajanı olarak kullanılabileceği kanıtlanmıştır.

Soylu ve ark. (2023), Hatay ilinde yaygın bamya yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda yaprak kökenli hastalık etmenlerinin yaygınlığı ve tespiti konusunda yapmış oldukları srvey alışamalarında, külleme hastalığı ve etmeni *Podosphaera xanthii*'nin %85-90 yaygınlık oranında bulunduğunu, hastalığın bamya bitkilerinde sorun olduğunu Türkiye'de ilk kez yapmış oldukları çalışma ile bildirmişlerdir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Fungal ve Bakteriyel İzolatlar

Çalışmanın ana materyalini Hatay ilinin farklı ilçelerinde bamya yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplanan hastalıklı bamya bitkileri, bu bitkilerden izole edilerek tanımlaması yapılan fungal *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Rhizoctonia solani* hastalık etmenleri ve sağlıklı bitki dokularından izole edilen aday endofit ve epifit bakteri izolatları oluşturmuştur. Hastalıklı bitkilerin toplandığı alanlardan alınan sağlıklı bitkiler farklı PDA besi ortamlarında, izole edilen bakteriler ise Tryptic Soybean Agar (TSA) besi ortamında +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri

Bu çalışmada antagonist bakteriler ve bu bakterilerin etki mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla kullanılan besi yerleri hem hazırlandığı aşamada hem de denemelerde kullanılmadan önce 121°C sıcaklıkta 15 dakika süreyle otoklavda bekletilmiştir. Patates Dekstroza Agar (PDA), Tryptic Soybean Agar (TSA) ve Nutrient Agar (NA) gibi besi ortamları (Merck, Darmstadt, Germany) bamya bitkilerinden izole edilen fungal hastalık etmenleri ile yararlı bakteri izolatlarının teşhisinde aynı zamanda etki mekanizmalarının belirlenmesi amacıyla laboratuvar koşullarında kullanılmıştır. Kullanılan bu besi ortamları haricinde gerek bitkilerde gelişimi arttıran kimyasalların tespit edilmesinde gerekse antagonist bakteri izolatlarının etki mekanizmalarının belirlenmesinde kullanılan diğer besi ortamları ve içerikleri Ek-1’de verilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Fungal Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Tanılanması

Hatay ilinde 2021 yılında Antakya, Kumlu, Kırıkhan, Reyhanlı, Erzin ve Dört Yol ilçelerinde bamya yetiştirilen alanlarda yapılan sörveyler sonucunda hastalık belirtisi gösteren bitkiler toplanarak izole edilmiş ve izolasyon sonucu fungal patojenler *Macrophomina phaseolina* (GAB-Mp12), *Fusarium oxysporum* (GAB-Fox7), *Sclerotinia sclerotiorum* (GAB-Ss23) ve *Rhizoctonia solani* (GAB-Rs5) bu çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2). Bu ilçelerde yapılan sörvey çalışmalarında kuruma ve solma gibi hastalık belirtisi gösterdiği belirlenen bamya bitkileri alandan sökülerek patojenlerin teşhisi ve izolasyonu için izolasyon yapıncaya kadar + 4 °C’de korunmuştur.

Sörveyler sonucu toplanan hastalıklı bitki kısımlarında mevcut olan patojenlerin izolasyonu için ilk olarak bitki parçaları çeşme suyunun altında yıkanmıştır. Daha sonra hastalıktan dolayı hem nekroz olan hem de sağlam olan kısımlardan steril edilmiş bistüri yardımı ile 3-5 mm’lik parçalar kesilmiştir. Yüzey dezenfeksiyonu için %2’lik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisi içerisinde 2 dakika süreyle bekletilmiştir. Yüzey dezenfeksiyonundan sonra bitki kısımları, steril edilmiş saf suda 2 kere çalkalanıp durularak steril olan kurutma kağıtlarının üzerine kuruması için bırakılmıştır. Farklı bamya bitkilerinden alınan bitki parçaları, Patates Dekstroz Agar (PDA) besi ortamı içeren petrilere fungusların gelişmesi amacıyla bırakılmıştır. İzolasyonu yapılan petriler 24°C sıcaklıkta 7 gün süre ile inkübe edilerek gelişen funguslar tekrar PDA ortamına aktararak saflaştırılıp gruplandırılmak suretiyle saflaştırılan patojenler bamya bitkisinin toprak altı aksamına inoküle edilmiştir. Yapılan inokulasyon sonucunda bitkiler sökülerek ksilem ve floem dokusunda renk değişimi, nekroz, kök ve kök boğazında incelme gibi değişimler incelenerek hastalığın varlığı tespit edilmiştir.

Ayrıca bakteriyel bulaşmanın önlenmesi amacıyla fungal besi ortamlarına 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat eklenerek izolasyonu yapılan hastalık etmenleri tür teşhisi tamamlanana kadar +4°C sıcaklıkta muhafazası sağlanmıştır.

PDA besi ortamlarında gelişen fungal kolonilerin morfolojik açıdan teşhisleri büyüme, sporulasyon ve mikrosklerot oluşumu incelenerek yapılmıştır. Toprak kökenli hastalık etmenlerinden *R. solani*’nin morfolojik tanısı Van der Plaats-Niterink (1981),

S. sclerotiorum'un tanısı Mordue ve Holliday (1976), *Fusarium* spp.'nin tanıları (Booth (1971), Nelson ve ark. (1983), Burgess ve ark. (1994); *Aspergillus* spp.,'nin tanıları Raper ve Fennel (1977), Samson ve Pitt (1990) ve McClenny, (2005); *Alternaria* spp., ve *Penicillium* spp. tanıları ise Andersen ve Thrane (1996), Barnet ve Hunter (1998) ve Troncoso-Rojas ve Tiznado-Hernández (2014) tarafından bildirilen kriterlere göre yapılmıştır. Teşhisleri yapılan bütün izolatların etkinliğini kaybetmemesi ve moleküler olarak analizinin yapılması için kuru filtre kâğıdında geliştirilerek zarf içerisinde -20°C'de korunması yapılmıştır.



Şekil 3.1. Hatay ili genelinde yetişen bamya bitkilerinin gövde (A), kök (B), tohum (C) ve meyve (D-E) üzerinde hastalık etmenleri ve izolasyon sonucu gelişen fungal kültürler (F).



Şekil 3.2. Hatay ili genelinde yetişen bamya bitkilerinin gövde, kök, tohum ve meyve üzerinde hastalık etmenleri ve izolasyon sonucu gelişen fungal kültürler.

3.2.2. Sağlıklı Bamya ve Yakın Akraba Bitkilerinden Epifit ve Endofit Bakterilerin İzolasyonu ve Tanılanması

Hastalıklı bamya bitkilerinin tarlalarda yer alan sağlıklı bamya bitkilerinin yanısıra pamuk, ebe gümeci, pıtrak gibi yakın akraba bitkilerinin 2021 Eylül, Ekim, Kasım aylarında yapılan sürveyler sonucunda toplanan kök, gövde ve meyvelerinden elde edilen antagonist/PGPR karakterli epifitik ve endofitik bakteriler bu çalışmada kullanılmıştır (Şekil 3.3). Tarlalardan yapılan sürvey sonucu temin edilen örnekler laboratuvara getirilip aşağıdaki sıralama izlenerek epifitik ve endofitik bakterilerin izolasyonu yapılmıştır (Aktan, 2018).



Şekil 3.3. Sağlıklı bamya bitkileri ile pamuk ve pıtrak gibi yakın akraba bitkilerin gövde, kök, meyve ve çiçek gibi organlarından epifit ve endofit bakterilerin izolasyon işlemi.

3.2.2.1. Aday Epifit ve Endofit Bakterilerin İzolasyonu

Çalışma için kullanılacak aday endofit bakterilerin izolasyonu için arazilerden toplanan bitkilere farklı kodlar verildikten sonra laboratuvara getirilip ilk olarak çeşme suyunda arındırılmıştır. Daha sonra 3 dakika boyunca %70'lik etil alkolde, 2 dakika boyunca %2'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda ve tekrar %70'lik etil alkolde bekleme işlemi yapıldıktan sonra 5 kere saf su ile temizlenerek yüzey sterilizasyonu işlemi tamamlanmıştır.

Yukarıda yapılan yüzey sterilizasyon işlemi sonrasında bitki kısımlarından alınan parçalar steril 0,05 mM $MgCl_2$ çözeltisinde steril edilmiş havan ile ezildikten sonra 5 dakika boyunca bu süspansiyon içerisinde bekletilmiş ve oluşan süspansiyon farklı oranlarda sulandırılarak (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6}) bagetle KB ve NA içeren petri kaplarına yayılmıştır. Epifit bakterilerin izolasyonunda kuru topraktan alınan bitki

kökleri 1-2 cm boyutunda kesilerek farklı şekillerde kodlandıktan sonra herhangi bir sterilizasyon işlemi yapılmadan direk steril edilmiş 0.05 mM MgCl₂ tampon çözeltisinin içine eklenerek 30 dakika boyunca 200 rpm' lik orbital çalkalayıcı içerisinde çalkalanması için bekletilmiştir. Endofit bakterilerin izolasyonunda olduğu gibi bu süspansiyonlar da değişik oranlarda seyreltildikten sonra (10², 10³, 10⁴, 10⁵ ve 10⁶) baget yardımıyla içeriği KB ve NA olan besi yerlerine yayılmıştır.

Yukarıda yapılan işlemlerin sonunda petri kapları 26°C sıcaklıkta 2 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Bitki örneğini/bölgeyi temsil edecek sayıda farklı seçici ve genel besi yerlerinde morfolojik olarak birbirinden farklı şekillerde gelişen bakteri kolonileri daha sonra teşhis ve çalışmalarda kullanılması için uygun besi yerleri üzerinde saflaştırma işlemleri yapılmıştır.

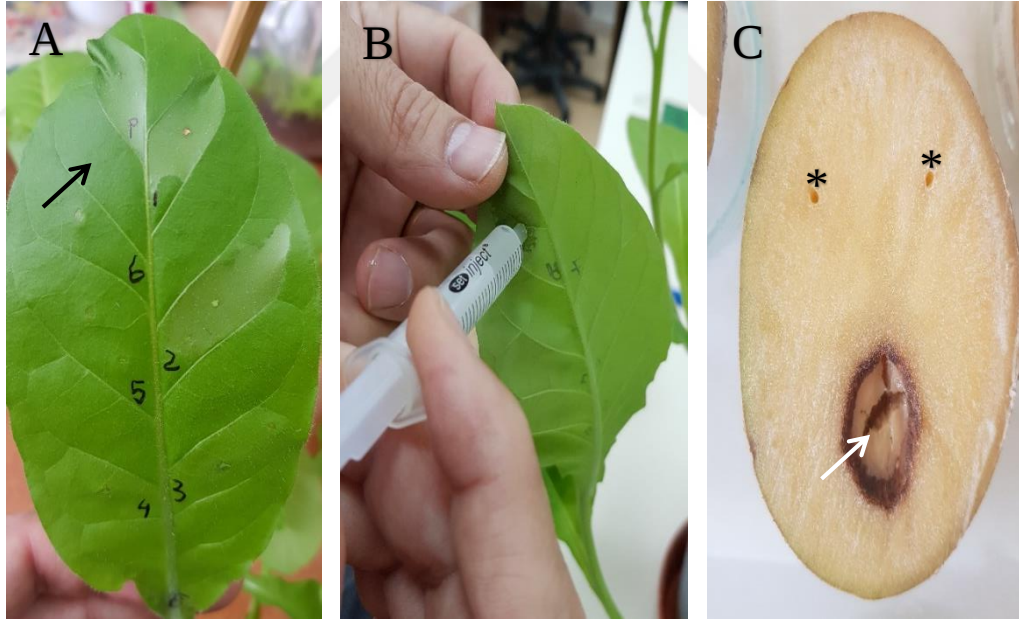
Genel olarak yapılan çalışmalarda kullanılmak üzere gelişimi ideal olan besi ortamı içeren petri kaplarında ya da süreyi kısaltmak amacıyla eğik agarda +4°C de ya da cryo eppendorf tüplerinin içinde bulunan %40 oranında steril gliserol çözeltisinde -80°C'de muhafazası yapılmıştır.

3.2.2.2. Aday Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Seçimi

Sağlıklı bamya ve yakın akraba konukçu bitki örneklerini temsil edecek şekilde seçilen endofit ve epifit bakteri izolatları çalışmalarda kullanılmadan önce bitki patojeni olup olmadığının belirlenmesi amacıyla tütün bitkisinde aşırı duyarlılık (HR) testi yapılmıştır (Şekil 3.4). TSA besi ortamında gelişen 2 günlük saf bakteri izolatları ile beraber Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyon Merkezinden temin edilen bitki patojeni bakteri (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Pph12 izolatı) süspansiyonları 10⁸ hücre/ml yoğunluğunda steril 0.05 mM MgCl₂ tampon çözeltisi içerisinde hazırlandıktan sonra steril bir enjektör vasıtasıyla 2 aylık genç tütün (*Nicotiana tobaccum*) yaprağının alt yüzeyinden damar aralarına enjekte edilmiştir. Aday bakteri izolatları ile inokule edilen tütün bitkileri 25°C'de inkübasyona bırakıldıktan 24-48 saat sonra inokulasyon noktalarında oluşan nekroz görüntüsü pozitif olarak kabul edilmiş olup, söz konusu bakterilerin çalışmalardan elemesi yapılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987). Tütünde HR testinde herhangi bir nekrotik çöküntü şeklinde belirti oluşturmeyen aday

bakteri izolatları patates dilimlerinin üzerinde yumuşak çürüklük testine tabi tutulmuştur.

Yumuşak çürüklük testinde kullanılan patatesler önce yüzey dezenfeksiyonu için %3'lük NaOCl' de 1 dakika boyunca bekletilmiştir. Yüzey sterilizasyonu yapılan patateslerin önce kabukları soyularak steril edilmiş bistüri ile 1 cm eninde dilimlenmiştir. Kesilen patates dilimleri, içinde steril saf su ile ıslatılmış nemli filtre kâğıdı olan saklama kaplarına yerleştirilen steril petri kaplarının üzerine konulmuştur. Patates dilimlerinin üzerine kürdan ile alınan HR negatif bakteri izolatları inokule edilmiştir. Yapay olarak bulaştırılan patates dilimlerinin olduğu saklama kapları 26 °C'de 2 günlük süre ile inkübasyona bırakılarak ilerleyen zamanlarda inokule edilen bölgede oluşan yumuşak çürüklük alanının varlığı açısından değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Kontrol izolatu olarak Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyon Merkezi'nden temin edilen *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* hastalık etmeni kullanılmıştır.



Şekil 3.4. (A-B) Tütün yaprağında bakteri izolatları ile yapılan aşırı duyarlılık (HR) testi. Sadece bitki patojeni izolatlar tütün yaprağında HR reaksiyonuna (ok) neden olmuştur. (C) Patates dilimleri üzerinde yapılan çürüklük testi sonucunda patojen bakteri izolatu (ok) yumuşak çürüklük yapmış olup (*) inokulasyonu yapılan diğer izolatlar herhangi bir belirtiye neden olmamıştır.

3.2.2.3. Aday Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Tanılanması

Yapılan her iki testte de pozitif sonuç alınamayan izolatların tür teşhislerinin belirlenmesi amacıyla MALDI-TOF cihazı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) geliştirilen teknik kullanılmıştır (Pavlovic ve ark., 2012). Geride kalan bakteri izolatları TSA (Tryptic Soy Agar) besi ortamı üzerinde 24-36 saatte gelişmiş olan saf kültürden alınan bakteriler kürdan yardımıyla bir miktar alınarak, içinde 300 µl steril su bulunan eppendorf tüplerine eklenmiş ve vortex cihazında iyice karıştırılarak bakteri süspansiyonunun elde edilmesi sağlanmıştır. Eppendorf tüplerinin içine 900 µl saf ethanol (Merck, Darmstadt, Germany) konulduktan sonra oluşan karışımın santrifüj edilmesi için 13.000 rpm'de 2 dakika süre ile bekletilmiştir. Santrifüj edilen süspansiyonun süpernatant denilen üst tabakasındaki ethanol döküldükten sonra dipte kalan bakteri kısmının bir süre kuruması için bekletilmiştir (ortalama 5 dak.). Kuruduktan sonra tüplerin içine vortekslenmesi için %70 oranında 30 µl formik asit eklenerek (Merck, Darmstadt, Germany) tekrar 13.000 rpm 'de 1 dakika boyunca bekletilmiştir. Vorteksleme işlemi yapılan tüplere tam anlamıyla çözünmeyi sağlaması için 30 µl acetonitril eklenerek tekrar 13.000 rpm' de 1 dakika boyunca vortekslenmiştir. Son aşama olarak cihazın örnek plakasındaki (target) noktalara süspansiyonun üst kısmında kalan süpernatanttan 1µl alınarak bu noktalara iki tekrarlı olacak şekilde eklenip normal koşullarda kuruması için beklenmiştir (ortalama 3-5 dak.). Kuruduktan sonra her bir nokta için iki tekerrürlü olacak şekilde 1 µl HCCA Matrix (α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) solüsyonu eklenip tekrar kurumaya bırakılmıştır. Örnekler kuruduktan sonra matrix solüsyonu olarak 0.025% (v/v) trifluoroacetic acid ve 50% acetonitrile (v/v) içerisinde çözünmüş doymuş α -cyano-4-hydroxycinnamic acid (Bruker Daltonics) kullanılmıştır. Yapılan aşamalardan sonra örnekler MALDI-TOF MS (Microflex LT; Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) cihazına Flex Control Software (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) yazılımı ile yüklenip teşhis için BIOTYPER™ 1.1 software (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) kullanılmıştır.

MALDI-TOF cihazı tarafından teşhis edilen bakteri izolatlarının teşhis sonuçları firma tarafından tavsiye edilen değerlere göre; skor değeri **2.30-3.0** aralığında çıkan bakteri izolatının **tür düzeyinde oldukça güvenilir olduğu, 2.00-2.299** aralığındaki

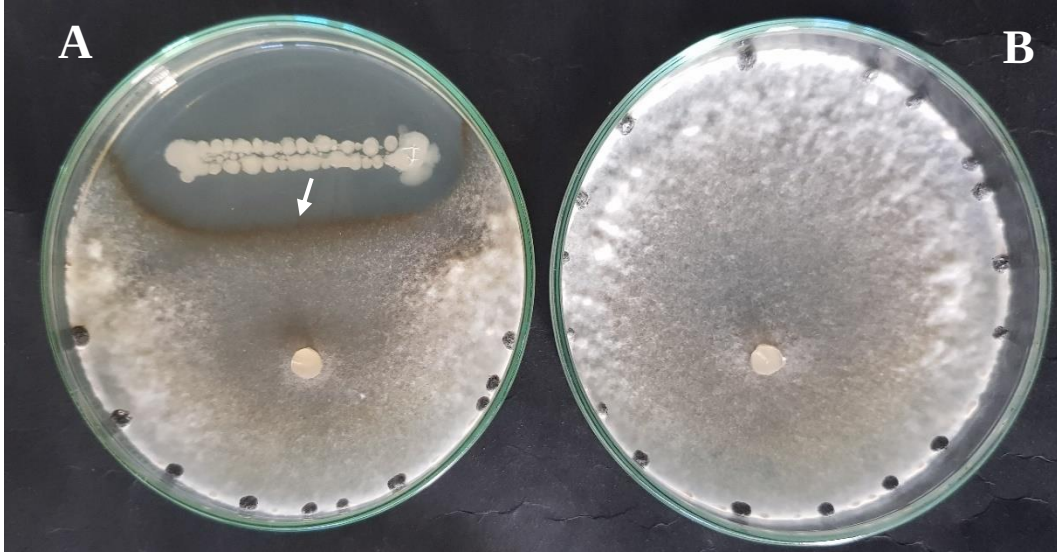
sonucun **cins düzeyinde güvenilir, tür düzeyinde yüksek derecede güvenilir olduğu, 1.70-1.999** aralığında sonucun **cins düzeyinde güvenilir, tür olarak muhtemel düzeyde olduğu, 1.7** değerinden aşağı olan sonuçların ise **güvensiz tanı** olduğu belirtilmiştir.

3.2.3.Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Fungal Hastalık Etmenlerinin Misel Gelişimini *in vitro* Koşullarda Engellenme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Yapılan testler sonucu seçilen bakterilerin fungal hastalık etmenlerin misel gelişimini durdurma (antagonistik) potansiyelleri 1:1 oranında karıştırılmış PDA+TSA besi yeri içeren 90 mm çapındaki petri kaplarında ikili kültür testi ile belirlenmiştir (Landa ve ark., 1997). Tütün HR ve patates yumuşak çürüklük testlerinde sonuç alınamayan fakat MALDI-TOF testinde teşhis edilen bakteri izolatları, petrinin üst noktasının 2 cm ilerisine çizgi ekim yöntemi ile çizilerek 25°C sıcaklıkta 48 saat süreyle inkübe edilmiştir (Şekil 3.5). 48 saat sonra çizilen bakterilerin olduğu petrilerin 4 cm ilerisine 5 günlük funguslardan 6 mm çapında diskler çıkarılarak petrilere yerleştirilmiştir. Kontrol için belirlenen petrilere bakteri çizimi yapılmamış olup sadece fungus diskler yerleştirilmiştir. Daha sonra bu petriler 25°C’de inkübatörde bekletilmiştir. Engelleme oranları kontrol petrilerinde fungal hastalık etmeninin petriyi tümüyle kaplaması ile (fungal hastalık etmeninin gelişim hızına göre inokulasyon yapıldıktan 4-7 gün sonra), daha önce çizilen bakterilerin bulunduğu petri kaplarında fungal etmenin bakterinin olduğu alana doğru miselyal büyümesinin (MGu) ölçümü yapılarak sadece fungal hastalık etmeninin olduğu kontrol petrilerindeki miselyal (MGk) büyümesine göre yüzde olarak hesaplanmıştır (Ahmed ve ark., 1999).

$$\%Engelleme = \left(\frac{MGk - MGu}{MGk} \right) * 100 \quad (3.1)$$

Ölçümler bütün bakteri-fungus denemeleri için 3 ayrı petri kabında ve 2 farklı zaman dilimi olacak şekilde tekerrür edilmiştir.



Şekil 3.5. (A) *In vitro*'da ikili kültür testi ile antagonist etki yapan endofit ya da epifit bakteri izolatının fungal hastalık etmenini engellemesi (ok). (B) Kontrol amacıyla petriye konulan hastalık etmeninin normal koşullarda gelişimi.

3.2.4. Bakteri İzolatlarının Hastalık Etmenlerinin Engellenmesinde Rol Oynayan Biyokontrol Mekanizmalarının Belirlenmesi

3.2.4.1. Bakteri İzolatlarının Proteaz Enzimi Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Epifit ve endofit bakterilerin proteaz enzimi üretiminin belirlenmesi amacıyla, içeriğinde %2 yağı alınmış süt tozu (Skimmed Milk Powder, Merck, Darmstadt, Germany) bulunan LB (SMLBA) besi ortamının olduğu petri kapları kullanılmıştır (Perneel ve ark., 2007). SMLBA besi ortamı üzerinde test edilen bakteriler 2 günlük saf ve taze kültürden steril kürdan yardımı ile alınarak besi yerine inokule edilmiştir. Proteaz etkinliğinin tespiti için kullanılan bu petriler 2 gün süre ile 26°C'de inkübe edilmiştir. 2 gün sonra SMLBA besi ortamı içeren petri kapları incelendiğinde eğer verilen bakteri kendi etrafında şeffaf zon (engelleme bölgesi) şeklinde bir yapı oluşturmuşsa o bakterinin proteolitik aktivite gösterdiği kabul edilmiştir. Proteolitik indeks (Pro-indeks) değeri bakteri koloni çapının koloni etrafında oluşan engelleme bölgesinin çapına bölünmesiyle $[Pro-indeks = (Z\check{c})/B\check{c}]$, Zç: Bakteri kolonisi etrafında oluşan zon çapı; Bç: Bakteri koloni çapı] hesaplanmıştır (Vazquez ve ark., 2000).

Denemelerde kullanılan bakteri izolatları için 3 farklı petride ölçümler yapılmış ve 2 farklı zaman dilimi içinde tekerrür edilmiştir.

3.2.4.2. Bakteri İzolatlarının Siderofor Oluşturma Potansiyellerinin Belirlenmesi

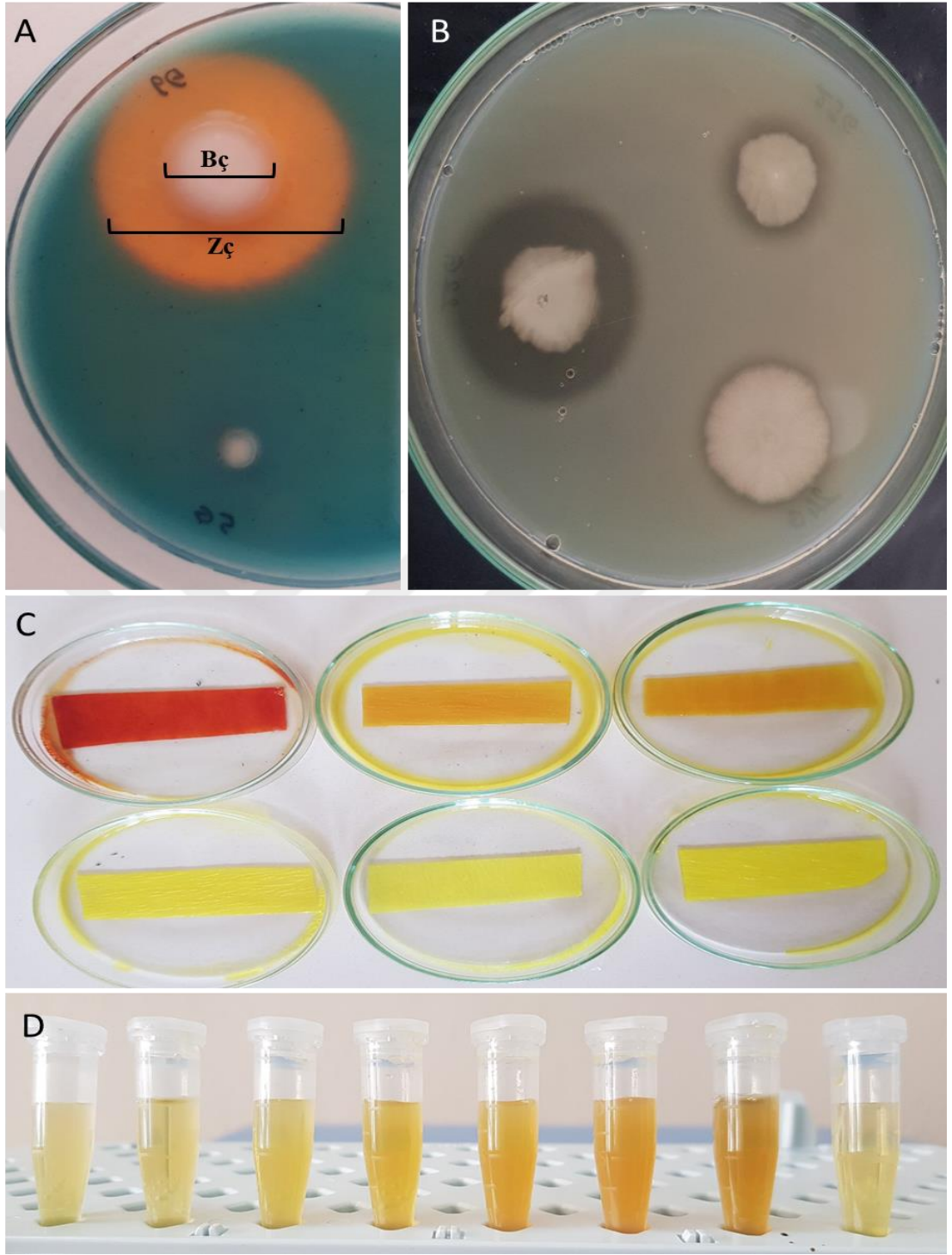
Siderofor oluşumunun tespiti amacıyla kurulan denemede Schwyn ve Neilands (1987) tarafından bildirilen yöntemle göre krom azurol S (CAS) boyası içeren mavi renkli agar besi ortamı kullanılmıştır. Siderofor testinde kullanılan bakteriler 2 günlük taze kültürden steril kürdan yardımı ile alınarak, CAS agar ortamına inokule edilerek 5 gün süreyle 26°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan 2 gün sonra incelenen petrilere eğer besi ortamına inokule edilmiş bakteri kolonisini çevreleyen sarı-turuncu renkte zon (engelleme bölgesi) oluşmuşsa bu durum siderofor oluşturma yönünden olumlu bir sonuç elde edildiğini gösterir. Bu çalışmada siderofor indeks (S-indeks) değeri bakteri kolonisi etrafında oluşan engelleme zon çapının bakteri koloni çapına bölünmesiyle [S-indeks= (Zç)/Bç, Zç: Bakteri kolonisi etrafında oluşan engelleme zon çapı; Bç: Bakteri koloni çapı] hesaplanmıştır (Vazquez ve ark., 2000). Denemede kullanılan tüm bakteri izolatları için 3 değişik petri kabında ölçümler yapılarak farklı zamanlarda 2 kez tekerrür edilmiştir.

3.2.4.3. Bakteri İzolatlarının Amonyak (NH₃) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan epifit ve endofit bakterilerin amonyak (NH₃) oluşumu Cappuccino ve Sherman, (1992) tarafından bildirilen yöntemle göre Nessler’s çözeltisi kullanılmak suretiyle kalitatif olarak belirlenmiştir. Deneme için 1 ml peptonlu su cam tüplere verildikten sonra 2 günlük epifit ve endofit bakteri izolatları steril kürdan yardımı ile bir miktar alınarak peptonlu su içeren cam tüplere verilmiştir. Peptonlu su içeren tüplere bakteriler inokule edildikten sonra inkübatörlü orbital çalkalayıcı kullanılarak 150 rpm ve 26°C sıcaklıkta 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu sıvı besi ortamında gelişen bakteri kolonisinin üzerine 50 µl Nessler’s çözeltisi eklenmiştir. Bakterilerde amonyak oluşumunun görülmesi tüplerde yer alan besi ortamlarının açık sarıdan kahverengi-koyu sarı renge dönmesiyle anlaşılmıştır.

3.2.4.4. Bakteri İzolatlarının Hidrojen Siyanür (HCN) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Epifit ve endofit bakteri türlerinin ürettiği hastalık etmenlerinin engellenmesinde rol oynayan kimyasallardan birisi de hidrojen siyanür (HCN) dür. HCN üretiminin tespiti Castric (1977)'in belirlediği yöntemlere göre belirlenmiştir. İlk olarak steril kürdan ile 2 günlük bakteri izolatları alınarak 6 cm'lik küçük cam petrilere 4.4 gr/L glycine içerikli TSA besi ortamı dökülmüş ve besi ortamı kuruduktan sonra antagonist bakteri çizgi yöntemi ile çizilmiştir. Steril filtre kağıtları 1 cm eninde ve 3 cm boyunda dikdörtgen şeritler halinde kesilerek yaklaşık 0.5-1.0 ml %2 picric asit (PA) + 2% sodyum karbonat (Na_2CO_3) süspansiyonu (100 ml steril su+5 gr PA+2 gr Na_2CO_3) ile ıslatılarak petri kabının kapak kısmına koyulmuş ve 4 gün boyunca 26°C de inkübe edilmiştir (Şekil 3.6). HCN üretiminin tespiti pikrik asit süspansiyonu ile ıslatılmış filtre kâğıtlarının beyaz/açık sarı renkten kahverengi veya koyu kırmızıya dönüşmesi ile anlaşılmıştır (Castric, 1977).



Şekil 3.6. Antagonistik etki yapan bazı epifit ve endofit bakterilerin etki mekanizmalarının tespiti amacıyla (A) siderofor, (B) proteaz enzimi (proteolitik), (C) hidrojen siyanür (HCN) ve (D) amonyak üretim çalışmaları. Siderofor ve proteaz (A) üretme değerlerinin indeks değeri bakterinin kendi çapının (Bç) zon çapına (Zç) oranlanarak bulunmuştur. HCN ve amonyak için ise D ve E’de görüldüğü gibi filtre kâğıdının ve eppendorf tüpü içindeki solüsyonun renk değişimine göre değerlendirilmiştir.

3.2.5. Bakteri İzolatlarının Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmaların Belirlenmesi

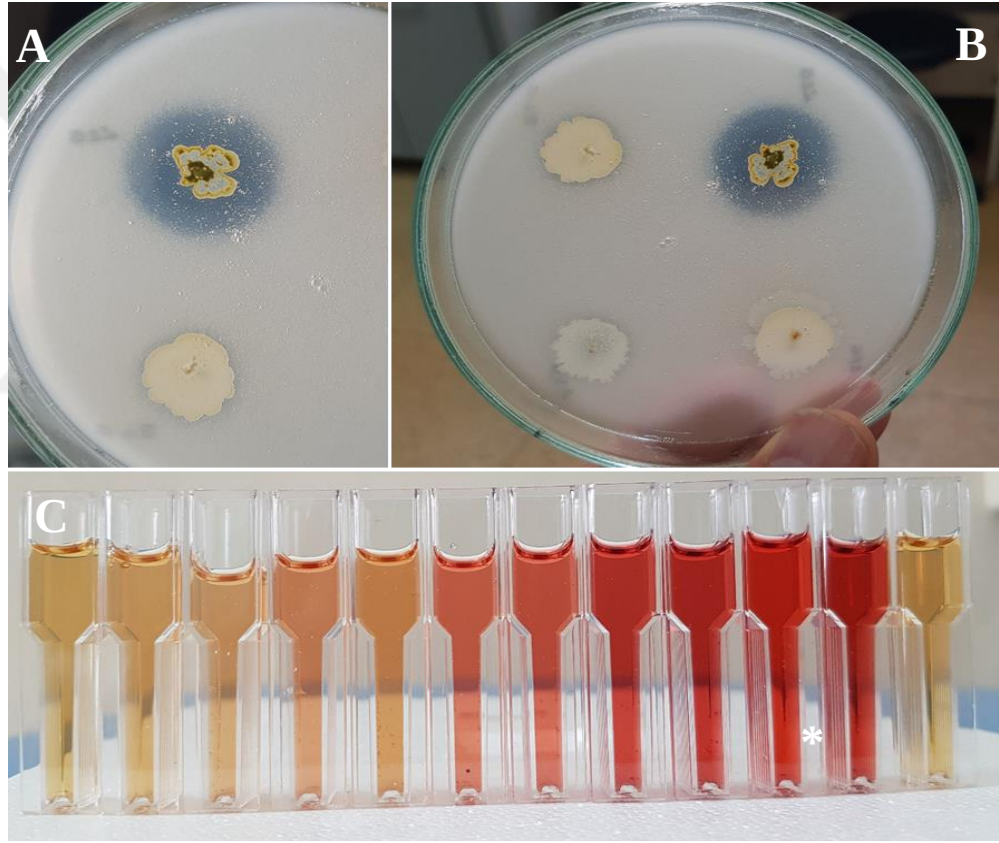
3.2.5.1. Bakteri İzolatlarının Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Endofit ve epifit bakterilerin fosfat üzerindeki etkisinin tespit edilmesi amacıyla Pikovskaya Agar (PVK) besi ortamı içine tri kalsiyum fosfat eklenen petri kapları kullanılmıştır (Kumar ve ark., 2012). Denemede kullanılan bakteriler 2 günlük taze kültürden alınarak PVK Agar ortamı üzerine inokule edilmiştir. Bu petriler 7 gün süreyle 26°C'de inkübe edilmiştir. PVK besi yerleri inokule edildikten 5 gün sonra kontrol edildiğinde eğer bakteri, inokulasyon yapılan alanın çevresinde şeffaf bir zon (engelleme bölgesi) oluşturmuşsa bakteri fosfor çözme yönünden pozitif olarak kabul edilmiştir. Her bir bakteri izolatı için fosfor çözünürlük indeksi (FÇ-indeks) değeri bakteri koloni çapının koloni etrafında oluşan engelleme bölgesinin çapına bölünmesiyle $[FÇ-indeks = (Zç)/Bç]$, Zç: Bakteri kolonisi etrafında oluşan zon çapı; Bç: Bakteri koloni çapı] hesaplanmıştır (Vazquez ve ark., 2000). Denemede kullanılan tüm bakteri izolatları için 3 değişik petri kabında ölçümler yapılarak farklı zamanlarda 2 kere tekerrür edilmiştir.

3.2.5.2. Bakteri İzolatlarının İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Çalışmada kullanılan bakterilerin IAA üretme durumunu tespit etmek amacıyla Salkowski yöntemi kullanılmıştır (Glickman ve Dessaux, 1995). Taze bakteri izolatlarından (48 saatlik) 10^8 hücre/ml konsantrasyonunda hazırlanan 500 µl bakteri süspansiyonu L-tryptophan (3 mg ml⁻¹) içeren 5 ml steril LB besi yeri eklenmiştir. Kontrol olarak L-tryptofan içermeyen besi yeri kullanılmıştır. Sıvı besi ortamına antagonist bakteri izolatları 200 rpm'de ve 30°C'de 4 gün boyunca inkübatörlü orbital çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra sıvı besi ortamında gelişmiş olan bakteriler 30 dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatant adı verilen üst tabakadan eppendorf tüplerinin içine 1 ml miktarında alınarak üzerine 2 damla (yaklaşık 40 µl) fosforik asit damlatılmıştır. Karışım hazırlandıktan sonra cam tüplerin içinde bulunan 2 ml Salkowski çözeltisinin (150 ml %98'lik H₂SO₄, 250 ml

distile su, 7.5 ml 0.5 M $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) üzerine dökülerek karanlık ortamda 30 dakika süreyle 25°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. Bakteri izolatının IAA ürettiğinin anlaşılması tüplerde bulunan besi ortamı renginin açık sarıdan kırmızı-pembe renklere dönüşmesiyle olmuştur (Şekil 3.7). IAA miktarının ölçütlenilmesi 535 nm dalga boyuna ayarlı UV-vis spektrofotometre (Perkin Elmer, Lamda 25, USA) kullanılarak (Patten ve Glick, 2002) yapılmıştır. IAA (Merck, Darmstadt, Germany) çözeltisinin ölçümünün yapılması ve absorbans değerlerinin gerçek değerlere dönüştürülmesi amacıyla ($\text{ppm} (= \mu\text{g ml}^{-1})$ düzeyinde) değerler IAA konsantrasyon standart eğrisiyle karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.7. Antagonistik etki yaratan endofit ve epifit bakteri izolatları için IAA üretimi ve fosfatı çözme oranının tespit edilmesi. A ve B’de besi ortamında fosforu çözme oranının tespit edilmesi. Fosfor çözme indeksi; bakteri çapının zon çapına oranlanması ile hesaplanmıştır. (C) Farklı yoğunluklarda IAA oranlarının sıvı besi ortamında oluşturduğu renk farklılıkları.

3.2.6. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Denemede kullanılan bakterilerle yapılan tüm *in vitro* biyoetkinlik denemeleri tesadüf parselleri deneme desenine göre, her bir bakteri izolatu için 2 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Biyokontrol etkinlik çalışmalarının yapıldığı petrilerdeki misel gelişiminin engellenme oranları % oranlarına çevrilmeden IBM SPSS istatistik programı (SPSS Statistics 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve bakteriyel izolatlar/fungal hastalık etmenleri arasındaki farklılık Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi ile analiz edilmiştir ($P \leq 0.05$).

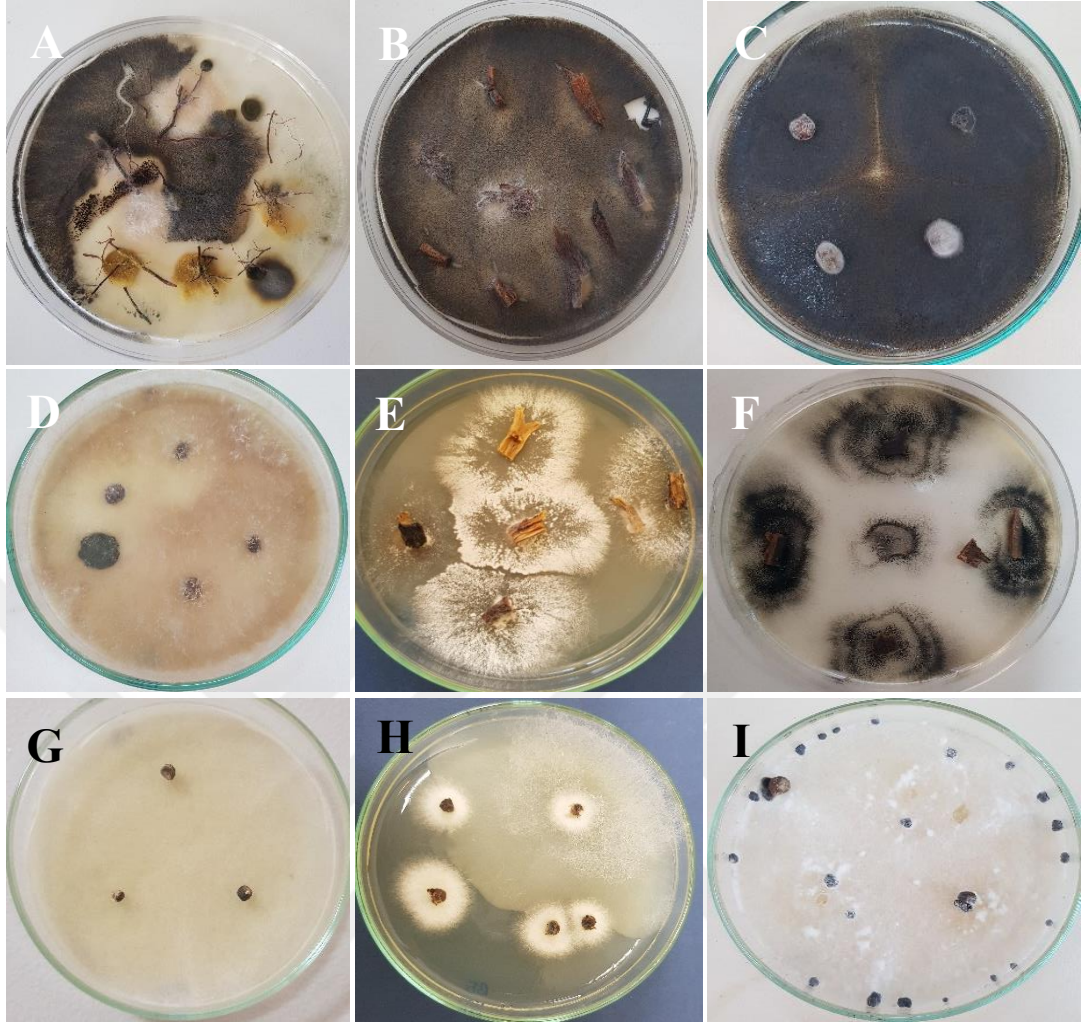
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Bamya Kök ve Kökboğazı, Gövde ve Tohumlardan Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Tanılanması

Hatay’da 2021 yılı Eylül (7 tarlada), Ekim (6 tarlada) ve Kasım (4 tarlada) aylarında toplam 17 farklı bamya arazi için yapılan sörveylerde 84 adet hastalık belirtisi gösteren bitki tespit edilmiştir. Arazi çalışmalarında toplanan hastalıklı bitkilerin kök, kök boğazı, gövde ve tohum kısmından alınan örnekler besi ortamında izole edilmiştir (Şekil 4.1).

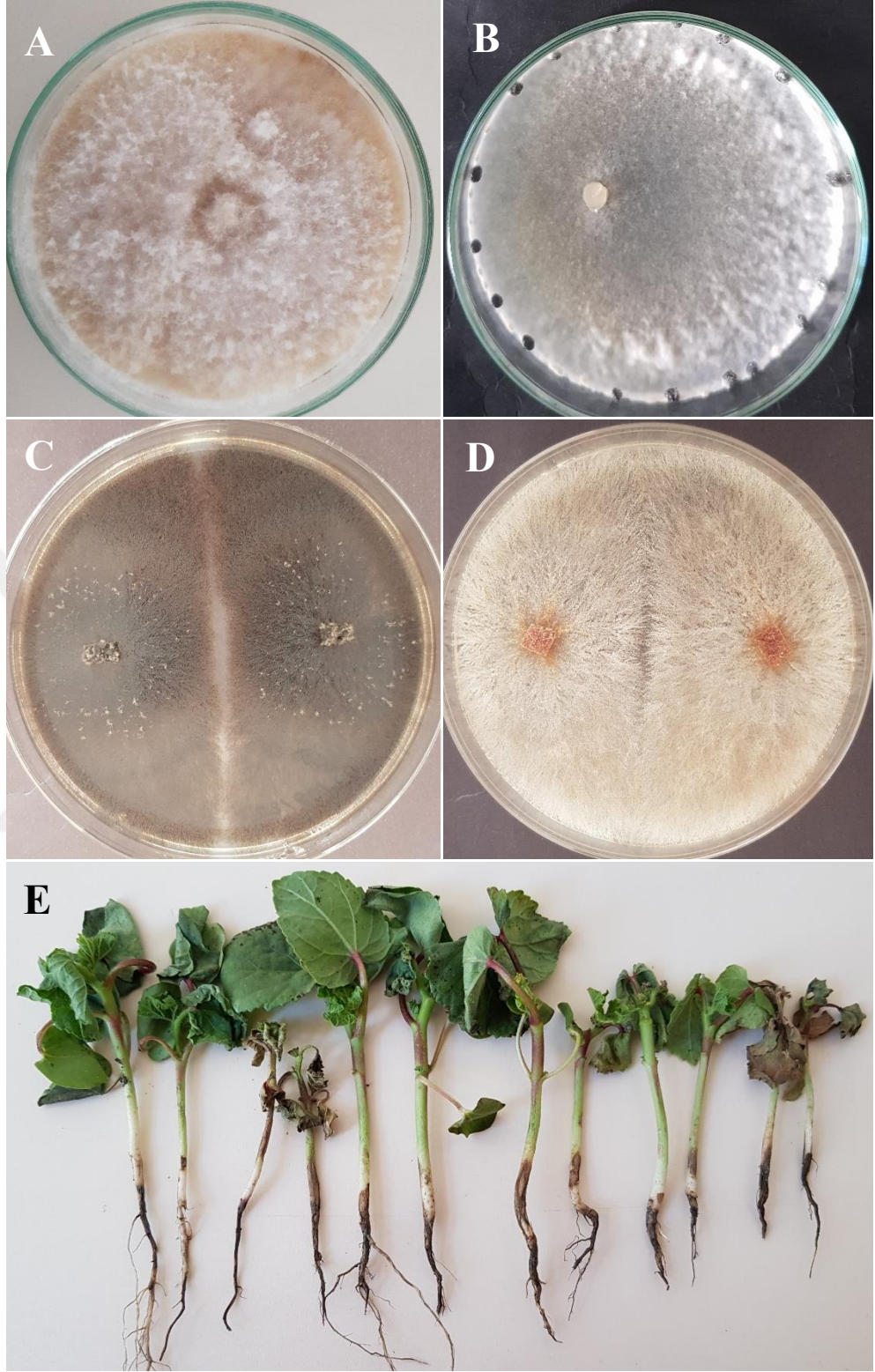
Sörvey alanlarında tipik kuruma belirtileri gösteren bitkilerin kök ve kök boğazı çürüklüğü ve incilmesi, kök boğazına yakın gövdelerin iletim demetlerindeki kararmalardan ve hastalık belirtisi gösteren olgun meyvelerin içerisindeki kararmış tohumlardan yapılan izolasyonlarda elde edilen fungusların koloni gelişimi, sporulasyon ve misel yapıları üzerine yapılan morfolojik çalışmalar sonucunda 21 farklı bitki örneğinden *Rhizoctonia solani* (Sneh ve ark., 1991), 26 adet bitki örneğinden *Macrophomina phaseolina*, 14 farklı bitkiden *Sclerotinia sclerotiorum* (Kohn, 1979), 30 farklı bitki örneğinden *F. oxysporum* (Leslie ve Summerell, 2006), 12 farklı bitki örneğinden ise *Verticillium dahliae* en yaygın toprak kökenli fungal hastalık etmeni türler olarak belirlenmiştir. Hastalık belirtisi gösteren hasat aşamasındaki bitkilerin meyvelerindeki tohumlardan yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda; 5 farklı tohum örneğinden *F. oxysporum*, 6 farklı tohum örneğinden *M. phaseolina*, 19 farklı tohum örneğinden *Alternaria* spp., 18 farklı tohum örneğinden *Aspergillus* spp, 14 farklı tohum örneğinden *Rhizopus* spp., 23 farklı tohum örneğinden *Penicillium* spp., gibi fungal izolatların tür teşhisleri morfolojik özelliklerine göre belirlenmiştir (Şekil 4.2).

Söz konusu izolatlar arasından potansiyel yaygın toprak ve tohum kökenli hastalık etmenlerinden *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *R. solani* ve *S. sclerotiorum* olarak belirlenen hastalık etmenleri patojenisite testleri ve *in vitro* biyoetkinlik çalışmalarda kullanılmak üzere saflaştırılmıştır (Şekil 4.2A-D).



Şekil 4.1. Hastalık belirtisi gösteren bamya bitkileri ile hastalıklı meyvelerin içindeki tohumlarından gelişen *M. phaseolina* (A-C), *R. solani* (D, E), *V. dahliae* (F), *Fusarium* spp. (G, H) ve *S. sclerotiorum* (I) gibi farklı fungal hastalık etmenlerin misel gelişimleri.

Sörveyler sonucu hastalıklı bitkilerde yaygın toprak ve tohum kökenli hastalık etmenlerinden *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*' un saf izolatları (Şekil 4.2A-D) sağlıklı bamya fidelerinin kök bölgelerine tekrar inoküle edilmiş ve inokulasyondan 4 hafta sonra sökölerek kök ve kök boğazında incelme, iletim demetlerindeki renk değişimleri ve nekroz gibi belirtiler esas alınarak hastalık oluşumu değerlendirilmiştir (Şekil 4.2E). Hastalık etmenleri inokulasyon noktalarında ortaya çıkan belirtilerden tekrar izole edilmiş ve orijinal izolatlarla karşılaştırılmıştır. Orijinal izolatlarla benzeyen re-izolatlarla benzer teşhis yöntemleri uygulandıktan sonra MALDI-TOF ile tanılamak suretiyle türleri teyit edilen izolatlar tüm denemelerde kullanılmıştır.



Şekil 4.2. Hastalık belirtisi gösteren bamya bitki tohumlarından elde edilmiş ve patojenisite testinde kullanılmış *F. oxysporum* (A), *S. sclerotiorum* (B), *M. phaseolina* (C) ve *R. solani* (D) izolatlarının petrideki görünüşleri. (E) Hastalık etmenleri ile yapılmış patojenisite testleri sonucu fidelerde ortaya çıkan kök çürüklük belirtileri.

Nijerya’da 1992 ve 1993 yılları arasında bamya yetiştiriciliği yapılan alanlarda sararma ve dökülme belirtileri ile hastalık şiddetine bağlı olarak bitkilerde yatma ve ölüm gibi birtakım simptomlar gözlemlendiği bildirilmiştir. Hastalık bitki dokusunda ise kuru çürüklük ve kömür çürüklüğü gibi belirtilerin olduğu gözlemlenmiştir. Bölgede yapılan sorveyler ile simptom gösteren örnekler rastgele toplanıp teşhis için izolasyonu yapılmıştır. İzolasyon çalışmaları sonucunda morfolojik özelliklerine göre hastalık etmeninin *M. phaseolina* olduğu anlaşılmıştır. Söz konusu çalışma ile Nijerya’da bamya yetiştiriciliği için önemli bir etmen olan *M. phaseolina*’nın varlığı ilk defa bu rapor ile ortaya konulmuştur (Oluma ve Nwankiti, 2000). Ülkemizde *M. phaseolina* ile ilgili birçok farklı bitkide çalışma yapılmış olmasına rağmen hastalık etmeninin bamya bitkisinde varlığı ilk kez bu çalışma ile belirlenmiştir.

Prova ve ark. (2017) Bangladeş’te bamya yetiştiriciliği yapılan alanlarda görülen çürüme belirtilerine neden olan hastalık etmenini izole ederek teşhis etmeye çalışmışlardır. PDA ortamında izole edilen hastalıklı doku, beyaz yapıda misel tabakası oluşturarak hızlı bir şekilde gelişmeye başlamıştır. PDA ortamında gelişen kolonilerin etrafında dış yapısı küre şeklinde olan siyah renkli sklerotlar oluşmaya başlamıştır. Sklerotlar uzunluk olarak 4-8 mm, genişlik olarak ise 3-5 mm boyutunda oluşmuştur. Yapılan morfolojik ve moleküler tanılama çalışmaları sonucunda Bangladeş’te bamya yetiştirilen alanlarda hastalık etmeninin *S. sclerotiorum* olduğu ilk kez belgelenmiştir (Prova ve ark., 2017). Yaptığımız çalışmada ise benzer şekilde enfekte olmuş bamya bitkileri üzerinde beyaz fungus tabakası bulunan kısımlar alınarak izolasyonu yapılmıştır. Yaptığımız morfolojik ve fizyolojik çalışmalar sonucunda hastalık etmeni *S. sclerotiorum* olarak tanımlanmıştır. Söz konusu hastalık etmeni ülkemizde farklı bitkilerde görülmüştür. Fakat bamya alanlarında tespiti ilk defa bu çalışma ile belgelenmiştir.

Çin’de 2014 yılının Eylül ayında bamya yetiştiriciliği yapılan alanlarda bazı bitkilerin yaprak kısımlarında solma ve köklerinde kahverengileşme görülmüş olup ilerleyen zamanlarda bitkilerde ölüm görülmüştür. Hastalığın gittikçe yayılması üzerine enfekteli bitki dokularından hastalık etmenleri izole edilmiştir. Hastalık etmeni PDA besi ortamı üzerinde soluk devetüyü renginde koloni gelişimi göstermiştir. Yapılan morfolojik ve fizyolojik testler sonucunda hastalık etmeni *F. solani* olarak teşhis edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile kök çürüklüğüne neden olan *F. solani* ilk defa Çin’de

rapor edilmiş ve yıkıcı özelliğinin olduğuna dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Li ve ark., 2015).

Fungal hastalık etmeni *Fusarium oxysporum*'un Brezilya, California ve Hindistan'da yetiştirilen bamya bitkilerinde hastalık etmeni olarak bildirimleri bulunmakla birlikte (Farr ve Rossman., 2022), *F. oxysporum*'un ülkemizdeki bamyalarda da görüldüğü ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Pakistan'da yetiştiriciliği yapılan bamya bitkilerinde *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium* spp. gibi çeşitli toprak kökenli bitki patojeni fungal etmenlerin yanı sıra, *Meloidogyne* spp. gibi kök ur nematodları tarafından saldırıya uğradığı ve ciddi verim kayıplarına neden olduğu yapılan önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Ehteshamul-Haque ve ark., 1996; Parveen ve ark., 1994; Sultana ve ark., 2005).

Toprak kökenli hastalıklardan biri olan *M. phaseolina*'nın 500'den fazla bitkide kömür çürüklüğü hastalığına neden olduğu bilinmektedir (Marcinkowska, 2002). Toprak kökenli fide kök çürüklüğü hastalığı etmenlerinden *R. solani*, *Fusarium* türlerinde olduğu gibi toprakta aktif misellerle 2000'den fazla bitkide hastalık yaptığı saptanmıştır (Booth, 1971; Marcinkowska, 2002). Pakistanın Karachi ve Malir bölgelerinde bamya, domates ve papaya yetiştirilen alanlarda bitkilerin dayanıklılığının az olmasından dolayı *M. phaseolina*, *R. solani* ve *Fusarium* türleri ile kök ur nematodlarının enfeksiyonu sonucunda yetiştiricilik yapılan bütün alanın yok olmasına neden olduğu görülmüştür (Saeed ve Ashrafi, 1971).

Bangladeş'te yapılan çalışmalarda bamyada görülen başlıca hastalıklar *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium butleri* ve *Phytophthora palmivora* olarak bildirilmiştir. Söz konusu hastalıkların yıkıcılık oranı % 10-45 olarak saptanmıştır (Anwar ve Mckenry, 2010; Hussain ve ark., 2012). Bamyada büyük zarar yapan viral hastalıklar ise sarı damar mozaik hastalığı ve bamya yaprağı kıvrılması hastalığı olmuştur (Singh, 1996).

Bamya yetiştiriciliğinde sık görülen zararlıların başında kök-ur nematodu (*Meloidogyne* sp.) bulunmaktadır. Florida'da bamya yetiştirilen alanlarda en çok görülen bakteriyel hastalıklar; bakteriyel yaprak yanıklığına sebep olan *Pseudomonas cichorii*, kırmızımsı kahverengi lekelerle neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* olurken en sık görülen fungal etmenler ise yaprak yanıklığı (*Cercospora abelmoschi*),

çiçek çürüklüğü (*Choanephora cucurbitarum*), *Verticillium* solgunluğu (*Verticillium albo-atrum*), kömür çürüklüğü (*Macrophomina phaseolina*), güney yanıklığı (*Sclerotium rolfsii*), külleme (*Oidium* sp.) ve *Fusarium* solgunlukları (*Fusarium* sp.) olmuştur (Momol ve Pernezny, 2006).

Ülkemizde yetiştirilen bamya bitkilerinde sorun olan hastalıklar ve sebep olan etmenlerinin belirlenmesine yönelik olarak *Verticillium dahliae* (Tok ve ark., 2020) dışında bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Yapılan literatür taramasına göre çalışmamızda *Verticillium dahliae* dışında kalan hastalık etmenlerinin ülkemizde yetiştirilen bamya bitkilerinde sorun olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

4.2. Bamya ve Yakın Akraba Bitkilerin Farklı Kısımlarından Aday Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanılanması

Biyoetkinlik denemelerinde kullanılan epifit ve endofit karakterli bakteri izolatları hastalıkların gözlemlendiği tarlalardaki sağlıklı bamya bitkilerinin yanısıra, aynı tarla içinde ve/veya yakın tarlalardaki akraba bitkilerin (pamuk, ebe gümeci, pıtrak vb.) sağlıklı toprak altı (kök, kök boğazı ve köklere yakın topraklardan) ve toprak üstü (kök boğazına yakın gövde, dal, sürgün, yaprak ve meyve) bitki kısımlarından Bölüm 3.2.2.'de bildirilen yöntemlere göre elde edilmiştir. İzolasyonlar sonucunda, bölgeyi, konukçu bitki kısmını ve izole edildiği petriyi temsil edecek şekilde farklı morfolojik görünümlü 28 adeti endofit (%39.4) ve 43 adeti ise epifit (%60,6) olmak üzere toplam 71 bakteri izolatu elde edilmiştir.

Aday izolatlarla biyoetkinlik çalışmaları yapılmadan önce tütün yapraklarında HR ve patates dilimlerinde yumuşak çürüklük testleri yapılmak suretiyle olası hastalık etmeni bakteri izolatları çalışmalardan çıkartılmıştır. Yapılan testler sonucunda ve her iki testte negatif sonuç veren 35 adet epifit, 16 adeti endofit olmak üzere 51 aday bakteri izolatının kesin tür düzeyinde tanılanması MALDI-TOF MS yöntemiyle yapılmıştır. Yapılan MALDI-TOF analizleri sonucunda elde edilen ve indeks değeri 1.7 ve üzerinde olan toplam 47 izolattan 14 tanesinin (%29.8) Gram-negatif, 33 tanesinin (%70.2) Gram-pozitif olduğu Çizelge 4.1'de görülmektedir.

Tür düzeyinde teşhisi yapılan ve denemelerde kullanılan 36 izolata ait sonuçlar Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Sağlıklı bitkilerin farklı kısımlarından elde edilen izolatlar arasında, 8 tanesi dal-gövde, 16 tanesi kök, 4 tanesi ham meyve ve 8 tanesi ise

yapraktan izole edilmiştir. Elde edilen izolatların 23 tanesi epifit ve 13 tanesi endofit kökenlidir. Bu izolatların konukçu bitkilere göre dağılımlarına bakıldığında, 21 izolat bamyaya, 7 izolat pamuk, 5 izolat pıtrak ve 3 izolat ise ebe gümeci bitkisinden izole edilmiştir.

Elde edilen 19 farklı türe ait bakteri izolatlarının cins düzeyinde dağılımı incelendiğinde en yaygın izolatın 25 adet ile *Bacillus* cinsine ait olduğu ve sırasıyla 4 izolatla *Enterobacter*, 2 izolatla *Pseudomonas*, 1'er izolatla *Microbacterium*, *Pantoea*, *Paenibacillus*, *Lysinibacillus* ve *Rhizobium* cinsleri takip etmiştir. Tür düzeyinde teşhis edilen 36 izolatın 28 tanesi Gram-pozitif (%75), 8 tanesi Gram-negatif (%25) türlerden oluşmuştur. Gram pozitif olarak belirlenen toplam 28 izolat arasında, 25 izolat *Bacillus* spp. (%89.28), 1 izolat *Microbacterium* spp. (%3.57), 1 izolat *Paenibacillus* spp. (%3.57), 1 izolat *Lysinibacillus* spp. (%3.57), tür düzeyinde tanımlanmışlardır. Toplam 8 tane Gram negatif izolat arasında, 4 izolat *Enterobacter* spp. (%37.5) olarak belirlenirken, 2 izolat *Pseudomonas* spp. (%25), 1'er izolatın ise *Rhizobium* spp. (%12.5) ve *Pantoea* spp. (%12.5) olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Bamyaya ve yakın akraba bitkilerden izolasyonu yapılan bakteri izolatlarının tür bazında teşhisi

İzolat Adı*	Konukçu Adı	Epifit/Endofit	Gram Reaksiyon	Maldi Benzerlik İndeksi
<i>Bacillus cereus</i> B1ep	Bamyaya	Epifit	+	2.025
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>amyloliquefaciens</i> X1en	Pıtrak	Endofit	+	1.944
<i>Bacillus cereus</i> X3ep	Pıtrak	Epifit	+	2.185
<i>Bacillus cereus</i> B2ep	Bamyaya	Epifit	+	2.323
<i>Bacillus subtilis</i> B11 ep	Bamyaya	Epifit	+	2.156
<i>Bacillus cereus</i> B14 ep	Bamyaya	Epifit	+	2.347
<i>Bacillus cereus</i> P4 ep	Pamuk	Epifit	+	2.007
<i>Bacillus cereus</i> B16 en	Bamyaya	Endofit	+	2.144
<i>Bacillus pumilis</i> B20 ep	Bamyaya	Epifit	+	1.921
<i>Bacillus subtilis</i> P2 en	Pamuk	Endofit	+	2.16
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	Bamyaya	Epifit	+	2.123
<i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>spizanii</i> X4en	Pıtrak	Endofit	+	1.918
<i>Lysinibacillus fusiformis</i> P6en	Pamuk	Endofit	+	1.99
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	Bamyaya	Epifit	-	2.432
<i>Bacillus subtilis</i> B17en	Bamyaya	Endofit	+	2.084
<i>Enterobacter bugandensis</i> B18ep	Bamyaya	Epifit	-	2.49
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	Bamyaya	Endofit	+	2.021
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	Bamyaya	Epifit	-	2.399
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P1ep	Pamuk	Epifit	+	1.878
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	Bamyaya	Epifit	+	1.828

Çizelge 4.1. (Devamı) Bamya ve yakın akraba bitkilerden izolasyonu yapılan bakteri izolatlarının tür bazında teşhisi

İzolat Adı*	Konukçu Adı	Epifit/Endofit	Gram Reaksiyon	Maldi Benzerlik İndeksi
<i>Bacillus cereus</i> P5en	Pamuk	Endofit	+	2.034
<i>Bacillus cereus</i> P7en	Pamuk	Endofit	+	2.184
<i>Bacillus cereus</i> B6ep	Bamya	Epifit	+	2.361
<i>Enterobacter bugandensis</i> B15en	Bamya	Endofit	-	2.351
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	Ebegümeci	Endofit	+	1.925
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P3ep	Pamuk	Epifit	+	2.191
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	Bamya	Epifit	-	2.472
<i>Bacillus cereus</i> P7en	Pamuk	Endofit	+	2.184
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	Bamya	Epifit	+	2.36
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	Pıtrak	Epifit	-	2.038
<i>Microbacterium maritipicum</i> X5en	Pıtrak	Endofit	+	2.068
<i>Bacillus thuringiensis</i> G2en	Ebe gümeci	Endofit	+	1.964
<i>Bacillus thuringiensis</i> B13ep	Bamya	Epifit	+	2.025
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	Bamya	Epifit	-	2.185
<i>Enterobacter cloacae</i> B10ep	Bamya	Epifit	-	2.387
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> G1en	Ebe gümeci	Endofit	+	1.766

*İzolat kodlanması; izolasyonun yapıldığı bitki türü (**B**:bamya, **G**:ebegümeci, **X**:pıtrak, **P**:pamuk) ve izolasyonun yapıldığı yere (**En**, endofit; **Ep**, epifit) göre yapılmıştır.

PGPR bitkilerde verimi, tohum çimlenmesini, kök ve sürgünde büyümeyi teşvik eden, bitkilerin dayanıklılık mekanizmasını arttıran, faydalı bakteriler olarak tanılanıp rizosfer bölgesinde daha fazla bulunmaktadır. Rizosferde bulunan faydalı bakteriler bitki ile simbiyotik olanlar ve kök ve toprakta serbest gelişen bakteriler olarak iki gruba ayrılır. Faydalı bakterilerden *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* gibi bakteri türleri yaptığımız çalışmada da görüldüğü üzere hem bitki gelişimine olumlu etkide bulunmuş olup hem de hastalığa neden olan patojenlerin gelişimini engellemiştir. (Somers ve ark., 2004; Barriuso ve ark., 2005; Çakmakçı ve ark., 2005; Egamberdieva ve Islam, 2008; Lugtenberg ve Kamilova, 2009; Sayyed ve Chincholkar, 2009; Sayyed ve Patel, 2011; Saharan ve Nehra, 2011; Rajasekar ve Elango, 2011; Egamberdieva ve ark., 2011,2013; Berg ve ark., 2013; Jabborova ve ark., 2013; Sayyed ve ark., 2012, 2013).

4.3. Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesi üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının *in vitro* Antagonistlik Etkinliklerinin Belirlenmesi

Tütün bitkilerinde ve patates dilimleri üzerinde yapılan patojenisite testleri sonucunda hastalık etmeni olmadığı belirlenen 36 adet endofit ve epifit bakteri izolatının bamya bitkilerinde sorun olan yaygın toprak kökenli fungal etmenlerinden *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* ve *R. solani*'ye karşı antagonist etkileri *in vitro* koşullarda PDA+TSA besi ortamı üzerinde ikili kültür testleri (Şekil 3.5) ile belirlenmiştir. Bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde misel gelişimini engelleme oranlarına bağlı olarak izolatlar (i) **hiç engelleme yapmayanlar**, (ii) **zayıf seviyede engelleme yapanlar**, (iii) **orta düzeyde engelleme yapanlar** ve (iv) **güçlü düzeyde engelleme yapanlar** olarak 4 farklı kategoriye ayrılmıştır (Dalal ve Kulkarni, 2013). Elde edilen sonuçlar doğrultusunda zayıf seviyeden güçlü seviyeye doğru engelleme oranları antagonist bakteri izolatların test edildikleri fungal etmene göre değişiklik göstermiş olup, elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.2, Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4).

4.3.1. *F. oxysporum*'un Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının *in vitro* Antagonistik Etkinlikleri

Hastalık etmeni *F. oxysporum*'un *in vitro* koşullarda misel gelişimini engelleyen 36 farklı endofit ve epifit bakteri izolatının ikili kültür test sonuçları yorumlandığında; misel gelişimini **zayıf düzeyde** engelleyen 10 izolat (%27.7), **orta düzeyde** engelleyen 8 izolat (%22.2) ve **güçlü düzeyde** engelleyen 18 izolat (%48.6) belirlenmiştir.

Fungal hastalık etmeninin misel gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen ilk 10 izolatın 8 tanesinin epifit, 2 tanesinin ise endofit bakteriler olduğu görülmüştür. Patojenin misel gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen ve aynı istatistik grubuna düşen ilk 3 antagonist bakteri izolatı sırasıyla %76.39'luk engelleme oranı ile *Bacillus cereus* B1ep olup, bu izolatı sırayla %74.31'lik engelleme oranı ile *Pseudomonas aeruginosa* B3ep, %73.61'lik oranla *Bacillus cereus* B11ep izolatları izlemiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *F. oxysporum*'un misel gelişiminin engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi

İzolatlar	Antagonistik Etki ^a	
	MG	MGE
<i>Bacillus cereus</i> B1ep	11.33 ^a	76.39
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	12.33 ^a	74.31
<i>Bacillus cereus</i> B11ep	12.67 ^a	73.61
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	15.00 ^b	68.75
<i>Bacillus cereus</i> P7en	16.33 ^{bc}	65.97
<i>Bacillus cereus</i> B2ep	16.67 ^c	65.28
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	17.67 ^c	63.19
<i>Bacillus thuringiensis</i> B13ep	19.33 ^d	59.72
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P1ep	19.33 ^d	59.72
<i>Bacillus cereus</i> B5ep	19.67 ^d	59.03
<i>Bacillus subtilis</i> B17en	19.67 ^d	59.03
<i>Bacillus cereus</i> P5en	20.33 ^{de}	57.64
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>amyloliquefaciens</i> X1en	21.33 ^{ef}	55.56
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> G1en	22.00 ^{fg}	54.17
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P3ep	22.33 ^{f-h}	53.47
<i>Bacillus cereus</i> B14 ep	22.33 ^{f-h}	53.47
<i>Bacillus cereus</i> B6ep	23.33 ^{g-i}	51.39
<i>Bacillus thuringiensis</i> G2en	23.67 ^{hi}	50.69
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	24.33 ⁱ	49.31
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> X4en	24.67 ⁱ	48.61
<i>Bacillus cereus</i> X3en	26.33 ^j	45.14
<i>Bacillus pumilus</i> B20ep	32.33 ^k	32.64
<i>Enterobacter cloacae</i> B10ep	32.33 ^k	32.64
<i>Bacillus cereus</i> P4ep	33.00 ^k	31.25
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	33.33 ^{kl}	30.56
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	34.67 ^l	27.78
<i>Enterobacter bugandensis</i> B18ep	39.33 ^m	18.06
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	40.00 ^{mn}	16.67
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	41.00 ^{n-o}	14.58
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	42.33 ^o	11.81
<i>Enterobacter cloacae</i> P6en	44.33 ^p	7.64
<i>Microbacterium maritipicum</i> X5en	44.33 ^p	7.64
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	44.33 ^p	7.64
<i>Bacillus cereus</i> B16en	44.67 ^p	6.94
<i>Enterobacter bugandensis</i> B15en	45.33 ^p	5.56
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	45.33 ^p	5.56
Kontrol (<i>Fusarium oxysporum</i>)	48.00 ^r	-

MG: Misel Gelişimi(cm); **MGE:** Misel Gelişiminin Engellenme oranı (%)

^a Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanında yer alan küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel açıdan öneminin olmadığını belirtir (Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)



Şekil 4.3. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni *F. oxysporum*'un misel gelişimini engelleme potansiyelleri.

Hastalık etmeninin misel gelişimini en düşük düzeylerde engelleyen bakteri izolatları %5.56 engelleme oranı ile Gram negatif *Pantoea agglomerans* X2ep ve *Enterobacter bugandensis* B15en olmuştur. Bu izolatları %6.94-7.64 engelleme oranı ile *Enterobacter cloacae* P6en, *Microbacterium maritopicum* X5en, *Rhizobium radiobacter* B4ep ve *Bacillus cereus* B16en izolatları izlemiştir. Yapılan istatistik analizlerde söz konusu bu izolatlar aynı istatistik grupta yer almışlardır (Çizelge 4.2).

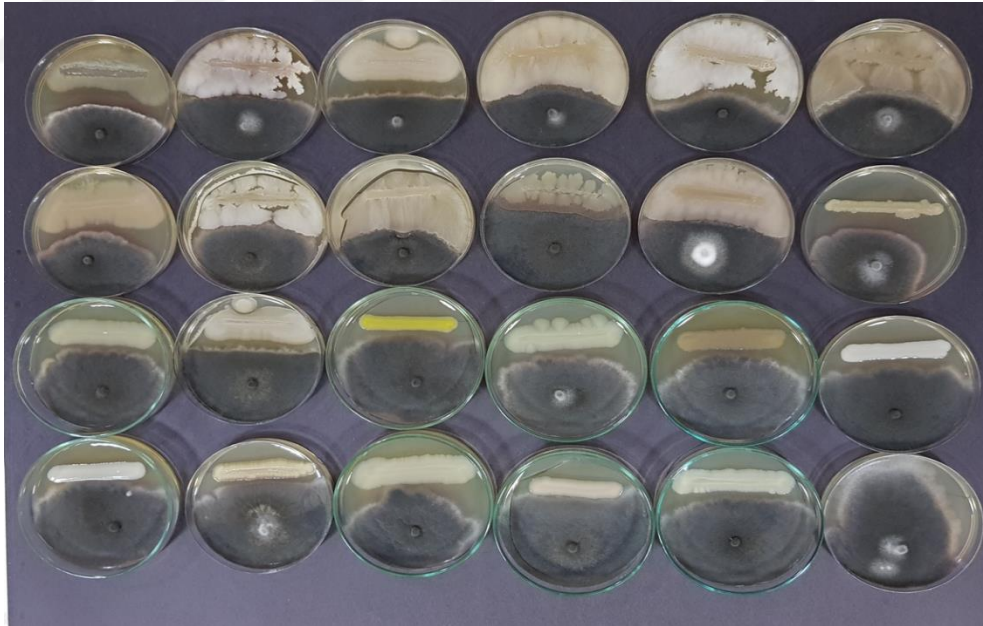
4.3.2. *M. phaseolina*'nın Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının *in vitro* Antagonistik Etkinlikleri

Epifit ve endofit bakteri izolatlarının *M. phaseolina* hastalık etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine olan antagonistik etkinlikleri *in vitro* ikili kültür çalışmalarında belirlenmiştir. PDA+TSA besi ortamı kullanıldığından dolayı fungal etmende renk değişikliği yapılan denemelerle görülmüştür. Yapılan testler sonucunda 36 farklı endofit ve epifit bakteri izolatının arasında misel gelişimini **zayıf düzeyde** engelleyen izolat bulunmamıştır. Test edilen izolatlar arasında, 3 izolat (%8.3) misel gelişimini **orta düzeyde** engellerken, 33 izolatın (%91.7) ise misel gelişimini **güçlü düzeyde** engellediği gözlenmiştir (Çizelge 4.3). Diğer fungal etmenlerde olduğu gibi

özellikle *Bacillus* spp. bağlı Gram pozitif antagonist bakteri türlerinin hastalık etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerinde güçlü antagonist etki gösterdiği ve yapılan istatistik analiz sonucunda izolatlar arasında önemli farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Hastalık gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen 10 bakteri izolatından 6 tanesi epifit, 4 tanesi ise endofit kökenli olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Hastalık etmeninin misel gelişimini en güçlü düzeyde engelleyen izolat %82.68 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* G1en olurken, bu izolatu sırasıyla %80.45 engelleme oranı ile *Bacillus thuringiensis* B13ep, %79.33 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P1ep, %77.1 engelleme oranları ile *Bacillus cereus* B6ep ve *Bacillus subtilis* spizizenii X4en izolatları takip etmiştir. Test edilen tüm izolatların engelleme oranları göz önüne alınarak yapılan istatistiki analizler sonucu aynı türe ait izolatların antagonist etkinlikleri arasında önemli düzeylerde farklılıklar görülmüştür (Çizelge 4.3, Şekil 4.4).

Hastalık etmeninin misel gelişimini en düşük seviyede engelleyen izolat %43.58 ile Gram pozitif *Microbacterium maritypicum* X5en izolatu olmuştur.



Şekil 4.4. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni *M. phaseolina*'nın misel gelişimini engelleme potansiyelleri.

Çizelge 4.3. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatlarının *in vitro* ikili kültür testlerinde *M. phaseolina*'nın misel gelişiminin engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi.

İzolatlar	Antagonistik Etki ^a	
	MG (mm)	MGE (%)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> G1en	10.33 ^a	82.68
<i>Bacillus thuringiensis</i> B13ep	11.67 ^{ab}	80.45
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P1ep	12.33 ^{bc}	79.33
<i>Bacillus cereus</i> B6ep	13.67 ^{cd}	77.10
<i>Bacillus subtilis</i> spizizenii X4en	13.67 ^{cd}	77.10
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	14.33 ^d	75.98
<i>Bacillus cereus</i> B1ep	14.67 ^{de}	75.42
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>amyloliquefaciens</i> X1en	14.67 ^{de}	75.42
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	15.33 ^{de}	74.30
<i>Bacillus cereus</i> B11ep	15.67 ^{de}	73.74
<i>Bacillus cereus</i> P7en	16.67 ^e	72.07
<i>Bacillus subtilis</i> B17en	16.67 ^e	72.07
<i>Bacillus cereus</i> P5en	16.67 ^e	72.07
<i>Bacillus cereus</i> B2ep	18.67 ^f	68.72
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	18.67 ^f	68.72
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	19.00 ^f	68.16
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P3ep	19.33 ^f	67.60
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	20.33 ^{fg}	65.92
<i>Bacillus pumilus</i> B20ep	21.67 ^{gh}	63.69
<i>Bacillus thuringiensis</i> G2en	22.33 ^h	62.57
<i>Enterobacter cloacae</i> P6en	22.33 ^h	62.57
<i>Bacillus cereus</i> B5ep	23.33 ^{hi}	60.90
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	23.33 ^{hi}	60.90
<i>Bacillus cereus</i> X3en	23.67 ^{hi}	60.34
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	23.67 ^{hi}	60.34
<i>Enterobacter cloacae</i> B10ep	26.33 ^{jk}	55.87
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	27.33 ^{kl}	54.19
<i>Bacillus cereus</i> B16en	28.33 ^{lm}	52.52
<i>Bacillus cereus</i> B14ep	28.67 ^{k-m}	51.96
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	28.67 ^{k-m}	51.96
<i>Enterobacter bugandensis</i> B18ep	29.00 ^{k-m}	51.40
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	29.33 ^{mn}	50.84
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	29.67 ^{mn}	50.28
<i>Bacillus cereus</i> P4ep	30.33 ^{mn}	49.16
<i>Enterobacter bugandensis</i> B15en	30.67 ⁿ	48.61
<i>Microbacterium maritopicum</i> X5en	33.67 ^o	43.58
Kontrol (<i>M. phaseolina</i>)	59.67 ^p	-

MG: Misel Gelişimi; **MGE:** Misel Gelişiminin Engellenme oranı (%)

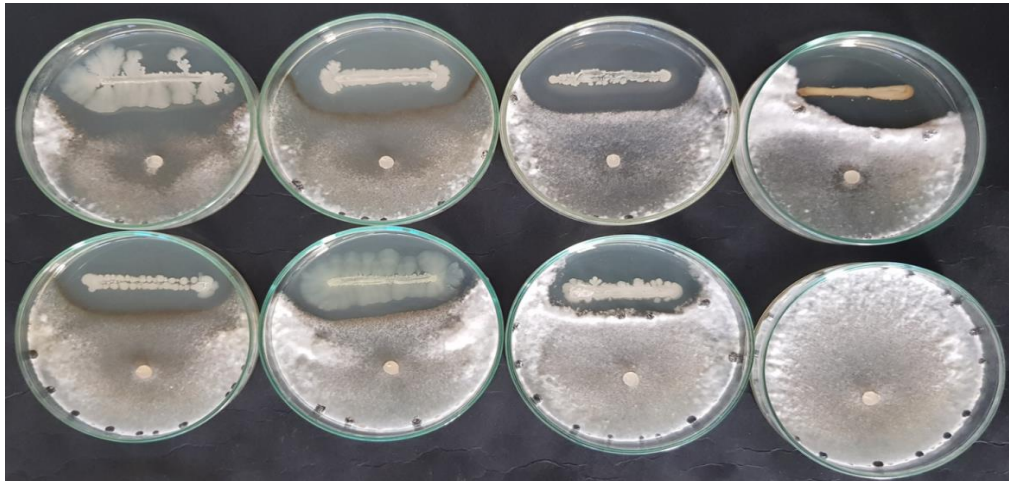
^a Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanında yer alan aynı küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel açıdan öneminin olmadığını belirtir (Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)

4.3.3. *S. sclerotiorum*'un Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının *in vitro* Antagonistik Etkinlikleri

Fungal hastalık etmeni *S. sclerotiorum*'un misel gelişiminin engellenmesinin belirlenmesi üzerine yapılan ikili kültür testlerinde, 1 adet (%2,77) bakteri izolatın misel gelişimini **zayıf düzeyde**, 7 adet (%19,44) izolatın **orta düzeyde** ve 28 adet (%77,77) bakteri izolatının ise **yüksek düzeyde** antagonistik etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir. Hastalığa neden olan fungusun misel gelişimini en fazla engelleyen 10 izolattan 9 tanesi gram pozitif olan *Bacillus* spp.'ye ait izolatlar olarak belirlenmiş olup, 1 izolatın ise *Pseudomonas* spp.'ye ait olduğu tespit edilmiştir. Bu izolatlardan 8 izolatın epifit ve 2 izolatın endofit olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Antagonistik etkinliği en yüksek izolat %89.44'lük engelleme oranıyla *B. cereus* B1ep olmuştur. Bu izolatı sırayla %87.78'lik engelleme oranıyla *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P3ep, %86.11'lik oranla *B. cereus* B14ep, %84.44'lük oranla *B. cereus* B2ep ve *B. thuringiensis* B13ep takip etmiştir. İstatistik veriler değerlendirildiği zaman ilk 4 farklı istatistik grubunda 6 adet izolatın *Bacillus* spp.'ye ait olduğu, 1 tanesinin ise *P. aeruginosa* B3ep'e ait olduğu görülmüştür. En fazla engellemeye sahip olan *B. cereus* B1ep ve *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P3ep izolatları aynı istatistiki grupta bulunmuştur (Şekil 4.5, Çizelge 4.4).

Patojene karşı kullanılan antagonist bakteri izolatlarından misel gelişimini en az engelleyen izolat %2.78 oranı ile *B. cereus* P4ep izolatı olmuştur.



Şekil 4.5. İkili kültür testlemeleri ile farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının fungal etmen *S. sclerotiorum*'un misel gelişimini engelleme potansiyelleri.

Çizelge 4.4. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *S.sclerotiorum* 'un misel gelişiminin engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi.

İzolatlar	Antagonistik Etki ^a	
	MG (mm)	MGE (%)
<i>Bacillus cereus</i> B1ep	6.33 ^a	89.44
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i> P3ep	7.33 ^a	87.78
<i>Bacillus cereus</i> B14ep	8.33 ^{bc}	86.11
<i>Bacillus thuringiensis</i> B13ep	9.33 ^{cd}	84.44
<i>Bacillus cereus</i> B2ep	9.33 ^{cd}	84.44
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	10.33 ^d	82.78
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i> P1ep	10.67 ^d	82.22
<i>Bacillus cereus</i> P5en	15.00 ^e	75.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp. amyloliquefaciens</i> X1en	15.33 ^e	74.44
<i>Bacillus cereus</i> B6ep	17.00 ^f	71.67
<i>Bacillus cereus</i> B11ep	17.33 ^f	71.11
<i>Bacillus thuringiensis</i> G2en	18.33 ^f	69.44
<i>Bacillus subtilis</i> B17en	20.33 ^g	66.11
<i>Bacillus pumilus</i> B20ep	20.67 ^g	65.56
<i>Bacillus cereus</i> B16en	21.33 ^{gh}	64.44
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i> G1en	22.33 ^{hi}	62.78
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> X4en	22.33 ^{hi}	62.78
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	22.33 ^{hi}	62.78
<i>Bacillus cereus</i> X3en	22.67 ^{hi}	62.22
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	22.67 ^{hi}	62.22
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	23.67 ^{ij}	60.56
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	24.33 ^j	59.44
<i>Bacillus cereus</i> B5ep	24.67 ^{jk}	58.89
<i>Bacillus cereus</i> P7en	25.00 ^{j-l}	58.33
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	26.00 ^{kl}	56.67
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> X4en	22.33 ^{hi}	62.78
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	22.33 ^{hi}	62.78
<i>Bacillus cereus</i> X3en	22.67 ^{hi}	62.22
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	22.67 ^{hi}	62.22
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	23.67 ^{ij}	60.56
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	24.33 ^j	59.44
<i>Bacillus cereus</i> B5ep	24.67 ^{jk}	58.89
<i>Bacillus cereus</i> P7en	25.00 ^{j-l}	58.33
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	26.00 ^{kl}	56.67
<i>Enterobacter cloacae</i> B10Ep	26.33 ^{lm}	56.11
<i>Enterobacter bugandensis</i> B15en	27.67 ^{mn}	53.89
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	29.00 ^{no}	51.67
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	30.33 ^{op}	49.44
<i>Enterobacter bugandensis</i> B18ep	30.33 ^{op}	49.44
<i>Enterobacter cloacae</i> P6en	30.67 ^p	48.89
<i>Microbacterium maritipicum</i> X5en	31.67 ^p	47.22
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	33.67 ^r	43.89
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	35.67 ^s	40.56
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	37.67 ^t	37.22
<i>Bacillus cereus</i> P4ep	58.33 ^u	2.78
Kontrol (<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>)	60.00 ^v	-

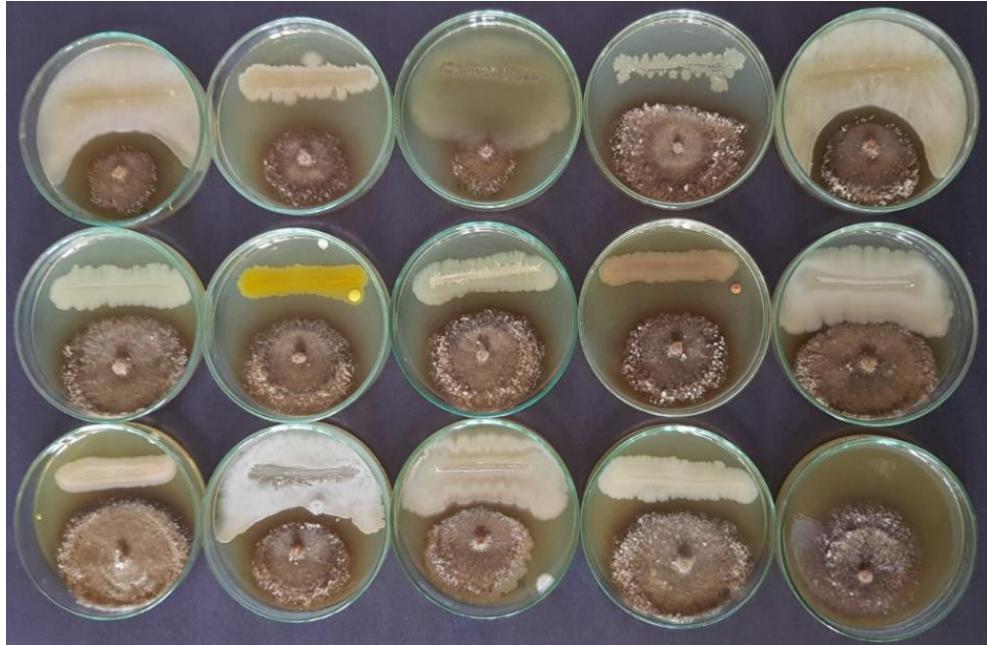
MG: Misel Gelişimi(cm); MGE: Misel Gelişiminin Engellenme oranı (%)

^a Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki aynı küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)

4.3.4. *R. solani*'nin Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının *in vitro* Antagonistik Etkinliklerinin Belirlenmesi

Hastalık etmeni *R. solani*'ye karşı **zayıf düzeyde** antagonist etki gösteren izolatın bulunmadığı, 7 tane (%19.44) izolatın **orta düzeyde** ve 29 tane (%80.55) izolatın ise **yüksek düzeyde** etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.

Misel gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen bakteri izolatı %89.33 oranı ile *B. horneckiae* B8ep olup, bu izolatı %84.00 engelleme oranı ile *B. subtilis* P2en ve *B. cereus* B11ep, %82.67 oranı ile *P. aeruginosa* B3ep, %81.33 oranı ile *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P1ep izolatları takip etmiştir. Yapılan istatistik analizler sonucunda en etkili izolat olan *B. horneckiae* B8ep ayrı grupta yer alırken, *B. subtilis* P2en, *B. cereus* B11ep, *P. aeruginosa* B3ep, *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P1ep izolatları aynı antagonistik etki grubunda yer almıştır (Şekil 4.6, Çizelge 4.5). Çizelge 4.5'te sunulduğu gibi, 3 farklı istatistik gruba düşmek suretiyle en yüksek düzeyde engelleme yapan 6 izolatın 4 tanesinin epifit ve 2 tanesinin ise endofit karakterli izolatlar olduğu tespit edilmiştir. Hastalık etmeninin misel gelişimini en az engelleyen bakteri izolatı %33.33 engelleme oranı ile *Microbacterium maritypicum* X5en izolatı olmuştur.



Şekil 4.6. İkili kültür testlemeleri ile farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının fungal etmen *R. solani*'nin misel gelişimini engelleme potansiyelleri.

Çizelge 4.5. Farklı konukçu türlerden izole edilen epifit ve endofit bakteri izolatlarının *in vitro* ikili kültür testlerinde *R. solani*'nin misel gelişimini engellemesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi.

İzolatlar	Antagonistik Etki ^a	
	MG (mm)	MGE (%)
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	5.33 ^a	89.33
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	8.00 ^b	84.00
<i>Bacillus cereus</i> B11ep	8.00 ^b	84.00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	8.67 ^{bc}	82.67
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P1ep	9.33 ^{bc}	81.33
<i>Bacillus cereus</i> P5en	9.67 ^c	80.67
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> X4en	11.33 ^d	77.33
<i>Bacillus cereus</i> X3en	11.33 ^d	77.33
<i>Bacillus subtilis</i> B17en	12.00 ^{de}	76.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P3ep	12.67 ^{d-f}	74.67
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> G1en	13.00 ^{e-g}	74.00
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	13.00 ^{e-g}	74.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>amyloliquefaciens</i> X1en	13.33 ^{e-h}	73.33
<i>Bacillus cereus</i> P7en	13.33 ^{e-h}	73.33
<i>Enterobacter cloacae</i> P6en	13.67 ^{f-i}	72.67
<i>Bacillus cereus</i> B1ep	14.33 ^{g-i}	71.33
<i>Bacillus cereus</i> B2ep	14.67 ^{h-j}	70.67
<i>Bacillus cereus</i> B6ep	15.00 ^{ij}	70.00
<i>Bacillus thuringiensis</i> B13ep	16.00 ^{jk}	68.00
<i>Bacillus thuringiensis</i> G2en	16.00 ^{jk}	68.00
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	16.67 ^k	66.67
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	17.00 ^k	66.00
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	17.33 ^{kl}	65.33
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	18.67 ^l	62.67
<i>Bacillus cereus</i> B16en	18.67 ^l	62.67
<i>Bacillus pumilus</i> B20ep	21.00 ^m	58.00
<i>Enterobacter cloacae</i> B10ep	23.00 ⁿ	54.00
<i>Bacillus cereus</i> B5ep	23.33 ⁿ	53.33
<i>Enterobacter bugandensis</i> B18ep	24.00 ^{no}	52.00
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	25.33 ^{op}	49.33
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	26.67 ^{pr}	46.67
<i>Bacillus cereus</i> B14ep	27.33 ^r	45.33
<i>Bacillus cereus</i> P4ep	29.67 ^s	40.67
<i>Enterobacter bugandensis</i> B15en	29.67 ^s	40.67
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	30.67 ^s	38.67
<i>Microbacterium maritopicum</i> X5en	33.33 ^t	33.33
Kontrol (<i>Rhizoctonia solani</i>)	50.00 ^u	-

MG: Misel Gelişimi(cm) ; MGE: Misel Gelişiminin Engellenme oranı (%)

^a Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanında yer alan küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel açıdan öneminin olmadığını belirtir (Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05).

Bamya ve yakın akraba bitkilerden izole edilen 36 farklı bakteri izolatının 4 farklı fungal hastalık etmenine karşı engelleme sonuçları birlikte değerlendirildiğinde; izolatların *F. oxysporum*'un misel gelişimini engelleme oranının %5.56-76.39 aralığında gerçekleştiği, ortalama engelleme ortalamasının ise %41.71 olduğu, *M. phaseolina*'nın engelleme oranlarının %43.58-82.68 arasında değiştiği engelleme ortalaması ise %64.40 olduğu, *R. solani*'nin misel gelişimini engelleme oranının %33.33-89.33 aralığında değiştiği ortalama engelleme oranının %65.50 olduğu ve *S. sclerotiorum*'a karşı engelleme oranları %2.78-89.44 aralığında değiştiği ortalama engellenme oranının ise %62.30 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Söz konusu olan 4 patojen fungusun misel gelişimi üzerinde güçlü düzeyde (>%50) engelleyen izolat sayısı; *M. phaseolina* için 33 adet, *R. solani* için 29 adet, *S. sclerotiorum* etmenleri için 28 adet, *F. oxysporum* için ise 18 adet olduğu tespit edilmiştir. Test edilen 4 hastalık etmeninin misel gelişimini güçlü düzeyde engelleyen izolat sayısı ise 17 adet olarak belirlenmiştir. Test edilen antagonist bakteri izolatları arasından *B. cereus* B1ep, *P. aeruginosa* B3ep, *B. cereus* B11ep izolatlarının 4 farklı hastalık etmenine karşı yüksek düzeyde ($\geq$ %70) engelleme yaptığı görülmüştür (Çizelge 4.6.). Bakteriler arasında 8 izolatın test edildikleri fungal etmenlerin misel gelişimini engellemede farklı gruplara düşmek suretiyle istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Antagonist bakteri izolatlarının test edildikleri fungal etmenlere karşı antagonistik etkinliklerinin karşılaştırılması.

İzolatlar	Antagonistik Etki ^a			
	<i>F. oxysporum</i>	<i>M. phaseolina</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>R. solani</i>
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> G1en	54.17 ^{fgC}	82.68 ^{aa}	62.78 ^{hiC}	74.00 ^{e-gB}
<i>Bacillus thuringiensis</i> B13ep	59.72 ^{dC}	80.45 ^{abA}	84.44 ^{cdA}	68.00 ^{jkB}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P1ep	59.72 ^{dC}	79.33 ^{bcB}	82.22 ^{da}	81.33 ^{bcA}
<i>Bacillus cereus</i> B6ep	51.39 ^{g-iC}	77.10 ^{cdA}	71.67 ^{fb}	70.00 ^{ijAB}
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> X4en	48.61 ^{iB}	77.10 ^{cdA}	62.78 ^{hiB}	77.33 ^{da}
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	49.31 ^{iC}	75.98 ^{bb}	62.78 ^{hiC}	84.00 ^{ba}
<i>Bacillus cereus</i> B1ep	76.39 ^{ab}	75.42 ^{deC}	89.44 ^{aa}	71.33 ^{g-iC}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>amyloliquefaciens</i> X1en	55.56 ^{efC}	75.42 ^{deAB}	74.44 ^{eb}	73.33 ^{e-hA}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	74.31 ^{aC}	74.30 ^{deD}	82.78 ^{dB}	82.67 ^{bcA}
<i>Bacillus cereus</i> B11ep	73.61 ^{ab}	73.74 ^{deC}	71.11 ^{fc}	84.00 ^{ba}
<i>Bacillus cereus</i> P7en	65.97 ^{bcB}	72.07 ^{eb}	58.33 ^{iC}	73.33 ^{e-hA}
<i>Bacillus subtilis</i> B17en	59.03 ^{dC}	72.07 ^{eb}	66.11 ^{gC}	76.00 ^{deA}
<i>Bacillus cereus</i> P5en	57.64 ^{deD}	72.07 ^{ec}	75.00 ^{eb}	80.67 ^{ca}
<i>Bacillus cereus</i> B2ep	65.28 ^{cBC}	68.72 ^{fc}	84.44 ^{cdA}	70.67 ^{h-jB}
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	16.67 ^{mnD}	68.72 ^{fb}	56.67 ^{klC}	89.33 ^{aa}
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	63.19 ^{cB}	68.16 ^{fb}	60.56 ^{ijC}	74.00 ^{e-gA}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P3ep	53.47 ^{f-hD}	67.60 ^{fc}	87.78 ^{aa}	74.67 ^{d-fB}
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	68.75 ^{ba}	65.92 ^{fgB}	59.44 ^{jC}	62.67 ^{IB}
<i>Bacillus pumilus</i> B20ep	32.64 ^{kB}	63.69 ^{ghA}	65.56 ^{ga}	58.00 ^{ma}
<i>Bacillus thuringiensis</i> G2en	50.69 ^{hiC}	62.57 ^{hC}	69.44 ^{fb}	68.00 ^{jkA}
<i>Enterobacter cloasea</i> P6en	7.64 ^{pD}	62.57 ^{hb}	48.89 ^{pC}	72.67 ^{f-iA}
<i>Bacillus cereus</i> B5ep	59.03 ^{da}	60.90 ^{hiB}	58.89 ^{jb}	53.33 ^{nB}
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	14.58 ^{n-oC}	60.90 ^{hiA}	49.44 ^{opB}	49.33 ^{opA}
<i>Bacillus cereus</i> X3en	45.14 ^{jC}	60.34 ^{hiB}	62.22 ^{hiB}	77.33 ^{da}
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	27.78 ^{lC}	60.34 ^{hiB}	62.22 ^{hiB}	66.67 ^{ka}
<i>Enterobacter cloacae</i> B10ep	32.64 ^{kB}	55.87 ^{jkA}	56.11 ^{lmA}	54.00 ^{na}
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	7.64 ^{pD}	54.19 ^{klA}	43.89 ^{rc}	38.67 ^{sb}
<i>Bacillus cereus</i> B16en	6.94 ^{pD}	52.52 ^{lmC}	64.44 ^{ghB}	62.67 ^{la}
<i>Bacillus cereus</i> B14ep	53.47 ^{f-hB}	51.96 ^{k-mC}	86.11 ^{bcA}	45.33 ^{rc}
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	11.81 ^{oD}	51.96 ^{k-mB}	40.56 ^{sc}	65.33 ^{klA}
<i>Enterobacter bugandensis</i> B18ep	18.06 ^{mC}	51.40 ^{k-mB}	49.44 ^{opB}	52.00 ^{noA}
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	30.56 ^{klC}	50.84 ^{mnB}	37.22 ^{td}	46.67 ^{prA}
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	5.56 ^{pC}	50.28 ^{mnB}	51.67 ^{noB}	66.00 ^{ka}
<i>Bacillus cereus</i> P4ep	31.25 ^{ka}	49.16 ^{mnA}	2.78 ^{uB}	40.67 ^{aa}
<i>Enterobacter bugandensis</i> B15en	5.56 ^{pC}	48.61 ^{nB}	53.89 ^{mnA}	40.67 ^{sb}
<i>Microbacterium maritipicum</i> X5en	7.64 ^{pB}	43.58 ^{oa}	47.22 ^{pa}	33.33 ^{ta}
Ortalama antagonistik etkinlik (%)	41.71	64.40	62.30	65.50

Yeşil renkle işaretlenen bakteri izolatının >%70 oranında etkinlik gösterdiğini gösterir. Sarı renk ile işaretlenen bakteri izolatları test edildikleri fungal etmenlerin misel gelişimini engellemede istatistiksel olarak farklılık göstermiştir.

^aSütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanında yer alan küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel açıdan öneminin olmadığını belirtir (Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05).

Daha önce yapılmış birçok biyolojik mücadele çalışmasında *Bacillus* spp.'ye ait endofit ve epifit özellikli bakteri izolatlarının, farklı bitki türlerinin yaprak, meyve, çiçek, gövde ve köklerinde hastalığa neden olan fungal ve bakteriyel etmenlere karşı biyolojik mücadele çalışmalarında en fazla çalışma yapılan türler olduğu bildirilmiştir. Söz konusu izolatların antimikrobiyal etkinliğe sahip metabolit/bileşik/antibiyotik üretmek suretiyle fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini engellediği bildirilmiştir.

Biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılan farklı antimikrobiyal bileşikler üreten antagonist bakteri türleri arasında en yaygın çalışılan izolatların *B. subtilis* başta olmak üzere *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. cereus* ve *B. thuringiensis* türlerine ait izolatlar olduğu bildirilmiştir (Stein, 2005). *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. cereus* ve *B. thuringiensis* türlerine ait bakteri izolatlarının iturin, surfactin, lichenysin, fengycin gibi farklı antimikrobiyal bileşenler üretmek suretiyle hastalıkların çıkışını ve gelişimini engellediği önceden yapılmış biyolojik mücadele çalışmalarında bildirilmiştir (Tsuge ve ark., 1999; Kim ve ark., 2004; Huszcza ve Burczyk, 2006).

Çalışmalarımızda kullanılan ve test edildikleri fungal etmenlere karşı en yüksek düzeyde antagonistik etkinlik gösteren bakteri türlerinden *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* ve *P. aeruginosa*'nın bamya bitkileri dışında farklı konukçu bitkilerde de sorun olan *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *R. solani* ve *S. sclerotiorum* gibi toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı yüksek düzeyde antagonistik etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Hasegawa ve ark., 1991; Gupta ve ark., 1999; Siddiqui ve ark., 2003; Sultana ve ark., 2006; Yasmin ve ark., 2014; Deepak ve ark., 2015; Liu ve ark., 2017; Chakraborty ve ark., 2021; Khalil ve ark., 2021). Diğer yandan *R. solani*'ye karşı en yüksek düzeyde antagonistik etkinlik gösteren *B. horneckiae*'nin daha çok topraktan izole edilip tanımlanmasına yönelik çalışmaların yer aldığı görülmüş olup (Wei ve ark., 2016), bakteri izolatının bitki patojeni fungal hastalık etmenlerine karşı antagonistik etkiye sahip olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Bacillus türlerinden özellikle *B. subtilis*'in biyolojik mücadele çalışmalarında üzerinde en fazla çalışılan, biyolojik preparatlarda en çok tercih edilen tür olmasının altında yatan nedenler; hastalık etmenleri tarafından üretilen toksinlere karşı hızlı bir şekilde direnç oluşturmaması, farklı antimikrobiyal etkinliğe sahip metabolitler

üretmesi, uygun olmayan çevre koşullarına dayanıklı spor (endospor) oluşturmaları gibi özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Biyolojik mücadelenin yaygınlaştığı son günlerde *Bacillus* türleri dışında *Agrobacterium* (Syn. *Rhizobium*) ve *Pseudomonas* cinslerine ait türlerde biyolojik mücadele çalışmalarında irdelenen bir diğer önemli türler olarak bilinir. Dünya genelinde üretimi yapılan biyopreparatların yarısından fazla kısmını biyokontrol ajanı etmeni *Bacillus* spp.'ye ait izolatlar oluşturmaktadır. Bu izolatlardan en fazla üretimi yapılan ve biyopreparat pazar payının %70'inden fazla kısmını Entomoloji alanında Lepidoptera türlerine ait zararlı türlere karşı "biyolojik mücadele ajanı" olarak kullanılan *B. thuringiensis* izolatı oluşturmıştır. Biyolojik mücadelenin yaygınlaşması ve kimyasal fungusitlere karşı bitki hastalık etmenlerinin dayanıklılık geliştirmesi nedeniyle *Bacillus* türlerinden *Bacillus subtilis* GBO3, *B. subtilis* QST 713, *B. subtilis* MBI 600, *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* FZB24, *B. licheniformis* SB3086 ve *B. pumilus* GB 34 nolu izolatlar ticari açıdan yaygın kullanılan izolatlar olarak ön plana çıkmıştır (Fravel, 2005).

4.4. Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesinde (Antagonistik) Rol Oynayan Biyokontrol Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi

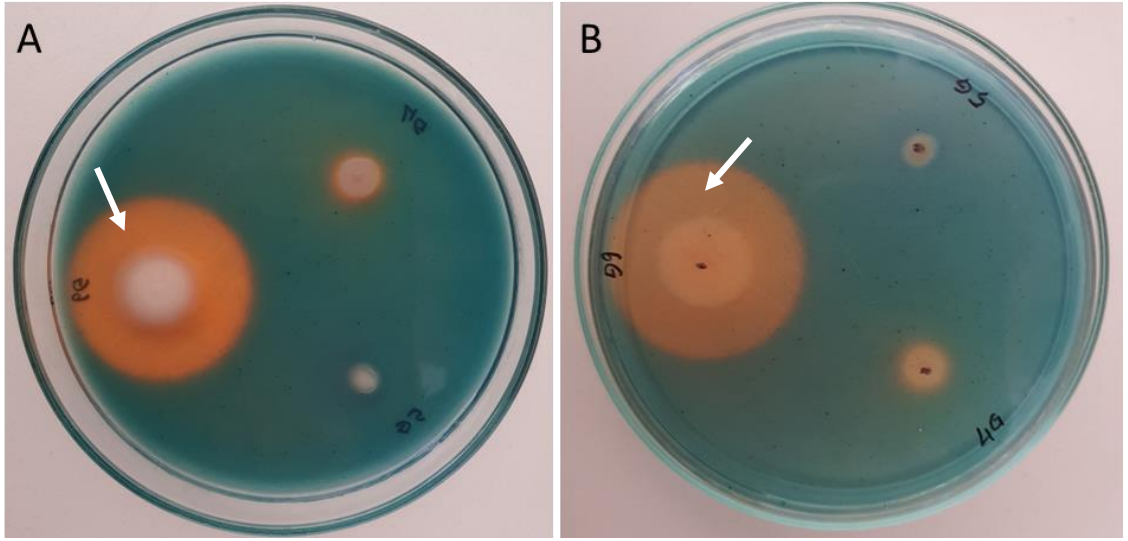
Yapılan denemeler sonucunda fungal etmenlerin misel gelişiminin engellenmesinde rol oynayan etki mekanizmalarının tespiti amacıyla 4 hastalık etmenine karşı yüksek engelleme oranına sahip olan 24 bakteri izolatının siderofor (Şekil 4.7), proteaz enzimi (Şekil 4.8), hidrojen siyanür (HCN) ve amonyak (NH₃) (Şekil 4.9) üretme potansiyelleri araştırılmıştır. Siderofor ve proteaz etkinliklerinin belirlenmesi, izolatların besi ortamında oluşturduğu zon çapının bakteri koloni çapına oranlanmasıyla kantitatif (sayısal) olarak belirlenirken, hidrojen siyanür ve amonyak üretim potansiyelleri bakterilerce üretilen metabolitlerin ortamda neden oldukları renk değişiminin derecelendirilmesi kalitatif (gözlemle) olarak ortaya konulmuştur. Denemeler sonucunda elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı endofit ve epifit antagonist bakteri izolatların hastalık etmenlerini engellemede kullandıkları olası biyokontrol (antagonistik) mekanizmaları^a

İzolatlar	Sid-İnd	Pro-ind	NH ₃	HCN
<i>Enterobacter cloacae</i> B10ep	2.74^m	0.00 ^a	+	-
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	2.30^{jk}	0.00 ^a	+	-
<i>Bacillus pumilus</i> B20ep	2.28^{jl}	2.24^h	++	++
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	2.13 ^{ik}	0.00 ^a	+++	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	2.11 ^{hj}	1.61 ^f	+++	+++
<i>Bacillus cereus</i> B1ep	2.07 ^{hi}	1.03 ^b	++	-
<i>Bacillus thuringiensis</i> B13ep	1.93 ^h	1.73^g	++	-
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	1.69 ^g	0.00 ^a	+	-
<i>Bacillus cereus</i> B14ep	1.68 ^g	1.73^g	+++	-
<i>Bacillus cereus</i> B16en	1.60 ^{fg}	1.05 ^b	++	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i> P3ep	1.31 ^{de}	1.14 ^c	++	-
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	1.28 ^{ce}	0.00 ^a	++	±
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	1.24 ^{cd}	0.00 ^a	++	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp. amyloliquefaciens</i> X1en	1.22 ^{bd}	0.00 ^a	++	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i> P1ep	1.19 ^{bd}	1.15 ^c	+	-
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	1.18 ^{bd}	0.00 ^a	±	-
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	1.15 ^{bd}	1.46 ^{de}	+++	-
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	1.13 ^{bd}	0.00 ^a	++	-
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	1.12 ^{bd}	1.03 ^b	+++	-
<i>Microbacterium maritypicum</i> X5en	1.11^{bd}	2.61ⁱ	±	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp. plantarum</i> G1en	1.08 ^{bc}	1.08 ^{bc}	++	-
<i>Bacillus subtilis</i> B12ep	1.03 ^b	1.03 ^b	++	-
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> X4en	0.00 ^a	1.52 ^e	++	-
<i>Bacillus cereus</i> P7en	1.44 ^{ef}	1.39 ^d	+++	-

Sid-İnd: Siderofor; **Pro-İnd:** Proteaz; **NH₃:** Amonyak; **HCN:** Hidrojen Siyanür; -, renk değişimi olmadığını, ±, +, ++, +++ ise HCN veya amonyak konsantrasyonunun artışına paralel renk değişim şiddetindeki artışı gösterir.

^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki aynı harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)



Şekil 4.7. (A ve B) Antagonist bakteri izolatlarının CAS Agar besi ortamında siderofor üretme potansiyelleri (ok). En yüksek etkinlik *Enterobacter cloaceae* B10ep tarafından gösterilmiştir (ok).

Yunanca'da 'demir taşıyıcı' anlamına gelen siderofor bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen, demir elementini kendine çeken bileşiktir. Demir elementinin azlığından dolayı strese giren bitkilerde bazı bakteriler, hastalık etmeninin bitki dokusuna girişini ve kök bölgesinde gelişimini engellemek amacıyla siderofor üretir (Chaiham ve ark. 2009; Miethke ve Marahiel 2007; Sayyed ve Chincholkar 2009). Sideroforun bu özelliği nedeniyle bitkilerde hastalık yapan etmenlere karşı biyolojik mücadele kapsamında kullanıldığı bilinmektedir (Sayyed ve ark.,2005).

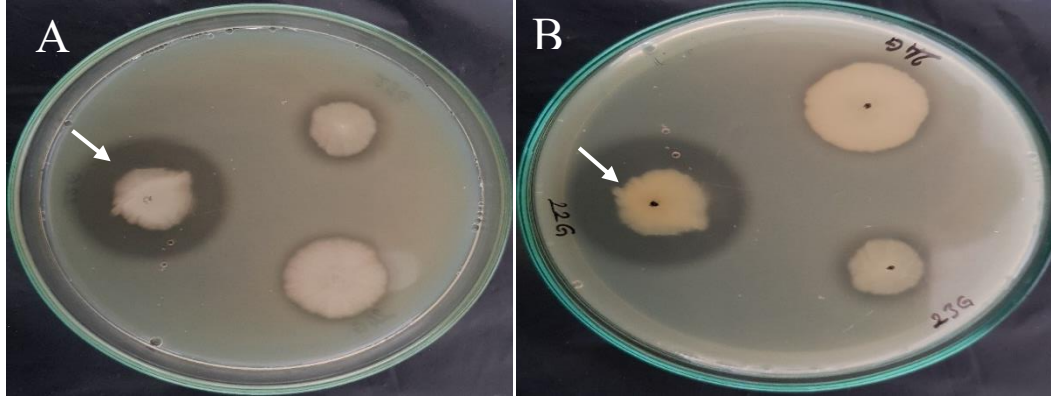
Çalışmada bakteri izolatlarının siderofor üretme etkinliği Chrom Azurol-S Agar (CAS) besi ortamı üzerinde belirlenmiş olup, *B. subtilis* subsp. *spizizenii* X4en izolatı dışındaki tüm izolatların 1.03-2.74 siderofor indeks değerleri aralığında siderofor ürettikleri belirlenmiştir. Siderofor oluşturma açısından elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; aynı türler arasında olduğu gibi, farklı türlere ait izolatlar arasında istatistiksel olarak önemli düzeylerde farklılıklar görülmüştür. CAS agar besi ortamında en yüksek siderofor etkinliği 2.74 indeks değeri ile *E. cloacae* B10ep izolatı tarafından gösterilmiş olup, bu izolatı 2.30 ile *P. thivervalensis* B9ep ve 2.28 ile *B. pumilus* B20ep izolatları izlemiştir. Hastalık etmenlerine karşı engelleme oranı en yüksek olan bakteri izolatlarından *P.aeruginosa* B3ep (2.11), *B. cereus* B1ep (2.07) ve *B. subtilis* B12ep (1.03) siderofor oluşumu yönünden de yüksek etkinlik göstermişlerdir (Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7).

Endofit ve epifit bakterilerin bir diğer önemli özelliği, ortamdaki birçok biyopolimeri parçalayan litik enzimleri salgılamasıdır. Bu tür enzimlerden olan selüloz, proteaz ve kitinaz, endofitik bakterilerin bitki dokularına girmesine ve kararlı koloniler oluşturmaya izin vererek, bu yeteneği olan bakterilere açık bir rekabet avantajı sağlar (Compant ve ark., 2005). Biyokontrol mikroorganizmalarının patojenik fungal etmenler üzerindeki engelleyici ve öldürücü etkisi, fungal etmenin hücre duvarlarının yapısı ile ilgilidir (Calonje ve ark., 2000). Fungal hastalık etmenlerinin hücre duvarı bileşimi karmaşık olduğundan, patojenik fungal etmenlerin hücre duvarının bozulması önemli bir husustur. Fungal hastalık etmenlerin hücre duvarlarının çoğu kitin, protein, polisakkarit β -1.3-Glukan ve lipid içerir (Bowman ve Free, 2010). Fungal etmenlerin hücre duvarının karmaşık bileşimi nedeniyle bozulması, birden fazla enzimin bu bileşenlerle etkileşime girmesiyle mümkün olabilir. Antifungal proteinler, patojen etmenlerin hücre duvarları üzerinde daha belirgin bir etkiye sahiptir ve patojenik fungusun hücre duvarı hidrolazlar tarafından parçalandığında bakteriyostatik veya bakterisit etki gösterir. Biyolojik mücadele çalışmalarında yapılan biyokimyasal çalışmaların çoğu *Bacillus* türüne ait izolatların geniş etkili ve çok çeşitli bir yapıya sahip ikincil antimikrobiyal metabolitler üretebildiğini göstermiştir. Bu nedenle *Bacillus* spp.'nin tarımsal ve tıbbi uygulamalarda geniş uygulama beklentileri vardır (Moyne ve ark., 2004).

Hastalık etmeninin gelişimini engelleyen antagonist bakterilerin “proteaz” enzimi üretimi %2 yağı alınmış süt tozu içeren LB besi ortamı (SMLBA) üzerinde oluşturdukları zon çapının bakteri çapına oranlanmasıyla belirlenmiş olup, elde edilen etkinlik değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Test edilen bakteri izolatlarından 16 tane izolatın değerleri ise 1.03-2.61 arasında değişen indeks değerinde proteaz etkinliği gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.9). Besi ortamında en fazla proteaz üreten bakteri izolatı 2.61 değeri ile *Microbacterium maritipicum* X5en olmuştur. Bu izolatı 2.24 indeks değeri ile *Bacillus pumilus* B20ep, 1.73 indeks değeri ile *Bacillus cereus* B14ep ve *Bacillus thuringiensis* B13ep izolatları izlemiştir (Çizelge 4.7).

Test edilen izolatlar arasından 9 izolatın (*Bacillus altitudinis* G3en, *Bacillus horneckiae* B8ep, *Enterobacter bugandensis* B7ep, *Enterobacter cloacae* B10ep, *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *amyloliquefaciens* X1en, *Pantoea agglomerans* X2ep,

Pseudomonas thivervalensis B9ep, *Paenibacillus polymyxa* B19en, *Rhizobium radiobacter* B4ep) proteaz enzimi üretmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.7).



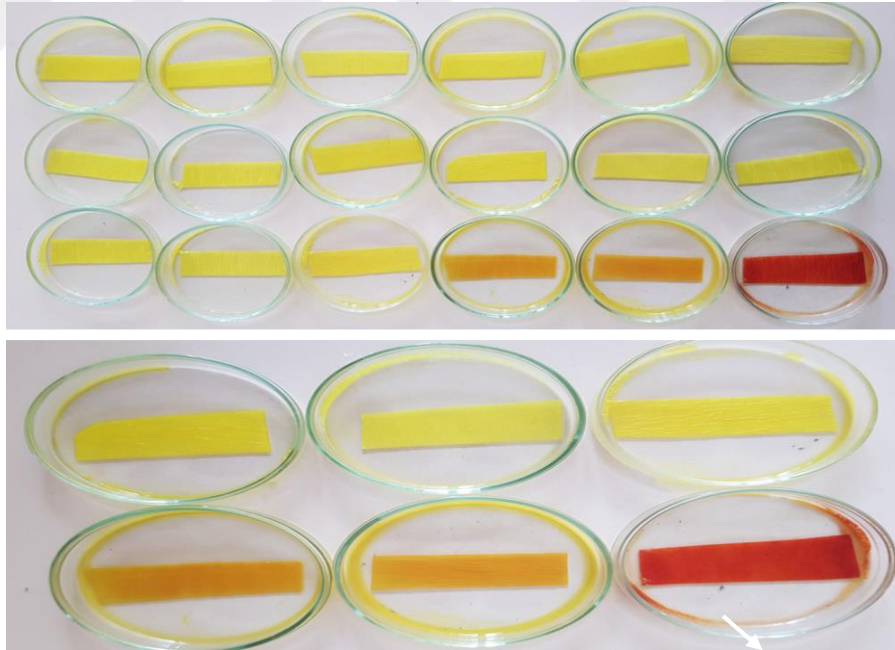
Şekil 4.8. (A ve B) Farklı antagonist bakteri izolatlarından *Bacillus pumilus* B20ep (ok), *Bacillus altitudinis* B21ep ve *Bacillus subtilis* B12ep'in SMLBA besi yerinde proteaz enzimi üretme potansiyelleri. Bakteri izolatlarınca üretilen proteaz etkinliği besi yeri üzerinde farklı çaplarda oluşturulan engelleme bölgeleri (ok) ile karakterize edilmiştir.

Antagonist bakterilerin etki mekanizmalarından bir diğeri olan amonyak (NH_3) üretme etkinlikleri peptonlu su içerisinde gelişen bakteri süspansiyonuna Nessler's çözeltisi eklenerek tespit edilmiştir (Cappuccino ve Sherman, 2013). Amonyak üretiminin değerlendirilmesi tüplerde yer alan peptonlu suyun açık sarıdan koyu sarı-kahverengi tonlarına doğru renk değişim şiddetine göre yapılmıştır. Bakteri izolatlarında besi yerinde amonyak üretimi sonucu en fazla renk değişimine neden olan izolatlar; *Bacillus cereus* P7en, *Bacillus altitudinis* B21ep, *Enterobacter bugandensis* B7ep, *Bacillus cereus* B14ep, *Pseudomonas aeruginosa* B3ep ve *Bacillus subtilis* P2en olmuştur (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Farklı antagonist bakteri izolatlarının amonyak üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Antagonist bakteri izolatlarınca besi yeri içerisinde oluşturulan amonyak üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan koyu sarı-kahverengine (ok) dönüşmesiyle belirlenmiştir.

Bitkilerde bulunan bazı faydalı bakteriler, hastalık etmenlerine karşı antimikrobiyal etkiye sahip zehirli bir gaz türü olan hidrojen siyanür (HCN) üretirler. HCN gazı hastalık etmenlerinin hücrelerinde solunum olayı ile enerji üretimini engelleyerek patojen gelişimini önler (Schipers ve ark., 1990). Bakteriler tarafından HCN üretiminin varlığı petri kabının kapak kısmına yerleştirilen pikrik asit damlatılmış filtre kâğıdı ile belirlenmiştir. Filtre kâğıdı renginin sarıdan kahverengiye ya da koyu kırmızıya dönüşmesi bakteri izolatının HCN ürettiğini göstermiştir. Kullanılan 25 izolattan 4 tanesinin petri kapaklarındaki filtre kağıtlarında değişen şiddetlerde renk değişikliğine neden olmuşlardır (Şekil 4.10). Geri kalan izolatlar Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere HCN üretmemiştir. Yapılan denemelerin sonucunda elde edilen verilere göre HCN üretiminin en fazla olduğu izolatın antagonistik etkisi yüksek izolatlardan olan *Pseudomonas aeruginosa* B3ep olduğu, bu izolatı sırasıyla *Bacillus pumilus* B20ep, *Enterobacter bugandensis* B7ep ve *Bacillus horneckinae* B8ep izolatları izlediği görülmüştür. Antagonistik etkinliği yüksek olan *Bacillus cereus* B1ep ve *Bacillus subtilis* B12ep izolatlarında HCN üretimi görülmemiştir.



Şekil 4.10. Antagonist bakterilerin glycine içeren TSA besi yerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri. Bakteri izolatları tarafından artan şiddette üretilen HCN sonucu petri kapağındaki filtre kâğıdı sarı renkten turuncu-kırmızı renge (ok) dönüşmüştür.

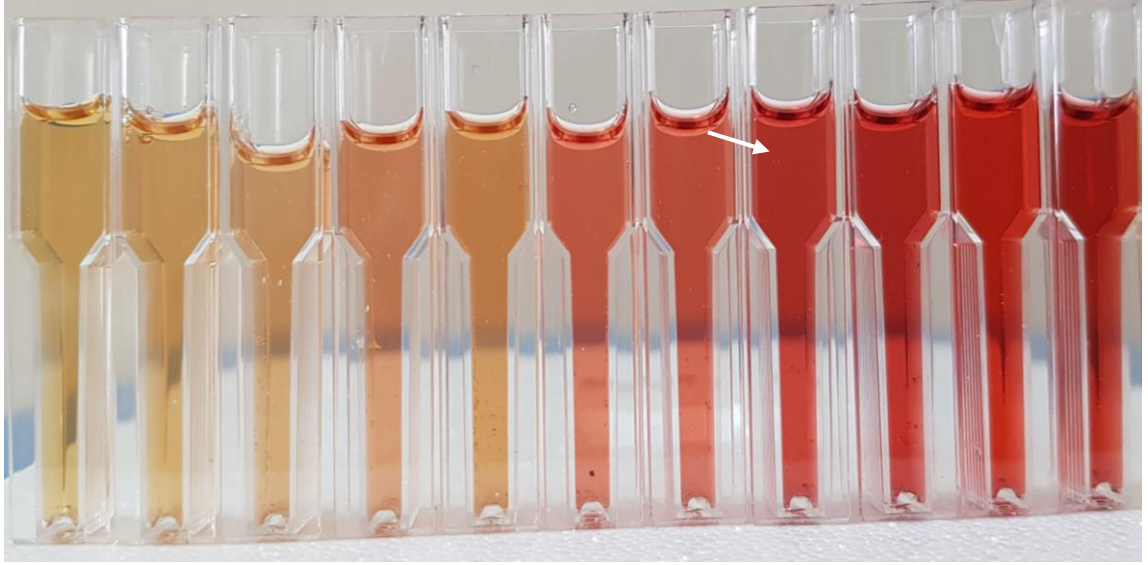
Pirinçte yanıklığa sebep olan *Rhizoctonia solani*'ye karşı yapılan denemeler sonucunda *Pseudomonas fluorescens* alt türleri engellemede etkili olurken en fazla β -1,3-glukanaz aktivitesi, siderofor üretimi ve HCN üreten izolat kodu ise PfMDU2 olmuştur. Yapılan çalışma ile *P. fluorescens*'in antagonistik etkisinin kaynağının ise β -1,3- glukanaz ve HCN üretmesi ile ilgili olduğu anlaşılmıştır (Nagarajkumar ve ark., 2004).

4.5. Epifit ve Endofit Bakteri İzolatlarının Bitki Büyüme ve Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarından Indol Asetik Asit (IAA) üretme etkinliği L-tryptophane içeren LB sıvı besi ortamı içinde belirlenmiştir. Denemede kullanılan antagonist bakterilerin tamamının 3.18 ile 85.59 $\mu\text{g/ml}$ arasında değişen miktarda IAA ürettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Test edilen izolatlar arasında en yüksek IAA üretimi 85.59 $\mu\text{g/ml}$ ile *Enterobacter bugandensis* B7ep izolatı tarafından gerçekleştirilmiş olup, bu izolatı sırasıyla 81.09 $\mu\text{g/ml}$ ile *E.cloacae* B10ep ve 73.15 $\mu\text{g/ml}$ *R. radiobacter* B4ep izlemiştir. En düşük IAA üretimi 3.18 $\mu\text{g/ml}$ ile *Paenibacillus polymyxa* B19en izolatı tarafından gösterilmiştir. Yüksek antagonist etkide bulunmasına rağmen *B. cereus* B1ep, *B. subtilis* B12ep ve *P. aeruginosa* B3ep izolatlarının oldukça düşük seviyelerde IAA ürettikleri belirlenmiştir (Şekil 4.11).

Bitki büyümesini teşvik eden biyokimyasalların belirlmesine yönelik yapılmış önceki çalışmalarda, badem bitkilerden izole edilmiş farklı *Enterobacter* türlerine (*E. cloacae* ssp. *cloacae* ve *E. cloacae* ssp. *dissolvens*) ait izolatların oldukça önemli düzeyde IAA ürettikleri (Aktan ve Soylu, 2020), söz konusu izolatların bitki gelişimini teşvik etmelerinin yanı sıra hastalık etmeni fungal hastalık etmeni *M. phaseolina*'nın misel gelişimini engellemek suretiyle özellikle *E. cloacae* (13.78-123.68 $\mu\text{g/ml}$) ve *B. megaterium* (3.68-53.98 $\mu\text{g/ml}$) izolatları arasında oldukça çarpıcı düzeylerde sonuçlar kaydedilmiştir.

Nohuttan izole edilen *P. aeruginosa* izolatı *M. phaseolina* etmenini siderofor ve HCN üreterek engellediği gibi, IAA hormonu üretmek suretiyle de bitki gelişimine destek olmuştur (Khare ve Arora, 2010).



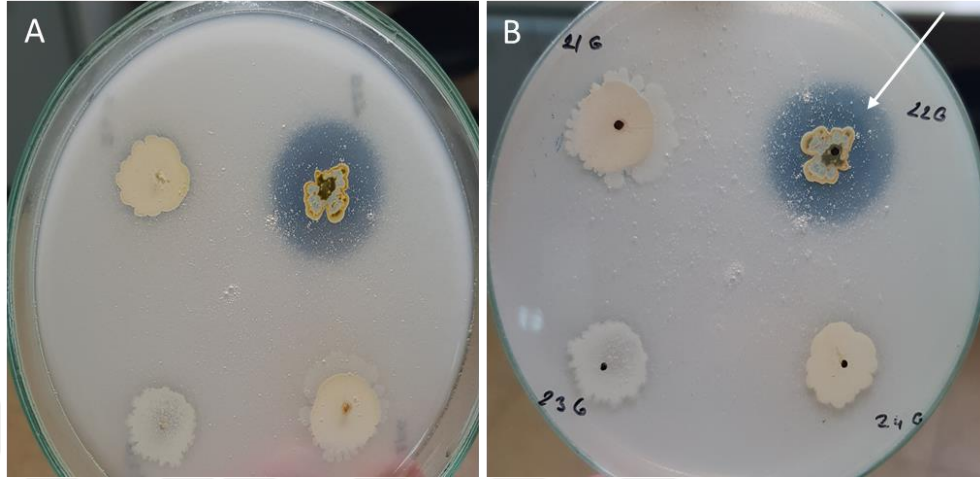
Şekil 4.11. Hastalık etmenlerini engelleyici etkide bulunan antagonist bakteri izolatlarının LB besi ortamı kullanılarak IAA üretim durumları ve üretilen IAA oranlarına göre sarı renkten kırmızı-pembeye doğru renk değişimi (ok).

Çalışmada kullanılan bakterilerin fosforu çözme potansiyelleri Pikovskaya Agar (PVK) üzerinde belirlenmiştir. Değerler, bakteri izolatının fosfatı çözerek oluşturduğu zon çapının bakteri çapına oranlanması ile hesaplanmıştır (Çizelge 4.8). Test edilen 24 adet bakteri izolatı arasında 11 izolatın fosfor çözme etkinliği göstermediği belirlenirken, 13 izolatın 1.13-2.60 değerleri arasında olduğu Çizelge 4.8’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.8’de verilen değerlere göre en fazla fosfor çözen bakteri izolatlarının 2.60 çözünürlük indeksi ile *Bacillus cereus* P7en, 2.50 çözünürlük indeksi ile *Pseudomonas thivervalensis* B9ep ve 2.22 çözünürlük indeksi ile *Pseudomonas aeruginosa* B3ep olduğu belirlenmiştir. Test edilen izolatlar arasında 1.05 çözünürlük indeksi ile *Bacillus amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P3ep ve 1.13 çözünürlük indeksi ile *Bacillus altitudinis* B21ep en düşük düzeyde fosfor çözme etkinliği gösteren bakteri izolatları olmuştur (Şekil 4.12).

Ahmad ve ark. (2017), mısırdaki bantlı yaprak ve kılıf yanıklığı (*Bipolaris maydis*) hastalığının engellenmesi ve bitkinin gelişimine katkıda bulunan bakterilerin tespiti için kolza tohumundan endofit bakteri türü izole etmişlerdir. Yapılan teşhisler sonucunda izole edilen türün *B. subtilis* olduğu anlaşılmıştır. *B. subtilis* 330-2 izolatının fosfor ve çinkoda çözünme yaparak indol asetik asit ve siderofor üretmiştir. Ayrıca denemelerde bu izolatın *B. cinerea*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *Cochliobolus heterostrophus* ve

Nigrospora oryzae'ye karşı antagonistik etkide bulunduğu da saptanmıştır. Bu izolatın pirinç ve mısır tarlalarında bitki gelişmesinde %14-37 oranında artışa neden olduğu bildirilmiştir.



Şekil 4.12. (A ve B) Farklı antagonist bakteri izolatlarının (P1ep, B3ep, B12ep, P2en) PVK besiyerinde fosforu çözebilme potansiyellerinin belirlenmesi. (A) Bazı izolatların fosforu çözemediği gözlenmiştir. (B) *Pseudomonas aeruginosa* B3ep izolatının besiyeri üzerinde fosfor çözme etkinliği engelleme bölgesi ile karakterize edilmiştir (ok).

Çizelge 4.8. Farklı epifit ve endofit antagonist bakteri izolatlarının bitki büyümesinin teşvik edilmesinde kullandıkları olası mekanizmalar.

İzolatlar	Bitki büyümesini teşvik eden mekanizmalar ^a	
	IAA (µg/ml)	Fosfor Çözme İndeksi
<i>Enterobacter bugandensis</i> B7ep	85.59 ^z	1.35 ^{c-f}
<i>Enterobacter cloacae</i> B10ep	81.09 ^y	1.25 ^{b-e}
<i>Rhizobium radiobacter</i> B4ep	73.15 ^w	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>spizizenii</i> X4en	65.48 ^v	0.00 ^a
<i>Pantoea agglomerans</i> X2ep	51.76 ^u	1.94 ^h
<i>Microbacterium maritopicum</i> X5en	27.66 ^u	0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i> B2ep	24.44 ^t	1.49 ^{e-g}
<i>Bacillus altitudinis</i> B21ep	24.20 ^s	1.13 ^{b-d}
<i>Pseudomonas thivervalensis</i> B9ep	23.82 ^r	2.50 ^j
<i>Bacillus cereus</i> P7en	15.31 ^p	2.60 ^j
<i>Bacillus horneckiae</i> B8ep	14.25 ^o	0.00 ^a
<i>Bacillus pumilus</i> B20ep	14.19 ^o	0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i> B16en	12.56 ⁿ	1.40 ^{df}
<i>Bacillus cereus</i> B14ep	10.24 ^m	1.71 ^{fg}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. <i>plantarum</i> P3ep	7.96 ^l	1.05 ^b
<i>Bacillus thuringiensis</i> G2en	7.52 ^k	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> P2en	7.26 ^j	0.00 ^a

Çizelge 4.8. (Devamı) Farklı epifit ve endofit antagonist bakteri izolatlarının bitki büyümesinin teşvik edilmesinde kullandıkları olası mekanizmalar.

İzolatlar	Bitki büyümesini teşvik eden mekanizmalar ^a	
	IAA (µg/ml)	Fosfor Çözme İndeksi
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. amyloliquefaciens X1en	5.72 ^g	0.00 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> ssp. plantarum G1en	6.98 ⁱ	0.00 ^a
<i>Bacillus altitudinis</i> G3en	4.15 ^d	1.60 ^{ef}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> B3ep	3.65 ^c	2.22 ⁱ
<i>Paenibacillus polymyxa</i> B19en	3.18 ^b	1.17 ^{b-d}

^a Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanında yer alan aynı harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığını belirtir (Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Hatay ili'nin farklı ilçelerinde bamya yetiştiriciliği yapılan hastalıklı bitkiler toplanıp kök, gövde, meyve ve tohumlarından toprak ve tohum kökenli hastalık etmenleri izolasyonu yapılarak morfolojik tanı çalışmaları yapılmıştır. Toplam 21 farklı bitki örneğinden *Rhizoctonia solani*, 26 adet bitki örneğinden *Macrophomina phaseolina*, 14 farklı bitki örneğinden *Sclerotinia sclerotiorum*, 30 farklı bitki örneğinden *Fusarium* spp. ve 12 farklı bitki örneğinden ise *Verticillium dahliae* toprak kökenli fungal hastalık etmeni türler olarak belirlenmiştir.

Hastalık belirtisi gösteren hasat aşamasındaki bitkiler üzerindeki meyvelerdeki tohumlardan yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda; 5 farklı tohum örneğinden *F. oxysporum*, 6 farklı tohum örneğinden *M. phaseolina*, 19 farklı tohum örneğinden *Alternaria* spp., 18 farklı tohum örneğinden *Aspergillus* spp., 14 farklı tohum örneğinden *Rhizopus* spp. ve 23 farklı tohum örneğinden *Penicillium* spp., gibi fungal izolatların tür teşhisleri morfolojik özelliklerine göre belirlenmiştir. Söz konusu izolatlar arasından yaygın toprak ve tohum kökenli potansiyel hastalık etmenlerinin *R. solani*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* ve *F. oxysporum* olduğu görülmüştür.

Yapılan literatür taramasına göre çalışmamızda ülkemizde yetiştirilen bamya bitkilerinde sorun hastalıkların belirlenmesine yönelik *Verticillium dahliae* (Tok ve ark., 2020) dışında bir çalışmaya rastlanılmamıştır. *V. dahliae* dışında kalan hastalık etmenlerinin ülkemizde yetiştiriciliği yapılan bamya bitkilerinde hastalık etmeni olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Sağlıklı bamya bitkilerinin yanı sıra aynı tarlada yer alan yakın akraba bitki türlerinden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilip tanılanan epifit ve endofit bakterilerin antagonistik etkinlikleri ikili kültür testleri ile bölgedeki hastalıklı bitkilerde en fazla sıklıkta rastlanılan fungal etmenlerden *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum* ve *R. solani*'ye karşı test edilmiştir. Çalışmalarda ayrıca antagonistik etkinlik gösteren bakterilerin fungal etmenlerin misel gelişimini engellemede ve bitksi gelişimini teşvik etmede rol oynayan olası etki mekanizmaları da belirlenmiştir. Yapılan literatür araştırmaları sonucunda dünya genelinde bamya bitkilerinde hastalığa neden olan toprak kökenli hastalık etmenlerinden *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum*, *R. solani*'ye karşı oldukça az sayıda çalışma bulunurken, ülkemizde bamya bitkilerinde sorun olan tohum ve toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı

biyolojik mücadelede antagonist bakterilerin kullanılması ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ülkemizde yetiştiriciliği yapılan bamya bitkisinde görülen hastalık etmenlerine karşı biyolojik mücadele imkanlarının araştırıldığı ilk çalışma niteliğini taşımaktadır.

Yaptığımız çalışmada bamya yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlardan temin edilen sağlıklı bitki örneklerinden izole edilip, tanılanan endofit ve epifit bakteriler arasından bölgeyi ve izole edildiği bitkileri temsilen 25 adet *Bacillus* spp., 4 adet *Enterobacter* spp., 2 adet *Pseudomonas* spp, 1'er adet ise *Microbacterium maritopicum*, *Paenibacillus polymyxa*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Rhizobium radiobacter* ve *Pantoea agglomerans* türlerine ait izolatların fungal etmenlerin misel gelişimini engelleme (biyoetkinlik) potansiyelleri ikili kültür testleri ile *in vitro* koşullarda araştırılmıştır.

F. oxysporum'a karşı en yüksek antagonistik etkinlik (engelleme) gösteren izolatlar *B. cereus* B1ep (%76,39 engelleme), *P. aeruginosa* B3ep (%74,31 engelleme) ve *B. cereus* B11ep (%73,61 engelleme) olarak belirlenmiştir. *M. phaseolina*'ya karşı en yüksek düzeyde antagonistik etkinlik gösteren izolatlar ise %82,68 engelleme oranı ile *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* G1en, %80,45 oranı ile *B. thuringiensis* B13ep ve %79,33 oranı ile *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P1ep olmuştur. *S. sclerotiorum*'a karşı en etkili izolatlar *B. cereus* B1ep (%89,44), *B. amyloliquefaciens* ssp. *plantarum* P3ep (%87,78) ve *B. cereus* B14ep (%86,11) olarak belirlenmiştir. *R. solani*'ye karşı en yüksek antagonist etkide bulunan izolat ise *B. horneckinae* B8ep (%89,33), *B. subtilis* P2en ve *B. cereus* B11ep izolatları (%84,00) olarak belirlenmiştir.

Fungal etmenlere karşı gösterilen biyoetkinlik değerlerine bakıldığında, türler arasında olduğu gibi, aynı türe ait izolatlar arasında da etkinlik açısından önemli farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Genelde *Bacillus* türlerine ait izolatların fungal etmenlere karşı yüksek düzeylerde antagonistik etkinliğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Fungal etmene karşı antagonistik etkinlik gösteren izolatların bu etkinlikte rol oynayan olası etki mekanizmalardan siderofor, proteaz, amonyak, HCN üretim etkinlikleri ile bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalardan fosfor çözme ve IAA üretme potansiyelleri bu testlere spesifik yöntemlerle belirlenmiştir. Etki mekanizmalarının belirlendiği çalışmalarda 36 izolattan biyoetkinlik potansiyellerine ve farklı türleri temsilen 24 izolat seçilmiştir.

CAS agar besi ortamında yürütülen siderofor testlerinde test edilen 24 izolat arasında *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* X4en izolatı dışındaki 23 izolatın siderofor ürettiği belirlenmiştir. CAS besi ortamında en yüksek siderofor etkinliği 2,74 indeks değeri ile *Enterobacter cloacae* B10ep izolatı tarafından gösterilmiştir.

Test edilen bakteri izolatlarından 16 izolatın değerleri 1,3-2,61 arasında değişen indeks değerinde “proteaz” etkinliği gösterdiği belirlenmiştir. Besi ortamı üzerinde en fazla proteaz üreten bakteri izolatı 2,61 indeks değeri ile *Microbacterium maritypicum* X5en izolatı olmuştur.

HCN üreten izolatların belirlendiği çalışmada, 24 izolattan sadece 4 izolatın değişen şiddetlerde HCN ürettiği ve en fazla üretim yapan izolatın *Pseudomonas aeruginosa* B3ep olduğu tespit edilmiştir.

Amonyak üretimi açısından değerlendirme yapıldığında ise tüm izolatların değişen konsantrasyonlarda amonyak ürettiği belirlenmiştir. En fazla amonyak üreten izolatların aralarında etkinliği en yüksek olan türlerinde yer aldığı *Bacillus cereus* P7en, *Bacillus altitudinis* B21ep, *Enterobacter bugandensis* B7ep, *Bacillus cereus* B14ep, *Pseudomonas aeruginosa* B3ep ve *Bacillus subtilis* P2en izolatları olduğu tespit edilmiştir.

IAA üretimi açısından değerlendirildiğinde 24 izolatın tamamının farklı konsantrasyonlarda IAA ürettiği belirlenmiştir. En yüksek IAA üreten bakteri izolatı 85,59 µg/ml konsantrasyon değeri ile *Enterobacter bugandensis* B7ep izolatı olmuştur.

Fosfor çözünürlüğü açısından değerlendirildiğinde, test edilen bakteri izolatları arasında 11 izolatın fosfor çözme etkinliği gösterdiği saptanmıştır. En fazla fosfor çözme etkinliği 2,60 indeks değeri ile *Bacillus cereus* P7en izolatı tarafından gösterilmiştir.

Yapılan denemeler bütün olarak değerlendirildiği zaman aynı türe ait olan bakteri türlerinin hastalık etmenini engelleme oranları arasında önemli farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu farklılıkların daha önceden yapılmış birçok çalışmada da bildirildiği gibi (Araujo ve ark., 2005), antagonist bakteri izolatların geliştiği bitkinin genetik yapısına, konukçusunun yetiştiği çevre koşullarına ve izolatın genetik yapısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Ülkemizde bamyaya yetiştiriciliği yapılan alanlarda diğer bitkilerde olduğu gibi kimyasal mücadeleden önce kültürel mücadele kullanmak hem çevresel hem de bitkiler

açısından faydalı bir yöntem olmuştur. Kültürel mücadele olarak kış mevsiminde bitki atığı bırakılmaması, bitkilerin direncinin yüksek tutulması amacıyla gübreleme ve sulama şartlarına dikkat edilmesi hastalık etmenlerinin bitkide zarar yapmasını önleyebilir. Fakat kültürel mücadele yeterli olmadığı zamanda kimyasal mücadele dikkat çeken bir yöntem olmuştur. Bamyada bitkisinde ruhsatlı olan ilaç bulunmadığından dolayı bu durum bizleri alternatif yöntem olarak biyolojik mücadeleye yönlendirmektedir. Biyolojik mücadele bitkiye ve çevreye zarar vermemesinden dolayı günümüzde yükselmekte olan bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Biyolojik mücadelede kullanılan antagonist bakteriler kimyasal yöntemlere göre bitkide toksik etkiye sebep olmaması, hastalığa karşı direnç oluşturmaması ve çevreye zarar vermeden hastalık etmenlerinin üzerinde engelleme yapması gibi nedenlerden dolayı kullanımı yaygınlaştırılabilir. Biyolojik mücadelede kullanılan başlıca türlerden *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Enterobacter* spp. gibi engelleyici etki yapan izolatların patojenin gelişiminin engellenmesine yönelik maddeler (siderofor, proteaz, amonyak üretimi) ve bitkinin gelişimine de yardımcı olan (IAA ve fosfor çözme) maddeler salgılar. bu bakteriler biyopreparat halinde ticari olarak kimyasal pestisitlere karşı alternatif olabileceği değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

- Abduhu, M., Khan, A.A., Mian, I.H., Mian, M.A.K., and Alam, M.Z., 2018. Effect of seed treatment with sodium hypochlorite and hot water on seed-borne fungi and germination of okra seed. **Annals of Bangladesh Agriculture**, 22(2): 41-50.
- Abdulhassan, H.A., 2020. The efficiency of some plant extracts on the fungus *Macrophomina phaseolina*, the causes agent of seed rot and the okra seedlings. **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**, 553: 1-7.
- Afzal, S., Tariq, S., Sultana, V., Ara, J., and Ehteshamul-haque, S., 2013. Managing the root diseases of okra with endo-root plant growth promoting *Pseudomonas* and *Trichoderma viride* associated with healthy okra roots. **Pakistan Journal of Botany**, 45(4): 1455-1460.
- Agrios, G.N., 2005. **Plant Pathology**. 5th Ed. Academic Pres. 803.
- Ahmad, F., Ahmad, I., and Khan, M.S., 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research**, 163: 173-181.
- Ahmad, Z., Wu, J., Chen, L., and Dong, W., 2017. Isolated *Bacillus subtilis* strain 330-2 and its antagonistic genes identified by the removing PCR. **Scientific Reports**, 7: 1-13.
- Ahmed, A.S., Perez-Sanches, C., Egea, C., and Candela, M.E., 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot by *Phytophthora capsici* in pepper plants. **Plant Pathology**, 48: 58-65.
- Ajayi-Oyetunde, O.O., and Bradley, C.A., 2018. *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of *Rhizoctonia* seedling disease of soybean. **Plant Pathology**, 67: 3-17.
- Aktan, Z.C., 2018. Badem ağaçlarında kurumaya neden olan bazı fungal hastalık etmenleri ile mücadelede endofit bakterilerin kullanım olanaklarının araştırılması üzerine bir araştırma. **Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**. Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Aktan, Z.C., Soylu, S., 2020. Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. **KSU Tarım ve Doğa Dergisi**, 23: 641-654.
- Alabouvette, C., Lemanceau, P., and Steinberg, C., 1993. Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts. **Pakistan Journal of Botany**, 37: 365-373.
- Al-Kassim, M.Y., and Monawar, M.N., 2000. Seed-borne fungi of some vegetable seeds in Gazan Province and their chemical control. **Saudi Journal of Biological Science**, 7(2): 179-184.
- Al-Lashi N.B., and Mahmood A.A., 2014. Biological control of damping-off of okra by the biopesticides *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. **Al Rafidain Sciences**, 25(1): 23-39 (Farsça).
- Al-Lashi, N.B., 2013. Effect of some kinds of fungal and bacterial biopesticides for the control of damping-off and root rot fungi of okra seedlings in the greenhouse. **Al-Rafidain Sciences**, 24(5): 16-37 (Farsça).
- Aloui, H., Jguirim, N., and Khwaldia, K., 2017. Effects of biopolymer-based active coatings on postharvest quality of okra pods in Tunisia. **International Society for Horticultural Science (ISHS)**, 72(6): 363-369.

- Anam, M.K., Fakir, G.A. and Khalequzzaman, K.M., 2002. Effect of seed treatment on the incidence of seed-borne diseases of okra. **Pakistan Journal of Plant Pathology**, 1: 1-3.
- Andersen, B., and Thrane, U., 1996. Secondary metabolites produced by *Alternaria infectoria* and their use as chemotaxonomic markers. **Mycotoxin Research**, 12: 54-60.
- Anonim, 2018. Bamyı Yetiştiriciliği. T.C Tarım ve Orman Bakanlığı. Samsun İl Tarım ve Orman M¼d¼rl¼ę¼. <https://samsun.tarimorman.gov.tr/Belgeler/Yayinlar/Lifletlerimiz/s-19.pdf>.
- Anonim, 2021. T¼rkiye İstatistik Kurumu (T¼İK), Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. (Eriřim Tarihi:07.06.2022).
- Anonymous, 2021. FAOSTAT, World Production Data. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. (Eriřim Tarihi:05.08.2023).
- Araujo, F.F., Henning, A.A., and Hungria, M., 2005. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 21: 1639-1645.
- Ashraf, M.R., Hafeez, O.B.A., Masroor, A., Ahmad, S., and Zaib, I., 2018. Okra seeds priming with two *Bacillus* spp. and trihar-6 isolates enhanced the physiological attributes and suppressed the *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*. **Annals of the Romanian Society for Cell Biology**, 22(2): 34-49.
- Babalola, O.O. 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology Letters**, 32: 1559-1570.
- Babaola, O.O., Samni, A.L., Odhiambo, G.D., and Torto, B., 2007. Plant growth-promoting rhizobacteria do not pose any deleterious effect on cowpea and detectable amounts of ethylene are produced. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 23: 747-752.
- Báez-Vallejo, N., Camarena-Pozos, D.A., Monribot-Villanuevaa, J.L., Ramírez-Vázquez, M., Carrión-Villanovoc, G.L., Guerrero-Analco, J.A., Partida-Martínez, L.P., and Reverchond, F., 2020. Forest tree associated bacteria for potential biological control of *Fusarium solani* and of *Fusarium kuroshium*, causal agent of Fusarium dieback. **Microbiological Research**, 235: 1-13.
- Barriuso, J., Pereyra, M.T., Lucas Garcia, J.A., Megias, M., Gutierrez Manero, F.J., Ramos, B., 2005. Screening for putative PGPR to improve establishment of the symbiosis *Lactarius deliciosus* and *Pinus* sp. **Microbial Ecology**, 50: 82–89.
- Batista, I.C.A., Boari, A.J., Kauffmann, C.M., and Nechet, K.L., 2020. *Colletotrichum plurivorum* causes anthracnose on okra in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, 102:1331.
- Beckman, C.H., 1987. The nature of wilt diseases of plants. **American Phytopathological Society**, 182-186.
- Begum, M., and Lokesh, S., 2012. Effect of hot water and ultra violet radiation on the incidence of seedborne fungi of okra. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 45(2): 126-132.
- Benítez, T., Rincón, A.M., Limón, M.C., and Codón, A.C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. **International Microbiology**, 7: 249-260.
- Berg, G., Alavi, M., Schmidt, C.S., Zachow, C., Egamberdieva, D., Kamilova, F., Lugtenberg, B., 2013. Biocontrol and osmoprotection for plants under saline

- conditions. In: de Bruijn FJ (ed) **Molecular microbial ecology of the rhizosphere**. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ.
- Bindu, B. 2020. Pre-sowing seed Bio-priming in okra (*Abelmoschus esculentus* L.). **Journal of Krishi Vigyan**, 9(1): 282-286.
- Bolton, M.D., Thomma, B.P.H.J., and Nelson, B.D., 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. **Molecular Plant Pathology**, 7(1): 1-16.
- Booth, C., 1971. **The Genus Fusarium**. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. 237.
- Bowman, S.M., and Free, S.J. 2010. The structure and synthesis of the fungal cell wall. **Bioessays News & Reviews in Molecular Cellular & Developmental Biology**. 28(8):799–808.
- Calonje, M., Novaes-Ledieu, M., Bernardo, D., Ahrazem, O., and Mendoza, C.G. 2000. Chemical components and their locations in the *Verticillium fungicola* cell wall. **Canadian Journal of Microbiology**, 46(2):101.
- Cappuccino, J.C., and Sherman, N., 2013. In *Microbiology: A laboratory Manual*, (3rd ed.), Benjamin Cummings, New York, pp. 125-179.
- Castric, P.A., 1977. Glycine metabolism by *Pseudomonas aeruginosa*: Hydrogen cyanide biosynthesis. **Journal of Bacteriology**, 130: 826-831.
- Chai, A.L., Zhao, Q., Kang, H.J. and Li, B.J., 2019. First Report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on okra in China. **Plant Disease**, 103(5): 1018.
- Chai, A.L., Zhao, Q., Li, X.J., Shi, Y.X., Xie, X.W., Li, L., and Li, B.J., 2021. First report of *Cercospora* leaf spot caused by *Cercospora* cf. *flagellaris* on okra in China. **Plant Disease**, 105(7): 2018.
- Chaiharn, M., Chunhaleuchanon, S., Kozo, A., and Lumyong, S., 2008. Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. **KMITL Sci Tech Journal**, 8:18-23.
- Channa, A.R., Jiskani, M.M., Pathan, M.A., Wagan, K.H., 2008. Effect of plant extracts on plant height and incidence of root rot of okra caused by *Macrophomina phaseolina*. **Agricultural Engineering and Veterinary Sciences**, 24(1): 57-61.
- Chet, I., and Inbar, J., 1994. Biological control of fungal pathogens. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 48: 37-43.
- Choi, I.Y., Kim, J.H., Uhm, M.J., Cho, S.E., and Shin, H.D., 2018. First report of powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* on okra in Korea. **Plant Disease**, 102(8): 1663.
- Chung, S.H., Kong, H.S., Buyer, J.S., Lakshman, D.K., Lydon, J., Kim, S.D., and Roberts, D.P., 2008. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soil borne pathogens of cucumber and pepper. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 80: 115-123.
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clement, C., and Ait Barka, E. 2005. Endophytic Colonization of *Vitis vinifera* L. by Plant Growth-Promoting Bacterium *Burkholderia* sp. Strain PsJN. **Applied and Environmental Microbiology**, 71(4):1685–1693.
- Cook, J., 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 31: 53-80.
- Çakmakçı, R., Dönmez, D., Aydın, A., Şahin, F., 2005. Growth promotion of plants by plant growthpromoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. **Soil Biology Biochemistry**, 38:1482-1487.

- Dawar, S., Hayat, S., Anis, M., and Zaki, M.J., 2008. Effect of seed coating material in the efficacy of microbial antagonists for the control of root rot fungi on okra and sunflower. **Pakistan Journal of Botany**, 40(3): 1269-1279.
- Egamberdieva, D., and Islam, K.R., 2008. Salt tolerant rhizobacteria: plant growth promoting traits and physiological characterization within ecologically stressed environment. In: Ahmad I, Pichtel J, Hayat S (eds) **Plant-bacteria interactions: strategies and techniques to promote plant growth**. Wiley, Weinheim, pp 257-281.
- Egamberdieva, D., Berg, G., Lindstrom, K., Rasanen, L.A., 2013. Alleviation of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (goat's rue) by co-inoculation of rhizobium with root colonising *Pseudomonas*. **Plant and Soil**, 369(1): 453-465.
- Egamberdiva, D., 2008. Plant growth promoting properties of rhizobacteria isolated from wheat and pea grown in loamy. **Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu**, 2008: 9-15.
- Ehteshamul-Haque, S., Abid, M., Sultana, V., Ara, J., and Ghaffar, A., 1996. Use of organic amendments on the efficacy of biocontrol agents in the control of root rot and root knot disease complex of okra. **Nematologia Mediterranea**, 24: 13-16.
- Ehteshamul-Haque, S., Ghaffar, A., and Zaki, M.J., 1990. Biological control of root rot disease of okra, sunflower, soybean and mungbean. **Pakistan Journal of Botany**, 22(2): 121-124.
- Fan, C., Cui, H., Ding, Z., Gao, P., and Luan, F., 2019. First report of powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* on okra in China. **Plant Disease**, 103(5): 1027.
- Farr, D.F., and Rossman, A.Y., 2021. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. <https://nt.ars-grin.gov/fungalatabases/>.
- Fernando, W.G.D., Nakkeeran, S., Zhang, Y., and Savchuk, S., 2007. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. **Crop Protection**, 26: 100-107.
- Fischer, I.H., Filetti, M.S., Cruz, J.C.S.C., and Bueno, J., 2014. Efeito da temperatura e reação de genótipos de quiabeiro ao mofo branco. **Summa Phytopathologica**, 40(1): 49-53.
- Fravel, D.R., 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, 43: 37-359.
- Ghaffar, A., and Akhtar, P., 1968. Survival of *M. phaseolina* (Mauhl) Ashby, the cause of root-rot of cotton. **Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research**, 20: 112-118.
- Glickman, E., and Dessaux, Y., 1995. A critical evaluation of the specificity of Salkowski reagent for indole compounds produced by phytopathogenic bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, 61: 793-796.
- Godwin-Egein, M.I., and Okereke, V.C., 2016. Soil and seed treatment with *Bacillus thuringiensis* and avocado (*Persea americana*) Seed powder against *Fusarium* root rot of okra. **Tropical Agricultural Research & Extension**, 19(3-4): 290-296.
- Grace, S., Salman, M., Prabha, D., Chauhan, J.S., and Gupta, H., 2019. To study effect of biocontrol agents on growth of okra *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. **International Journal of Chemical Studies**, 6: 880-885.
- Gulya, T.J., Krupinsky, J., Draper, M., and Charlet, L.D., 2002. First report of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) on sunflower in north and South Dakota. **Plant Disease**, 86(8): 92.

- Guo, J.H., Qi, H.Y., Guo, Y.H., Ge, H.L., Gong, L.Y., Zhang, L.X., and Sund, P.H., 2004. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. **Biological Control**, 29: 66-72.
- Gupta, C.P., Kumar, B., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K., 2006. Chitinase mediated destructive antagonistic potential of *Pseudomonas aeruginosa* GRC1 against *Sclerotinia sclerotiorum* causing stem rot of peanut. **BioControl**, 51: 821–835.
- Gupta, C.P., Sharma, A., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K., 1999. *Pseudomonas aeruginosa* (GRC1) as a strong antagonist of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum*. **Cytobios** 99, 183-199.
- Hafiz, A. 1986. Plant Diseases. **Pakistan Agricultural Research Council**, 552.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W.F., and Kloepper, J.W., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, 43: 895-914.
- Hasegawa, S., Kodama, F., and Kondo, N., 1991. Practical methods for biological control. **ACS Symposium Series**, 449(30): 417-425.
- Hasson, I.K., Radhi, K.H., and Khudhir, K.Z., 2013. Effect of bacteria *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* and *Pseudomonas fluorescens* in biological control of okra plant from the infection by *Rhizoctonia solani* fungus. **Euphrates Journal of Agriculture Science**, 5(4): 148-164.
- Hossain, A., Munshi, A.R., Hossen, S., Rahman, K.Z., Karim, R., and Kimura, Y., 2020. Morpho-molecular characterization of causative agents of wilting, leaf spot, fruit blight and stem canker of okra (*Abelmoschus esculentus* L.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 54(17-18): 1501-1518.
- Huang, C.J., and Chen, C.Y., 2004. Gene cloning and biochemical characterization of chitinase CH from *Bacillus cereus* 28-9. **Annals of Microbiology**, 54: 289-297.
- Huang, C.J., Wang, T.K., Chung, S.C., and Chen, C.Y., 2005. Identification of an antifungal chitinase from a potential biocontrol agent, *Bacillus cereus* 28-9. **Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, 38(1): 82-88.
- Huszczaa, E., and Burczyk, B., 2006. Surfactin isoforms from *Bacillus coagulans*. **Verlag der Zeitschrift für Naturforschung**, 61: 727-733.
- Jabborova, D., Egamberdieva, D., Rasanen, L., Liao, H., 2013. Salt tolerant *Pseudomonas* strain improved growth, nodulation and nutrient uptake of soybean grown under hydroponic salt stress condition. **In: XVII International Plant Nutrition Colloquium and Boron Satellite Meeting Proceedings Book**, Istanbul, Turkey, pp 260-261.
- Jabeen, S., Hanif, A., and Dawar, S., 2021. Management of root deteriorating fungi by the application of solanaceous plants. **Pakistan Journal of Botany**, 53(4): 1465-1472.
- Jones, R.W., and Canada, S., 1994. Electrophoretic karyotype analysis and mapping of an endoglucanase gene from *Macrophomina phaseolina*. **Phytopathology**, 84: 1146.
- Ju, H.J., Choi, I.Y., Lee, K.J., and Shin, H.D., 2020. First report of *Cercospora malayensis* causing leaf spot on okra in Korea. **Plant Disease**, 104(6): 1858.
- Kaymak, H.Ç., Güvenç, İ., Yeralı, F., ve Dönmez, M.F., 2009. Effects of bio-priming with PGPR on germination of radish (*Raphanus sativus* L.) seeds under saline conditions. **Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu**, 33: 173-179.

- Khan, M.R., Fischer, S., Egan, D., and Doohan, F.M., 2006. Biological control of *Fusarium* seedling blight disease of wheat and barley. **Phytopathology**, 96(4): 386-394.
- Khanzada, A.M., Lodhi, A.M., Shah, N., and Maitlo, S.A., 2012. Effect of different inoculation methods and inoculum levels of *Macrophomina phaseolina* on Okra. **International Journal of Phytopathology**, 11(1), 1-5.
- Khare, E., and Arora, N.K., 2010. Effect of Indole-3-Acetic Acid (IAA) produced by *Pseudomonas aeruginosa* in suppression of charcoal rot disease of chickpea. **Current Microbiology**, 61: 64-68.
- Kim, P.I., Bai, H., Bai, D., Chae, H., Chung, S., Kim, Y., Park, R. and Chi, Y.T., 2004. Purification and characterization of a lipopeptide produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26. **Journal of Applied Microbiology**, 97: 942-949.
- Kohn, L.M., 1979. Delimitation of the economically important plant pathogenic *Sclerotinia* species. **Phytopathology**, 69: 881-886.
- Kone, D., Mohammed, D., Soro, S., Bolou Bi, B.A., Kouadio, Y.J., and Ji P., 2010. First report of southern blight of okra (*Abelmoschus esculentus*) caused by *Sclerotium rolfsii* in Côte d'Ivoire. **Plant Disease**, 94(11): 1379.
- Kumar, K.V., Srivastava, S., Singh, N., and Behl, H.M., 2009. Role of metal resistant plant growth promoting bacteria in ameliorating fly ash to the growth of *Brassica juncea*. **Journal of Hazardous Materials**, 170: 51-57.
- Kumar, P., Dubey, R.C., and Maheshwari, D. K., 2012. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. **Microbiological Research**, 167: 493-499.
- Kumar, P., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K., 2012. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. **Microbiological Research**, 167: 493-499.
- Landa, B.B., Hervas, A., Bettiol, W., and Jimenez-Diaz, R.M., 1997. Antagonistic activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f.sp.*ciceris*. **Phytoparasitica**, 25: 305-318.
- Lelliot, R.A., and Stead, D.E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. (T.F. Preece, Editör). In: Methods in Plant Pathology, **Black well Scientific Publications**, 2: 176-177.
- Leslie, J.F., and Summerell, B.A., 2006. *Fusarium* laboratory workshops - A recent history. **Mycotoxin Research**, 22(2): 73-74.
- Li, B.J., Guo, M.Y., and Chai, A.L., 2015. First Report of *Fusarium solani* causing *Fusarium* root rot on okra (*Abelmoschus esculentus*) in China. **Plant Disease**, 100(2): 526.
- Liu, P.Q., Wei, M.Y., Zhang, J.Z., Wang, R.B., Li, B.J., Chen, Q.H., and Weng, Q.Y., 2019. Leaf blight on okra caused by *Choanephora cucurbitarum* in China. **Canadian Journal Plant Pathology**, 41(3): 366-371.
- Lugtenberg, B., and Kamilova, F., 2009. Plant-growth promoting rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**, 63: 541-556.
- Madhi, Q.H., Ghassan, M.D., and Jumaah, A.M., 2020. Investigation of the causes of root rot and damping-off diseases of okra and testing the effectiveness of *Pseudomonas fluorescens* in disease control. **Plant Archives**, 20: 1361-1366.
- Marcinkowska, J.Z., 2002. Methods of finding and identification of pathogens in seeds. **Plant Breeding and Seed Science**, 46: 31-48.

- Marquez-Santacruz, H.A., Hernandez-Leon, R., Orozco-Mosqueda, M.C., Velazquez-Sepulveda, I., and Santoyo, G., 2010. Diversity of bacterial endophytes in roots of Mexican husk tomato plants (*Physalis ixocarpa*) and their detection in the rhizosphere. **Genetics and Molecular Research**, 9(4): 2372-2380.
- Mathny, O.N., 2013. First report of damping-off of okra caused by *Phytophthora nicotianae* in Iraq. **The American Phytopathological Society**, 97(4): 558.
- McClenny, N., 2005. Laboratory detection and identification of *Aspergillus* species by microscopic observation and culture: The traditional approach. **Journal of Medical Mycology**, 43: 125-128.
- Momol, T.M., and Pernezny, K.L., 2006. Specific common diseases. **Florida Plant Disease Management Guide**. Everglades Research and Education Center. University of Florida. Florida Cooperative Extension Service, 3: 53.
- Mordue, J.E.M., and Holliday, P., 1976. *Sclerotinia sclerotiorum*. Descriptions of Fungi and Bacteria. **IMI Descriptions of Fungi and Bacteria**. 52: 513.
- Moyne, A.L., Cleveland, T.E., and Tuzun, S. 2004. Molecular characterization and analysis of the operon encoding the antifungal lipopeptide bacillomycin D. **FEMS Microbiol Lett** 234(1):43-49.
- Nagarajkumar, M., Bhaskaran, R. and Velazhahan, R., 2004. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. **Microbiological Research**, 159: 73-81.
- Nelson, P.E., Tousson, T.A. and Marasas, W.F.O., 1983. *Fusarium* species, an illustrated manual for identification, **The Pennsylvania State University Press**.
- Nourozian, J., Etebarian, H.R., and Khodakaramian, G., 2006. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, 28(1): 29-38.
- Nwangburuka, C.C., Oyekale, K., Ezekiel, C.N., Anokwuru, P.C., and Badaru, O., 2012. Effects of *Moringa oleifera* leaf extract and sodium hypochlorite seed pretreatment on seed germination, seedling growth rate and fungal abundance in two accessions of *Abelmoschus esculentus* (L) Moench. **Scholars Research Library**, 4(2): 875-881.
- Okereke, V.C., Rehua, N., and Godwin-Egein, M.I., 2016. Protection of potted okra against *Fusarium* wilt using different concentrations of *Bacillus thuringiensis*. **Nature and Science**, 14(4): 27-32.
- Okungbowa, F.I., and Shittu, H.O., 2012. *Fusarium* Wilts: An Overview. **Environmental Research Journal**, 6(2): 83-102.
- Okwu, D.E., Awurum, A.N., and Okoronkwo, J.I., 2007. Phytochemical composition and *in vitro* antifungal activity screening of extracts from citrus plants against *Fusarium oxysporum* of okra plant (*Hibiscus esculentus*). **Pest Technology**, 1(2): 145-148.
- Oluma, H.O.A., and Nwankiti, A.O., 2000. *Macrophomina phaseolina* dry root and fruit rot of okra in Nigeria. **African Plant Protection**, 6(1): 55-56.
- Pal, K.K., and Gardener, B.M.S., 2006. Biological Control of Plant Pathogens. **The Plant Health Instructor**, 1-25.
- Patten, C.L., and Glick, B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. **Applied and Environmental Microbiology**, 68: 3795-3801.

- Pavlovic, M., Konrad, R., Iwobi, A.N., Sing, A., Busch, U., and Huber, I., 2012. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. **FEMS Microbiology Letters**, 328: 46-53.
- Perneel, M., Heyrman, J., Adiobo, A., De Maeyer, K., Raaijmakers, J.M., De Vos, P. and Höfte, M., 2007. Characterization of CMR5c and CMR12a, novel fluorescent *Pseudomonas* strains from the cocoyam rhizosphere with biocontrol activity. **Journal of Applied Microbiology**, 103: 1007-1020.
- Perveen, S., Ehteshamul-Haque, S., and Ghaffar, A., 1994. Biological control of soilborne root infecting fungi in tomato and okra. **Pakistan Journal of Botany**, 26(1): 181-186.
- Pitt, J.I., and Samson, R.A., 1990. Approaches to *Penicillium* and *Aspergillus* systematics. **Studies in Mycology**, 32: 77-90.
- Plaats-Niterink, A.J.V., 1981. Monograph of the genus *Pythium*. **Studies in Mycology**, 21: 1-242.
- Poonguzhali, P., Rajan, S., Parthasarathi, R., Srinivasan, R., and Kannappan, A., 2021. Optimization of biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* using rice water and its competence in controlling *Fusarium* wilt of *Abelmoschus esculentus*. **South African Journal of Botany**, 1-14.
- Prova, A., Akanda, A.M., Islam, S., and Hossain, M.M., 2017. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* causing pod rot disease on okra in Bangladesh. **Canadian Journal Plant Pathology**, 39(1): 72-76.
- Qing, Q., Liu, S., Liu, N., Liu, Y., Jia, H., Cao, Z., and Dong, J., 2022. First report of *Pythium aphanidermatum* causing stalk rot on *Abelmoschus manihot* in China. **Plant Disease**, 106(2): 771.
- Rai, A.K., Das, H., and Basu, A.K., 2019. Response of Bio-priming in okra for vegetable production. **Journal of Applied and Natural Science**, 11(3): 687-693.
- Rajasekar, S., Elango, R., 2011. Effect of microbial consortium on plant growth and improvement of alkaloid content in *Withania somnifera* (Ashwagandha). **Current Botany**, 2: 27-30.
- Rama, A.A., and Naik, L.K., 2017. Effect of Biocontrol Agents and PGPRs on Growth and Yield of Okra under *in vitro* condition. **Mysore Journal of Agricultural Sciences**, 51(2): 347-353.
- Rani, M.U., and Reddy, G., 2011. *Bacillus cereus* and *Enterobacter cancerogenus* screened for their efficient plant growth promoting traits rhizobacteria (PGPR) and antagonistic traits among sixteen bacterial isolates from rhizospheric soils of pigeon pea. **African Journal of Microbiology Research**, 5: 2090-2094.
- Reuveni, R., Nachmias, A., and Krikun, J., 1983. The role of seed borne inoculum on the development of *Macrophomina phaseolina* on melon. **Plant Diseases**, 67: 280-281.
- Romero, F.M., Marina, M., and Pieckenstain, F.L., 2014. The communities of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) leaf endophytic bacteria, analyzed by 16S-ribosomal RNA genepyrosequencing. **FEMS Microbiology Letters**, 351: 187-194.
- Rosenblueth, M., and Martínez-Romero, E., 2006. Bacterial Endophytes and their interactions with hosts. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 19(8): 827-837.
- Rostami, S., Maleki, M., and Shahriari, D., 2013. The use of *Bacillus amyloliquefaciens* to control of *Sclerotinia* stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of cucumber. **International Journal of Farming and Allied Sciences**, 2(22): 965-970.

- Saharan, B.S., and Nehra, V., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review life sciences and medicine research. **LSMR**, 21: 1-30.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, C., and Glick, B.R., 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. **Microbiological Research**, 183: 92-99.
- Sayyed, R.Z., and Chincholkar, S.B., 2009. Siderophore producing *A. feacalis* more biocontrol potential vis-a-vis chemical fungicide. **Current Microbiology**, 58(1): 47-51.
- Sayyed, R.Z., and Patel, P.R., 2011. Biocontrol potential of siderophore producing heavy metal resistant *Alcaligenes* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* RZS3 vis-à-vis organophosphorus fungicide. **Indian Journal of Microbiology**, 51(3): 266-272.
- Sayyed, R.Z., Chincholkar, S.B., Reddy, M.S., Gangurde, N.S., Patel, P.R., 2013. Siderophore producing PGPR for crop nutrition and phytopathogen suppression. In: Maheshwari DK (ed) Bacteria in agrobiolgy: disease management. **Springer**, Berlin/Heidelberg, pp 449-471.
- Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., Kumar, K.V., Yellareddygar, S.K.R., Deshmukh, A.M., Patel, P.R., Gangurde, N.S., 2012. Potential of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. In: Maheshwari DK (ed) Bacteria in agrobiolgy: plant probiotics. **Springer**, Berlin/Heidelberg, pp 287-313.
- Schwyn, B., and Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, 160: 47-56.
- Senthilkumar, M., Swarnlakshmi, K., Govindasamy, V., Lee, Y. K., and Annapurna, K., 2009. Biocontrol potential of soybean bacterial endophytes against charcoal rot fungus *Rhizoctonia bataticola*. **Current Microbiology**, 58: 288-293.
- Shahid, I., Rizwan, M., Baig, D.N., Saleem, R.S., Malik, K. A., and Mehnaz, S., 2017. Secondary Metabolites Production and Plant Growth Promotion by *Pseudomonas chlororaphis* and *P. aurantiaca* Strains Isolated from Cactus, Cotton, and Para Grass. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, 27: 480-491.
- Shi, Y.W., Yang, H., Zhang, T., Sun, J. and Lou, K. 2014. Illumina-based analysis of endophytic bacterial diversity and space-time dynamics in sugar beet on the north slope of Tianshan mountain. **Applied Genetics and Molecular Biotechnology**, 98: 6375-6385.
- Shi, Y.X., Zhang, X.H., Zhao, Q., and Li, B.J., 2019. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose on okra in China. **Plant Disease**, 103(5): 1023.
- Siddiqui, I.A., and Shaukat, S.S., 2003. Endophytic Bacteria: Prospects and opportunities for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Nematologia Mediterranea**, 31: 111-120.
- Singh, J., Singh, P., Vaishnav, A., Ray, S., Rajput, R.S., Singh, S.M., and Singh, H.B., 2021. Belowground fungal volatiles perception in okra (*Abelmoschus esculentus*) facilitates plant growth under biotic stress. **Microbiological Research**, 246: 1-14.
- Singh, N., Pandey, P., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K., 2008. Biological control of root rot fungus *Macrophomina phaseolina* and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 24: 1669-1679.
- Singh, P.P., Shin, Y.C., Park, C.S., and Chung, Y.R., 1999. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. **Phytopathology**, 89: 92-99.

- Singh, S.J., 1996. Assessment of losses in okra due to enation leaf curl virus. **Indian Journal of Virology**, 12: 51–53.
- Sitara, U., Abid, M., Hussain, F., Riaz, S., and Anwar, F., 2020. Pattern of post-harvest fungal infestation on vegetables stored in various vegetable markets of Karachi. **Pakistan Journal of Botany**, 52(5): 1-10.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A., 1994. Identification of *Rhizoctonia* species. **APS Press**, 135.
- Somers, E., Vanderleyden, J., and Srinivasan, M., 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. **Critical Reviews in Microbiology**, 30: 205-240.
- Soylu, S., Kara, M., Soylu, E.M., Uysal, A., and Kurt, Ş. 2023. First report of powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* on okra in Türkiye. **Journal of Plant Pathology**, 105: 1231.
- Staub, T., 1991. Fungicide Resistance: Practical experience with antiresistance strategies and the role of integrated use. **Annual Review of Phytopathology**, 29: 421-422.
- Stein, T., 2006. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Molecular Microbiology**, 56(4): 845-857.
- Sturz, A.V., Christie, B.R., and Nowak, J., 2000. Bacterial endophytes, potential role in developing sustainable systems of crop production. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 19: 1-30.
- Sultana, N., Khanzada, K.A., Akhtar, J., and Azeem, M.T., 2019. Eco-friendly approaches for the control of root rot, wilt and leaf spot diseases of okra. **International Journal of Biology and Biotechnology**, 16(2): 421-424.
- Sultana, V., Ara, J., Parveen, G., Ehteshamul-haque, S., and Ahmad, V.U., 2006. Role of crustacean chitin, fungicides and fungal antagonist on the efficacy of *Pseudomonas aeruginosa* in protecting chilli from root rot. **Pakistan Journal of Botany**, 38(4): 1323-1331.
- Sultana, V., Ehteshamul-Haque, S., Ara, J., and Athar, M., 2005. Comparative efficacy of brown, green and red seaweeds in the control of root infecting fungi and okra. **International Journal of Environmental Science and Technology**, 2(2): 129-132.
- Sun, G., Yao, T., Feng, C., Chen, L., Li, J., and Wang, L., 2017. Identification and biocontrol potential of antagonistic bacteria strains against *Sclerotinia sclerotiorum* and their growth-promoting effects on *Brassica napus*. **Biological Control**, 104: 35-43.
- Sun, Y., Cheng, Z., and Glick, B.R., 2009. The presence of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase deletion mutation alters the physiology of the endophytic plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN. **FEMS Microbiology Letters**, 296: 131-136.
- Tariq, M., Dawar, S., Medhi, F.S., and Zaki, M.J., 2007. Antagonistic activity of bacterial inoculum multiplied on *Rhizophora mucronata* Lamk., in the control of root infecting fungi on mash bean and okra. **Pakistan Journal of Botany**, 39(6): 2159-2165.
- Tok, F.M., Dervis, S., Yetisir, H., 2020. Vegetative compatibility and virulence diversity of *Verticillium dahliae* from okra (*Abelmoschus esculentus*) plantations in Turkey and evaluation of okra landraces for resistance to *V. dahliae*. **Phyton-International Journal of Experimental Botany**, 89(2): 303–314.

- Tozlu, E., Mohammadi, P., Şenol Kotan, M., Nadaroglu, H., and Kotan, R., 2016. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, the causal agent of white mould disease in red cabbage, by some bacteria. **Plant Protection Science**, 52(3): 188-198.
- Troncoso-Rojas, R., and Tiznado-Hernández, M.E., 2014. *Alternaria alternata* (black rot, black spot). **Postharvest Decay**, 5: 147-148.
- Tsuge, K., Ano, T., Hirai, M., Nakamura, Y., and Shoda, M., 1999. The genes degq, pps, and lpa-8 (sfp) are responsible for conversion of *Bacillus subtilis* 168 to plipastatin production. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 43(9): 2183–2192.
- Ullah, A., Mushtaq, H., Fahad, S., Shah, A., and Chaudhary, H.J., 2017. Plant growth promoting potential of bacterial endophytes in novel association with *Olea ferruginea* and withania coagulans. **Microbiology**, 86: 119-127.
- Urooj, F., Farhat, H., Tariq, A., Moin, S., Sohail, N., Sultana, V., Hameedi, S.F., Shams, Z.I., and Ehteshamul-Haque, S., 2020a. Role of endophytic *Penicillium* species and *Pseudomonas monteilii* in inducing the systemic resistance in okra against root rotting fungi and their effect on some physiochemical properties of okra fruit. **Journal of Applied Microbiology**, 130: 604-616.
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M.E., Lopez-Cortes, A., and Bashan, Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biology and Fertility of Soils**, 30: 460-468.
- Vyas, S.C., 1981. Diseases in sesamum in India and their control. **Pesticides**, 15: 10-15.
- Xiao, L., Xie, C.C., Cai, J., Lin, Z.J., and Cheun, Y.H., 2009. Identification and characterization of a chitinase producing *Bacillus* showing significant antifungal activity. **Current Microbiology**, 58: 528.
- Yang, X., Zhang, Lei., Xiang, Y., Du, L., Huang, X., and Liu, Y., 2020. Comparative transcriptome analysis of *Sclerotinia sclerotiorum* revealed its response mechanisms to the biological control agent, *Bacillus amyloliquefaciens*. **Scientific Reports**, 11: 5071.
- Yang, X.B., 2015. Rhizoctonia damping-off and root rot. In: Hartman GL, Sinclair JB, Rupe JC, eds. Compendium of Soybean Diseases. **APS Press**, 80: 2.
- Yang, X.B., Navi, S.S., and Shriver, J., 2003. Biology and management of soybean charcoal rot. **Integrated Crop Management Conference**, 55-60.
- Yasmin, S., Hafeez, F.Y., and Rasul, G., 2014. Evaluation of *Pseudomonas aeruginosa* Z5 for biocontrol of cotton seedling disease caused by *Fusarium oxysporum*. **Biocontrol Science and Technology**, 24(11): 1227-1242.
- Zahir, Z.A., Munir, A., Asghar, H.N., Shaharoona, B., and Arshad, M., 2008. Effectiveness of Rhizobacteria containing acc deaminase for growth promotion of peas (*Pisum sativum*) under drought conditions. **Journal Microbiological Biotechnology**, 18(5): 958-963.
- Zhai, W.B., Zhang, M.Z., Gao, H., Meng, J., Shi, J.Y., Zhang, W.W., and Qi, F.J., 2019. Occurrence of *Verticillium* wilt caused by *Verticillium dahliae* on okra (*Abelmoschus esculentus*) in North China. **Plant Disease**, 103(6): 1413.
- Zhao, Z., Wang, Q., Wang, K., Brian, K., Liu, C., and Gu, Y., 2010. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 *in vitro* and identification of its antifungal components. **Bioresource Technology**, 101: 292–297.

EKLER

EK-1. Bakteri ve Fungal etmenlerin geliştirilmesinde kullanılan besi yerleri ve içerikleri

Nutrient (NA) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:105450)

Pepton	5 g/L
Meat Extract	3 g/L
Agar-Agar	12 g/L

King's MediumB (KB) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110989)

Peptone from caseinpepton	10 g/L
Peptone from meat	10 g/L
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	1.5 g/L
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.5 g/L
Glycerol	10 ml/L
Agar-Agar	12 g/L

Luria Bertani (LB) Broth (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110285)

Pepton from casein	10 g/L
Yeast Extract	5 g/L
NaCl	10 g/L

Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:105458)

Pancreatic Digest of Casein	15 g/L
Papaic Digest of Soya Bean	5 g/L
NaCl	5 g/L
Agar-Agar	15 g/L

Patates Dekstroza Agar (PDA) (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110130)

Potato infusion	4 g/L (infusion 200 gr potato)
D(+)-glucose	20 g/l
Agar-Agar	15 g/l