



**T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**BEYAZ ÇÜRÜKLÜK ETMENİ *Sclerotinia sclerotiorum* 'a KARŞI
FARKLI KOMPOST VE GÜBRELERDEN ELDE EDİLEN
MİKROORGANİZMALARIN *in vitro* ANTİFUNGAL ETKİLERİ**

NİLAY AYHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Antakya/HATAY

NİSAN-2013

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYAZ ÇÜRÜKLÜK ETMENİ *Sclerotinia sclerotiorum* 'a KARŞI
FARKLI KOMPOST VE GÜBRELERDEN ELDE EDİLEN
MİKROORGANİZMALARIN *in vitro* ANTİFUNGAL ETKİLERİ**

NİLAY AYHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Doç.Dr. E. Mine SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez 20/03/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç.Dr.E.Mine SOYLU

Başkan

Doç.Dr.Elif ÇANDIR

Üye

Yrd.Doç.Dr.İ.Adem BOZKURT

Üye

Bu tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır

Kod No:

Prof.Dr.İsmail Hakkı KARAHAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca Desteklenmiştir.
Proje No: 1105Y0104

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

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
1.GİRİŞ.....	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1.Fungus Materyali.....	18
3.2.Kompost Materyali.....	18
3.3.Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri ve İçerikleri.....	19
3.4. Kompost ve Gübrelerin Mikrobiyal Analizleri	19
3.5. Fungal ve Bakteriyel İzolatların Teşhisi	20
3.5.1. Bakteriyel İzolatların Yağ Asitleri Profillerine Göre Tanılanması...	20
3.6.Şeçilen Aday Antagonist Fungus ve Bakteri İzolatları ile <i>in vitro</i> Çalışmalar.....	22
3.6.1.İzole Edilen Fungus ve Bakterilerin <i>Sclerotinia sclerotiorum'</i> a Karşı Antagonist Etkilerinin Değerlendirilmesi.....	22
3.6.2. Ön İnkübasyon Süresinin Bakterilerin Antagonist Potansiyelleri Üzerine Olan Etkinliği.....	23
3.7.Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HR=Hypersensitive Reaction).....	24
3.8.Deneme Deseni ve İstatistik Analizler.....	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	25
4.1. Farklı Kompost ve Gübrelerden İzole Edilen Aday Antagonist Fungus ve Bakteri İzolatlarının Aylara Göre Populasyon Seyri.....	25
4.2. Fungus ve Bakteri İzolatları ile <i>in vitro</i> Çalışmalar.....	31

4.2.1. İkili Kültür Testlerinde Antagonist Fungus ve Bakterileri izolatlarının <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ' un Miselyal Gelişimine Etkileri.....	31
4.2.2. Ön İnkübasyon Süresinin Bakterilerin Antagonist Potansiyelleri Üzerine Olan Etkinliği.....	37
4.3.Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HR= Hypersensitive Reaction)	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	43
TEŞEKKÜR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	54
EK-1.....	55

ÖZET

**BEYAZ ÇÜRÜKLÜK ETMENİ *Sclerotinia sclerotiorum* 'a KARŞI
FARKLI KOMPOST VE GÜBRELERDEN ELDE EDİLEN
MİKROORGANİZMALARIN *in vitro* ANTİFUNGAL ETKİLERİ**

Bu çalışmada, Hatay ili ve çevresinde ticari işletmelerden sağlanan silaj ve küspeler ile MKÜ Selam Çiftliğinden temin edilen materyallerden oluşturulan gübre ve kompostlardan elde edilen mikroorganizmaların toprak kökenli fungal beyaz çürüklük hastalık etmeni *Sclerotinia sclerotiorum*' un gelişimini engellemeleri üzerine olan antagonistik etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır

Yapılan izolasyonlar sonucunda, elde edilen fungal izolatlar arasında 5 fungal izolat (toplam izolatın % 64'ü) ile bakteriyel izolatlar arasında 37 bakteriyel izolat (toplam izolatın % 60'ı) ikili kültür testlemelerinde fungal hastalık etmeni *Sclerotinia sclerotiorum*' un miselyal gelişimini değişik oranlarda engelleyerek antagonistik aktivite göstermişlerdir. Antagonist potansiyele sahip fungal izolatlardan 4 tanesi *Penicillium* spp., 1 tanesi ise *Aspergillus niger* olarak tanılanırken, bakteriyel izolatların çoğunluğunu *Bacillus* spp. (% 90) oluşturmuştur.

Farklı kompostlardan elde edilen fungal izolatlardan *Penicillium* spp. (G3F:1:6:30) *Penicillium* spp. (G1F:2:5:32), *Penicillium* spp. (G2F:2:4:5), *Aspergillus niger* (G2F:3:6:8), *Penicillium* spp. (G3F:3:4:20) fungal etmenin miselyal gelişimini *in vitro* ikili kültür testlemelerinde %22-45 oranında engellerken, bakteriyel izolatlardan *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus cereus* (G1B:3:6), *Bacillus subtilis* (G5B:3:5), G5B:0:5 (*Bacillus amyloliquefaciens*) ve *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4)'in, test edilen fungal etmene karşı % 75-88 gibi değişen oranlarda engelleyerek antagonist potansiyele sahip oldukları belirlenmiştir. Antagonist bakterilerin *in vitro* antagonizm etkinliği, fungus inokulasyonu öncesi ön inkübasyon süresine bağlı olarak artış göstermiştir.

2013, 54 sayfa

Anahtar Kelimeler: Biyolojik mücadele, gübre, kompost, *Sclerotinia sclerotiorum*

ABSTRACT

***In vitro* ANTIFUNGAL EFFECTS OF MICROORGANISMS OBTAINED FROM VARIOUS COMPOST AND MANURES AGAINST *Sclerotinia sclerotiorum* THE WHITE ROT AGENT**

In this study, antagonistic efficacies of microorganisms, obtained from various manure and compost which were supplied by local commercial silage, pulp manufacturers and MKU Selam Farm, were investigated against fungal soilborne white rot disease agent *Sclerotinia sclerotiorum* *in vitro* conditions.

Among the isolated microorganisms, 5 fungal (64% of total isolates) and 37 bacterial (60% of total isolates) isolates showed antagonistic activities against fungal disease agent *S. sclerotiorum* by inhibiting mycelial growth in varying rates. Following morphological identification, 4 fungal isolates having the antagonistic potential were identified as *Penicillium* spp. and one isolate is identified as *Aspergillus niger*. Majorities of antagonist bacterial isolates (90%) were identified as *Bacillus* spp.

Five selected fungal antagonistic isolates, namely *Penicillium* spp. (G3F:1:6:30) *Penicillium* spp. (G1F:2:5:32), *Penicillium* spp. (G2F:2:4:5), *Aspergillus niger* (G2F:3:6:8), *Penicillium* spp. (G3F:3:4:20) inhibited mycelial growth of fungal diseases agents by 22-45 %. Among the 37 bacterial isolates, 5 bacterial isolates, namely *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus cereus* (G1B:3:6), *Bacillus subtilis* (G5B:3:5), G5B:0:5 (*Bacillus amyloliquefaciens*) and *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4) which were isolated from different composts, inhibited mycelial growth of fungal diseases agents by 75-88 %. Results clearly revealed that these fungal and bacterial isolates have antagonistic potential against fungal disease agent. Antagonistic potential of the fungal and bacterial isolates increased by the preincubation period prior to fungal inoculation in dual culture tests

2013, 54 pages

Key words: Biological control, manure, compost, *Sclerotinia sclerotiorum*

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CFU	Colony Forming Unit (koloni oluşturan birim)
NA	Nutrient Agar katı besi ortamı
PDA	Patates Dekstroz Agar katı besi ortamı
CDA	Czapek Dox Agar
TSA	Tryptone Soya Agar
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler)
KtM:x:y:z	Kt, kompost no; M, mikroorganizma (F: fungus, B: bakteri); x, kompostlama süreci; y, seyreltme no; z, petri no
rpm	Rotate per minute (dakikada dönüş sayısı)
µl	mikrolitre
g	gram
mg	miligram
kg/ha	kilogram/hektar
ml	mililitre
cm	santimetre
h	saat

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Biyolojik mücadele potansiyeli açısından <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ' a karşı antagonist mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılan kompost ve gübrelerin içerikleri.....	18
Çizelge 4.1	Farklı kompost ve gübrelerden izole edilen bakteri sayılarının aylara göre populasyon seyri (Log Değerleri).....	25
Çizelge 4.2	Farklı kompost ve gübrelerden izole edilen fungus sayılarının aylara göre populasyon seyri (Log Değerleri).....	26
Çizelge 4.3	Kompost ve Gübrelerden izole edilip yağ asidi metil ester profillerine göre tanısı yapılan antagonist bakteri izolatları.....	28
Çizelge 4.4	Kompost ve Gübrelerden izole edilip tanısı yapılan antagonist fungal izolatları.....	29
Çizelge 4.5	Seçilmiş bakteri izolatların <i>in vitro</i> koşullarda <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ' un gelişimini engellemesi üzerine (%) etkisi.....	33
Çizelge 4.6	Seçilmiş bazı fungal izolatlar <i>in vitro</i> koşullarda <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ' un gelişimini engellemesi üzerine (%) etkisi.....	35
Çizelge 4.7	Seçilmiş bazı antagonist bakteri izolatların <i>in vitro</i> koşullarda fungal hastalık etmeninin gelişimini engellemesi üzerine ön inkübasyon sürelerinin etkisi.....	37
Çizelge 4.8	Tütünde aşırı duyarlılık testi (HR= Hypersensitive Reaction) ne tabii tutulan bakteri izolatları.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Farklı sebze bitkilerinde <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ' un oluşturduğu beyaz çürüklük hastalığı belirtileri ve patojenin misel ve sklerotları..	2
Şekil 3.1	Antagonist mikroorganizmaların izole edildiği kompost materyali ve gübrelerin doğal görünümü.....	19
Şekil 3.2	Bakteri izolatların Yağ asit metil ester profillerine göre teşhis etmekte kullanılan MIS (Microbial Identification System)' in genel görünümü.....	22
Şekil 4.2	Soya küspesinden elde edilen <i>Bacillus subtilis</i> (G5B:1:3) izolatının <i>in vitro</i> koşullarda fungal hastalık etmeninin gelişimini engellemesinin ikili kültür testlemeleri ile belirlenmesi.....	32
Şekil 4.3	Büyükbaş hayvan gübresinden elde edilen <i>Penicillium</i> spp. (G2F:2:4:5) izolatının <i>in vitro</i> koşullarda fungal hastalık etmeninin gelişimini engellemesinin ikili kültür testlemeleri ile belirlenmesi.....	36
Şekil 4.4	Farklı kompostlardan elde edilen aday antagonist izolatları ve patojenik bakteri izolatlarının tütün yapraklarındaki inokulasyon noktalarında oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonları.....	40

1. GİRİŞ

Türkiye’ de yaklaşık 25 milyon ha tarım alanı bulunmakta ve bunun % 30’ luk kısmında (802 bin ha), örtü altı ve açık alanda sebze üretimi yapılmaktadır. Bu alanın ise % 20’ si, Akdeniz Bölgesi’nde yer almaktadır. Ülkemizde toplam sebze üretimi yaklaşık 26 milyon ton olup, bunun yaklaşık %5’ i örtü altında gerçekleşmektedir. Örtü altı sebze üretiminin % 80’ lik bölümü ise, Akdeniz Bölgesi’nden sağlanmaktadır. Ürün dağılımına bakıldığında Türkiye’ deki örtü altı sebze üretiminin % 52’ si domates; % 18’ i hıyar; % 7’ si biber; % 4’ ü patlıcan; % 1’ i fasulye ve kalan % 18’ i diğer sebzelerden oluşmakta, örtü altı toplam domates üretiminin % 80’ i; hıyarın % 67’ si; biberin % 96’ sı; patlıcanın % 92’ si ve fasulyenin % 71’ i Akdeniz Bölgesi’nden karşılanmaktadır (TUİK, 2010).

Dünyada ve ülkemizde sebze ekim alanlarını kısıtlayan, verim ve kalitesini etkileyen faktörler arasında sıcaklık, yağış, toprak yapısı gibi abiyotik faktörler ile fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmenleri gibi biyotik faktörler önemli bir yer tutmaktadır. Biyotik faktörlerin üretimi sınırlayan en önemlileri arasında toprak kökenli patojen fungusların oluşturduğu hastalıklar bulunmaktadır. Toprak kökenli hastalık etmeni olan *Sclerotinia sclerotiorum* solgunluk, kök ve kök boğazı çürüklüğü gibi hastalıklara neden olan, bitkinin fide döneminde olduğu kadar ileri dönemlerinde de ortaya çıkan, erken enfeksiyonlarda bitki ölümlerine neden olan önemli fungal hastalık etmenidir. Geniş bir konukçu dizisine sahip olduğu için bu fungusun tüm bitkilere ait tek bir belirti tipi bulunmamaktadır. Yapraklar genellikle suda haşlanmış gibi lezyonlar gösterir, bunlar hızla gelişerek yaprak sapından aşağı gövdeye doğru ilerler. Bu lezyonlar, nekrotik dokulara dönüşür ve daha sonra beyaz kabarık miselyum kitlesi oluştururlar, serin ve nemli havalarda oluşan miselyumlar üzerinde 7-10 gün sonra sklerotlar meydana gelir. Fungus ana gövdeye doğru gelişmeye başladığında tipik olarak solgunluk ortaya çıkar. Lezyon yaşlandıkça enfekteli dokuda beyazlaşma ortaya çıkar ve çoğu zaman sadece iletim dokuları kalacak şekilde bitki dokusu parçalanarak lifli bir görünüm kazanır. Sklerotlar, tipik olarak enfekteli bölgenin iç kısmında, çoğunlukla gövde boşluğu içinde oluşur ancak, yüksek nemli koşullar altında bitki dokusunun yüzeyinde de meydana gelebilir. Bunlar, bitkinin çiçeklenme döneminde ve generatif aksamında yaygın olarak ortaya çıkar (Şekil 1.1)



Şekil 1.1. Farklı sebze bitkilerinde *Sclerotinia sclerotiorum*’un oluşturduğu beyaz çürüklük hastalığı belirtileri ve patojenin misel ve sklerotları

Hastalık, konukçu bitkide başladığında enfeksiyon, temas yolu ile diğer sağlıklı bitkilere yayılabilir (Bolton ve ark., 2006). Bitkiden bitkiye yayılma, öncelikle sulu tarzda aşırı miselyal gelişme sonucu gerçekleşir. Böylece tarlanın büyük bir kısmı hastalıklı hale gelebilir ve bitkiler, tarlanın aşağı yukarı dairesel alanlarında ölümlere maruz kalır (Kurt, 2012). *S. sclerotiorum*’un neden olduğu hastalıkları geleneksel yöntemlerle kontrol etmek oldukça güçtür. Hastalık çıkışının sporadik yapısı nedeniyle, bu patojenin zarar verdiği önemli konukçu bitkilerde hastalığa karşı yüksek düzeyde

dayanıklılık bulunmamaktadır. Patojen fasulye, hıyar, patlıcan, domates, lahana, marul, havuç ve ayçiçeği gibi bitkilerin içinde bulunduğu 400'den fazla bitki türünde beyaz çürüklük, gövde çürüklüğü ve meyve çürüklüğü olarak adlandırılan hastalıklara neden olmaktadır (Kurt, 2012). Ülkemizde ve Akdeniz Bölgesinde bu patojenin neden olduğu beyaz çürüklük hastalığının bir çok farklı kültür bitkisinde oldukça yaygın olduğu ve önemli verim kayıplarına yol açtığı bildirilmiştir (Yücel, 1994; Kurt ve Erkilic, 1997; Kıran ve Ertunç, 1998; Arıcı ve Basım, 2001; Irshad ve Onoğur, 2001; Soylu ve Kurt, 2001; Yanar ve ark., 2004; Doğu ve ark., 2007; Tok ve Kurt, 2007).

S. sclerotiorum' un neden olduğu hastalıkların epidemiyolojisinde sklerotlar, 5 yıldan daha uzun süreleri canlı kalabilme yetenekleri ve kitlesel çoğalma potansiyeli gibi özellikleri nedeni ile önemli bir yere sahiptir (Ayers ve Adams, 1991). Sklerotlar, yılın belirli zamanlarında, fungusun genetik özelliğine ve değişik çevresel koşullara bağlı olarak miselyum ya da apotesyum oluşturmak üzere çimlenirler ve sağlıklı dokuları doğrudan hastalandırabilirler (Le Tourneau, 1979; Abawi ve Grogan, 1979; Lumsden, 1979). Bu çimlenme tiplerinde ortaya çıkan hifler, şeffaf, bölmeli, dallanmış ve çok çekirdekli olup *in vitro* koşullarda kullanılan yapay kültür ortamları ve bitki üzerinde beyaz-sarı renkte miselyum oluştururlar. Bununla birlikte, hifler üzerinde oluşan ancak çimlenme yeteneği olmayan bu mikrokonidilerin, fungusun biyolojisindeki rolleri ise henüz bilinmemektedir (Bolton ve ark., 2006). Bunlar, stoma yolu ile veya bu koşulların olmadığı durumlarda mekanik güç ve enzimleri kullanarak konukçu bitkinin kutikulasını penetre edebilirler (Lumsden ve Dow, 1973; Lumsden, 1979). Patojenin hem miselyal hem de sklerotiyal çimlenme özelliği nedeniyle farklı mücadele şeklinin uygulanması gereklidir. Örneğin, bitkinin toprak üstü aksamının askospor enfeksiyonundan korunması, hem yaprak uygulamaları hem de askospor inokulumunun azaltılmasını gerektirir. Oysaki toprak altı bitki dokularının miselyal enfeksiyondan korunması toprak uygulamalarını zorunlu kılar (Bardın ve Huang, 2001). Ancak, bu fungusun fungusitlere karşı her zaman dayanıklılık geliştirme riski bulunmaktadır (Demir ve Delen, 1991; Gossen ve ark., 2001; Hsiang ve ark., 2007).

Bu hastalık etmeniyle mücadelede kültürel ve mekanik önlemlerin de etkili sonuçlar vermediği düşünüldüğünden, biyolojik mücadele yöntemlerine olan ilgi artmıştır. Etmenin yeni ırklarının ortaya çıkması sonucu çeşitlerin dayanıklılığı kısa sürede kırılmakta, toprak kökenli patojenlerin zamanla pestisitlere karşı direnç kazanmaya

başlaması, ilaçların ürün üzerinde kalıntı bırakması, insan ve çevre üzerine olan olumsuz etkileri bu tip hastalık etmenleriyle alternatif mücadele yollarının araştırılması gerekliliğini ortaya koymuştur (Staub, 1991). Organik tarımın da giderek önem kazanması, bu yöntemlere olan ilgiyi arttırmıştır. Hastalıklarla alternatif mücadele yollarından biri olan biyolojik mücadele, günümüzde oldukça fazla rağbet görmekte olup, birçok patojene karşı (çoğunlukla fungal kökenli) biyolojik preparatlar geliştirilerek başarılı bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Hastalığın bastırılmış olduğu topraklardan izole edilen antagonist mikroorganizmaların, laboratuvar koşullarında geliştirilen mikroorganizmalara oranla hem ortama daha hızlı adaptasyonu hem de minimum düzeyde yetiştirme şartlarına ihtiyaç duyması nedeniyle biyolojik mücadeledeki başarı şanslarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Giacomodonata ve ark., 2001).

Beyaz çürüklük etmeni *S. Sclerotiorum* ile biyolojik mücadelede, otuzdan fazla fungus ve bakteri türünün antagonistik etki gösterdiği bilinmektedir (Huang ve ark., 1993; Yuen ve ark. 1991; Mcquillen ve ark., 1995). Bu konu ile ilgili yapılan birçok çalışmada tarla koşullarında sklerotlara saldırıp içine girerek onların parçalanmasına yol açan *Coniothyrium minitans* ve *Sporidesmium sclerotivorum* gibi bazı mikoparazitlerin etkili olduğu bildirilmiştir (Ayers ve Adams, 1981). Bakterilerden özellikle *Bacillus* türlerinin toprak kökenli patojenlere karşı oldukça etkili olduğu yapılan birçok çalışmalarda ortaya konulmuştur (Fravel, 1988; Weller, 1988). Pek çok *Bacillus* spp. antimikrobiyal bileşikler üretmelerinin yanında, olumsuz çevre koşullarına dayanıklı spor oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Bu sporlar kolaylıkla çeşitli teknolojik araçlarla biyolojik preparatlara dönüştürülerek bitki koruma alanında birçok hastalığın mücadelesinde kullanılabilmektedir (Emmert ve Handelsmann, 1999). Antagonistlerin bitkide birtakım hormonların sentezlenmesini harekete geçirerek bitki gelişimini teşvik ettiği, sonuçta hem bitkinin sağlıklı olarak gelişip hastalıklara karşı direnç geliştirmesine hem de ürün artışına olanak sağladığı bildirilmiştir (Glick, 1995).

Toprak kökenli patojenlerin mücadelesinde biyolojik preparatların kullanımının yanı sıra hayvan gübresi, yeşil gübre, kompost ve torf gibi organik materyallerin kullanımı da tarımda hem geleneksel hem de biyolojik sistemlerde (Magid ve ark., 2001; Conklin ve ark., 2002; Cavigelli ve Thien, 2003), hastalıkların oluşumunun azaltılması açısından önerilmektedir (Litterick ve ark., 2004; Noble ve Coventry, 2005). Organik materyalin aerobik ayrışmasının son ürünü olarak ortaya çıkan kompostların pek çok bitki

hastalıklarının ortaya çıkışını engellemede belirgin bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Hoitink ve Fahy, 1986 ; Hoitink ve ark., 1993 ; Hoitink ve Boehm , 1999 ; Hoitink ve ark., 2001). Aynı zamanda bu kompostların bitkinin büyüme ve gelişmesinde olumlu etkisinin olduğu ortaya konmuştur (Hoitink ve Boehm, 1999). Bitki hastalıklarıyla mücadelede kompost uygulamalarında farklı mekanizmaların rol oynadığı belirlenmiştir. Bu mekanizmalar besinler için rekabet, yararlı mikroorganizmalardan antibiyotik üretimi veya bitkilerde hastalığa karşı dayanıklılık genlerinin aktivasyonu gibi yöntemlerden oluşmaktadır (Hoitink ve Boehm, 1999). Heterojen bitki artıklarından elde edilen kompostların hastalıklara neden olan bitki patojenlerinden *Pythium* (Mandelbaum ve Hadar, 1988; Pascual ve ark., 2000) , *Phytophthora* (Hoitink ve Boehm, 1999; Widmer ve ark., 1999), *Rhizoctonia* (Tuite ve ark., 1998) ve *Fusarium* (Suarez-Estrella ve ark., 2001) türlerini engellemede önemli sonuçlar verdiği bilinmektedir. Toprak kökenli patojenlerin neden olduğu hastalıkları baskılamada çeşitli kompost türleri bilinmektedir (Erhart ve ark., 1999; Gorodecki and Hadar, 1990; Hadar and Mandelbaum, 1986; Hoitink ve ark., 1993, 1997; Kwok ve ark., 1987; Trillas-Gay ve ark., 1986). Farklı organik atıklardan elde edilen kompostlar topraksız ortam olarak da kullanılırlar. Arıtma çamuru, belediye katı atıkları, hayvan dışkısı gibi farklı organik atıklar ile çeltik kavuzları, mısır koçanları gibi endüstri atıklarından üretilmiş topraksız ortamlardır.

Organik gübreler bitki besin maddelerini bünyesinde organik bileşikler halinde bulunduran, toprağın fiziksel ve kimyasal yapısını düzelterek bitki besin maddelerinin alımını kolaylaştıran, canlılara ait (bitki ve hayvan) atıklardan veya yan ürünlerinden hazırlanmış ürünlerdir. Organik gübreler içerisinde ahır gübresi, tavuk gübresi ve kuş gübrelerinin kullanımı önemli yer tutmaktadır. Ahır gübresi, ahır hayvanlarının sıvı ve katı dışkıları ile yataklıklarının karışımından oluşan bir gübredir. Ülkemizde ahır gübresinin % 50' si tezek olarak kullanılır, % 15' i toprağa verilir, geri kalanı ise değerlendirilmez. Ahır gübresi ayrıca toprağa yararlı bakteriler ekler ve onların çoğalması için uygun toprak şartları sağlar. Ahır gübresinin ürün artırmadaki etkisi azalarak 3-4 sene devam eder. Toprak için uzun süreli bir azot kaynağıdır. Tavuk gübresi, azot içeriği yönünden diğer çiftlik gübrelerine oranla daha değerlidir, nem içeriği az ve kuru madde miktarı yüksektir. Ancak doğrudan kullanılması durumunda bitkide yanmalara neden olabilir. Bu nedenle toprağa az miktarda uygulanarak veya sap,

saman ve yosun ile karıştırılarak bitki besin düzeyi seyreltilip kullanılabilir. Tarımda bir çeşit gübre olarak kullanılan üre ise azot kaynağı bakımından zengindir, bu nedenle toprağa taban gübresi olarak verilmektedir (Anonim, 2010). Dünyada soya üretim miktarlarındaki artış, ekim alanı artışından daha fazla olup, 2009 yılında dünya soya üretimi 210,9 milyon ton olup, yaklaşık 80 milyon hektar alanda soya ekimi gerçekleştirilmektedir (FAO, 2009). Hatay’da soya üretimi ilçe bazında Merkez ve Kumlu’da toplam ekim alanı 250 dekar, üretim 63 ton, dekara verim ise 252 kg/dekardır (TÜİK, 2010). Soya küspesi çeşitli işlemler sonucunda kabuğunun ve yağının ayrılmasından sonra geriye kalan kısmıdır. Küspe soya fasulyesinin % 72’ lik kısmını oluşturmaktadır. Yüksek protein içerikli olması sebebi ile hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Anonim,2010).

Bu çalışmada çeşitli kompost ve gübre bileşenleri tek başlarına (tavuk gübresi % 100, güvercin gübresi % 100, büyükbaş hayvan gübresi % 100, soya küspesi % 100) ve kombine bir şekilde kullanılmış olup (büyükbaş hayvan gübresi % 30 + soya küspesi % 50 + üre % 10) elde edilmiş aday antagonist fungus ve bakterilerin beyaz çürüklük etmenine neden olan *S. sclerotiorum*’ a karşı etkileri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Lumsden ve ark. (1983), birçok toprak kökenli patojenler ve bunların sebep olduğu hastalıklara karşı kanalizasyon kompostunun etkisini sera koşullarında test etmişlerdir. Toprağa % 10 oranında kompost karıştırılmasıyla marulda *Sclerotinia* çürüklüğü, fasulye, pamuk ve turp köklerinde *Rhizoctonia* çürüklüğü, bezelye köklerinde *Aphanomyces* çürüklüğü, hıyarda *Fusarium* solgunluğu ve biberde *Phytophthora* kök boğazı çürüklüğü gibi hastalıkların önemli miktarda azaldığını, diğer hastalıklardan, bezelye ve fasulyede çökertene neden olan *Pythium*, fasulyede *Fusarium* kök çürüklüğü ve fasulye ile pamukta *Thielaviopsis* kök çürüklüğünün ya hiç etkilenmediğini ya da kompost uygulamasıyla arttığını bildirmişlerdir. *Pythium* ve *Rhizoctonia* türleri tarafından oluşturulan hastalıkların toprağa kompost uygulanması ve dikim arasındaki zamanın artışıyla arttığını gözlemlemişlerdir. *Sclerotinia minor*, *Rhizoctonia solani* ve *Pythium* spp.'nin canlılığının kompost ile azaltılmadığını fakat bu patojenlerin topraktaki aktivitelerinin toprağa kompost ilavesi ile uyarılan mikrobiyal aktivitenin artışından etkilenmiş olabileceğini düşünmüşlerdir.

Basım ve ark. (1990), yaptıkları çalışmada *Bacillus subtilis* izolatının, 7 adet bitki patojeni fungusa karşı antagonistik etkisini *in vitro* koşullarda ikili kültür tekniği kullanılarak araştırmışlardır. *B. subtilis* izolatları PDA' da 48 saat geliştirildikten sonra *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Sclerotium rolfsii*' e karşı test edilmiştir. PB-27 ve AB-2 nolu *B. subtilis* izolatlarının ele alınan patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Adreoli ve ark. (1993), ayçiçeği ve buğday bitkilerinin rizosferlerinden izole ettikleri antagonist bakteri izolatlarını, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Gaeumannomyces graminis*' e karşı *in vitro* koşullarda test etmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda *S. sclerotiorum* gelişimini engelleyen 6 bakteri izolatı, *G. graminis*' in gelişimini engellemezken, *G. graminis*' in gelişimini engelleyen 5 izolat ise *S. sclerotiorum* gelişimini engellememiştir. Yine bu araştırmacılar her iki fungal etmene karşı etkili olarak gözlenen izolatların sıvı kültürde ürettikleri antifungal maddeler sayesinde patojenlerin miselyumunu erittiğini ve askospor çimlenmesini engellediğini bildirmişlerdir.

Walker ve ark. (1998), taze fasulye ve bezelyenin çanak ve kotiledonlarından izole ettikleri 92 bakteri izolatından 72' sini, *Bacillus* spp. olarak tanılamışlardır. *Bacillus* izolatlarından 4' nün *in vitro* koşullarda yapılan ikili kültür ve kültür filtrat denemelerinde *Botrytis cinerea* ve *Pythium mamillatum*' a karşı antagonist potansiyele sahip olduğu belirlemişlerdir.

Nemec ve ark. (1996), yaptıkları çalışmalarda antagonist bakteri *Bacillus subtilis* türüne bağlı izolatın, tarla denemelerinde domates bitkisinde görülen *Fusarium* taç çürüklüğünü % 31 oranında, tarla ve sera denemelerinde turunçgillerde *Phytophthora parasitica*' nın neden olduğu kök çürüklüğünü % 67, tarla denemelerinde biber bitkisinde *Phytophthora capsici*' nin neden olduğu kök boğazı yanıklığını % 69 azalttığını belirlemişlerdir.

Giesler ve ark. (1998), yaptıkları çalışmada uzun çayır otları ve saksı fidelerinin bağımsız yaprakları üzerinde *Rhizoctonia solani*'nin neden olduğu kahverengi çürüklük hastalığının baskılanmasında çim yapraklarından izole edilen bakteri ırklarını test etmişlerdir. *Stenotrophomonas maltophilia* ırkı C3, uzun yapraklar üzerindeki fungus büyümesini engellemiş ve fidelerdeki nekroz şiddetini azaltmıştır. Biyolojik kontrol ırkının uygulandığı çayır otu arazilerinin bir çeşidinde kahverengi çürüklük hastalığının şiddetini azalttığını, ancak diğerlerinde hastalığın şiddetini artırdığını tespit etmişlerdir.

Berg ve ark. (2001), *Verticillium dahliae*' nın konukçusu olan çilek, patates ve kolza bitkilerinin köklerinden izole edilmiş *Pseudomonas putida*, *P. chlororaphis*, *P. fluorescens*, *P. syringae*, *P. marginalis* ve *Stenotrophomonas maltophilia* türlerine ait antagonist bakteri izolatlarının, *in vitro* koşullarda ikili kültür yöntemiyle *V. dahliae*' nın yanı sıra diğer fungal etmenlerden *Rhizoctonia solani*, ve *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı etkinliği test edilmiştir. Deneme sonunda bu bakteri izolatların tamamı *V. dahliae*' nın gelişimini engellerken, bir kısmının *R. solani* ve *S. sclerotiorum*' un miselyal gelişimini engellediği saptanmıştır. Patojenlerin gelişimini engellemede antagonist bakterilerin ürettiği enzimlerin etkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Sera denemelerinde ise antagonist bakterilerle muamele edilmiş çilek fideleri *V. dahliae* ile enfekteli toprağa ekildiğinde, hastalık yoğunluğu % 6-11 oranında azalırken, üründe % 72-113 oranında artış görüldüğünü kanıtlamışlardır.

Irshad ve Onoğur (2001), sera koşullarında yetiştirilen domateslerde sorun olan önemli patojenlerden *Sclerotinia sclerotiorum* ve *Sclerotium rolfsii*' nin neden olduğu hastalıkların mücadelesine yönelik olarak brokoli bitki materyalinin, hastalık çıkışına ve topraktaki patojen propagullerinin azalmasına neden olan etkisini denemişlerdir. Çalışma sonucunda, brokoli bitki materyali ile benomyl fungusitinin karışım uygulamasının, hastalık şiddeti üzerine % 100 etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Soylu ve ark. (2002), yaptıkları çalışma ile Hatay ilinin farklı bölgelerinde yetiştirilen biberlerin rhizosferlerinden izole edilen 72 bakteri izolatlarının *S. sclerotiorum* gibi toprak kökenli fungal etmenlerin gelişimini engellemeleri üzerine olan etkinliklerini *in vitro* koşullarda tespit etmişlerdir. Elde edilen bakteriler arasından 32 bakteri izolatu fungal etmenin gelişimini ikili kültür denemelerinde değişik oranda engellemiştir. Antagonist özeliğe sahip bakteri izolatlarının büyük çoğunluğu (% 69), toprak kökenli hastalıkların etkin şekilde bastırıldığı topraklarda geliştirilen bitkilerin rhizosferlerinden elde edilirken bir kısmı da (% 31), hastalıkların değişik sıklıkla görüldüğü topraklarda yetiştirilen bitkilerin rhizosferlerinden izole edilmiştir. Elde edilen antagonist bakteri izolatları arasından *S. sclerotiorum*' un fungal gelişimini en yüksek düzeyde *Bacillus* spp. tarafından engellendiğini tespit etmişlerdir.

Li ve ark. (2003), *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı *Ulocladium atrum*' un antagonizm ve biyokontrol potansiyelini araştırmışlar ve *S.sclerotiorum*' un diğer biyolojik savaş etmeni *Coniothyrium minitans* ile karşılaştırmışlardır. Patates dekstroza agar (PDA) üzerinde yapılan ikili kültür denemesinde, *U.atrum*' un *S.sclerotiorum*' un antagonisti olduğunu ortaya çıkarmışlardır. *S.sclerotiorum*' un kolonisinde gelişebildiğini ancak bu patojenin sklerotunun paraziti olamadığı anlaşılmıştır. PDA ve su agarında yapılan spor çimlenme testlerinin sonuçları *U.atrum*' un konidiyumu veya *C.minitans*' ın pikniosporlarının *S.sclerotiorum*' un askospor çimlenmesinde engelleyici olmadığını ortaya koymuşlardır. *U.atrum*' un konidiyumu daha hızlı çimlenmiş olup ve *S.sclerotiorum*' un ve *C.minitans*' ın pikniosporlarının askosporlarından daha çok gelişmiştir. Kanola petallarının 5 spor/petal oranında (24 saat önce, eş zamanlı ya da 24 saat sonra) *U.atrum* ve *C.minitans*' ın sporlarıyla ve 5 askospor/petal oranında *S.sclerotiorum*' un askosporlarıyla inokule edilmesi ve kanolanın ayırık yapraklarının bulaştırılması *S.sclerotiorum* kaynaklı petal aracılı yaprak enfeksiyonunun yoğunluğu

önemli ölçüde azaltmıştır. *S.sclerotiorum* kaynaklı petal kolonizasyonunun baskılaması bu iki biyokontrol etmeninin spor konsantrasyonlarıyla ilgili olmuştur. Alfalfa üzerindeki diğer test, alfalfa kapsülüne bağlı kalan petallerdeki *U.atrum* ve *C.minitans* uygulamasının alfalfa tohum ve kapsüllerindeki *S.sclerotiorum* enfeksiyonunu önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Bu çalışma sonucunda *U.atrum*'un *S.sclerotiorum*' un etkili bir biyolojik savaş etmeni olduğunu ve etkisinin mikoparazit fungus *C.minitans* 'inkiyle benzer olduğunu öne sürmüşlerdir.

Yanar ve ark. (2004), Tokat ve Amasya çevresinde seralarda yetiştirilen hıyar bitkilerinde *Sclerotinia sclerotiorum*' un neden olduğu beyaz çürüklük hastalığının mücadelesine yönelik olarak yürüttükleri çalışmada, solarizasyonla birlikte tavuk gübresinin tekli ve karışım uygulamalarının, topraktaki patojenin sklerotlarının canlılığı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda solarizasyon uygulanan parsellerde, tavuk gübresi + solarizasyon uygulanan parseller arasında önemli bir fark gözlenmediğini bildirmişlerdir.

Huang ve ark. (2005), *Sclerotinia sclerotiorum*' dan kaynaklanan bezelye küfünün kontrolü için organik toprak ıslahları ve biyolojik kontrol ajanlarının etkisini araştırmışlardır. 3 yıl süren çalışma sonucunda organik madde olarak denenen sarı yonca anızı (2,5 ton) ya da balık unu (2,5 ton)' nun *S. sclerotiorum*' un karpogenik çimlenmesini ve bunun etkisiyle de bezelye küfünün şiddeti ile etki alanını azalttığını belirlemişlerdir. Biyolojik savaş etmenlerinden ise *Coniothyrium minitans*, *Penicillium griseofulvum* ya da *Trichoderma virens* gibi türlerin baskın etkisi tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre bu çalışmaların umut verici olduğunu ve bezelyenin küflenmesinin kontrolünde çevreci bir yöntem olduğunu öne sürmüşlerdir.

Flores-Moctezuma ve ark. (2006), Meksika' nın Morales ve Guanajuato eyaletlerinden alınan *S. rolfsii*' nin iki soğan izolatının 51 bitki türü üzerine etkisini çalışmışlardır. Bu çalışma sonucunda seçilen soğan izolatlarının test edilmiş bitkilerin yarısından fazlasında hastalık seviyesini arttırdıklarını tespit etmişlerdir. Bu çalışmayı *Sclerotium rolfsii*' nin kontrolü için solarizasyon ve organik madde kombinasyonu ile birleştirerek denemişlerdir. Bu kombinasyonlu çalışma sonucunda toprakta bulunan *Parthenium hysterophorus*' un *S. rolfsii*' nin sklerot sayısını ve zararını azaltmada etkili

olduğunu belirlemişlerdir. Değişimin sadece zararı arttırdığını ve yüksek sklerot popülasyonuna neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Hou ve ark. (2006), yaptıkları çalışma ile *Sclerotinia sclerotiorum*’ un sklerotlarında antifungal aktiviteye sahip bakteri bulunduğunu tespit etmişlerdir. Toplamda 140 bakteri izolatından 32’ sinin *S. sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria brassicae* ve *Leptosphaeria maculans*’ ın gelişimini engellediğini belirlemişlerdir. Bu geniş spektrumlu izolatlardan birinin LEV-006 16S r rRNA analizine dayanarak *Bacillus subtilis* ile yakından ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir.

Rabeendran ve ark. (2006), laboratuvar çalışmalarında *Sclerotinia spp.*’ ye karşı etkili olduğu bilinen fungal izolatların dört arazi çalışmasında (1998-2000) *Sclerotinia minor*’ u kontrol etme kapasiteleri test edilmiştir. İlk çalışmada, sekiz fungal izolatın (*Trichoderma hamatum* LU595, LU593, LU592, *Trichoderma virens* LU555 ve LU556, *Coniothyrium minitans* LU112, *Clonostachys rosea* LU115 ve *Trichoderma rossicum* LU596) transplant çamur karışımına spor süspansiyonlarını ekleyerek ve arazi bölgesine bırakılan *S.minor*’ a marul fideleri ekerek değerlendirilmiştir. Hasat zamanında *T.hamatum* LU595, LU593, *T.virens* LU555, *C.minitans* LU112’ in, yüksek hastalık altında (% 100) tedavisiz kontrolle karşılaştırıldığında, % 50 ile % 30 oranında hastalığı azalttığı gözlenmiştir. Daha sonraki arazi çalışmalarında, mısır küspesi – perlit toprak ıslahı olarak uygulanan ve çamurlu karışıma eklenen *C.minitans* LU112 ve *T.hamatum*’ un LU593 hastalık basıncının üzerinde (% 29-91) hastalığı azaltmıştır. Hastalık kontrolünün eşdeğer ve standart karbendazim fungusit tedavisiyle başarılıdan daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Her iki izolatın marul rizosferini ve etrafını saran toprağı kolonize etmekte etkili olduğu ve bu kolonizasyonun *S.minor* kaynaklı enfeksiyondan kökleri koruyabildiği gösterilmiştir. *C.minitans* LU112 ve *T.hamatum*’ un LU593 formülasyonlarının çoklu uygulamaları ekimde tek uygulamalarla karşılaştırıldığında hastalık kontrolüne hiçbir katkı sağlamadığını tespit etmişlerdir. Transplant tedavi, katı substrat olarak ya da bir spor direnci olarak uygulanan *T.hamatum* LU593 ve *C.minitans* LU112 gibi ticari formülasyonlar ile uyumlu hastalık kontrolü sağlanmıştır ve daha da geliştirilebileceğini belirlemişlerdir.

Fernando ve ark. (2007) kanolada çürüklük etmeni olan *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı *in vitro* koşullarda biyolojik mücadele etmeni olan *Pseudomonas chlororaphis* (PA-23), *Bacillus amyloliquefaciens* (BS6), *Pseudomonas sp.* (DF41) ve *B. amyloliquefaciens* (E16)'nın etkinliklerini araştırmışlardır. Çalışmaya göre *P. chlororaphis* türünün *S. sclerotiorum*'un petallerindeki askospor çimlenmesini engellediğini tespit etmişlerdir. Konak çürümesini engellemede PA-23 ve BS6' nın arazi koşulları altında *S. sclerotiorum*' u kontrol etmek için kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Suarez-Estrella ve ark. (2007), çeşitli kompost gruplarından elde edilen antagonist bakteri ve fungusların *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM)' e karşı engelleme yeteneklerini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırmışlardır. Olgunlaşma fazlarına bağlı olarak farklı kompost örneklerinden 245 bakteri, 73 actinomycetes, 175 fungus izole edilip toplam 493 izolat elde etmişlerdir. Bunlar içerisinde 10 fungusun antagonist olduğunu ve FOM' un gelişimini engellediğini bildirmişlerdir. Antagonist etki gösteren fungusların ise *Aspergillus* türleri olduğunu tespit etmişlerdir ve FOM'a karşı potansiyel biyolojik savaş elemanı olduğunu ortaya koymuşlardır.

Dutta ve ark., (2008), fasulyede çürümeye neden olan *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı çeşitli antagonistlerin ikili kültür metotlarıyla etkisini araştırmışlardır. Bu araştırmalar sonucunda bütün antagonistler arasından % 64,93 oranında gelişim azalmasını sağlamasıyla *Pseudomonas fluorescens*, % 62,86 ile *Bacillus subtilis*, % 59,08 ile *Trichoderma harzianum*' un takip ettiğini tespit etmişlerdir. Bakteriyel antagonistlerin patojen ile bağlantıya geçtikten sonra patojenin gelişimini durdurduğunu gözlemlemişlerdir. *T. harzianum*' un tohum tedavisinde tohum çimlenmesini geliştirmede (% 18,43), enfeksiyon azaltmada (% 90,46) ve verimi arttırmada çok etkili olduğunu kanıtlamışlardır. *T. harzianum*'dan sonra sırasıyla *B. subtilis*' in ve *P. fluorescens*' in etkili olduğunu ortaya koymuşlardır.

Huang ve ark. (2008), *Sclerotinia sclerotiorum*' un kontrolünde beş fungal antagonistin etkilerini belirlemek için yürüttükleri çalışmada 20°C'de kuru (% 9 nem) ve ıslak (% 24 nem) koşullar altında steril topraklarda *S. sclerotiorum*' un sklerotlarının canlılığını azaltmada etkisi olduğunu, *Coniothyrium minitans*' ın 15-20 °C'de sklerot

azalmasında en etkili antagonist olduğu, *Trichoderma virens*' in *C. minitans* kadar olmasada 25°C'de en iyi etkiyi gösterdiğini, *Eproccum purpurancens*, *Talaromyces flavus* ve *Trichothecium roseum*'un bazı durumlarda *S. sclerotiorum*' un sklerotlarına karşı etkili olsalar da *C. minitans* ve *T. virens*' den daha az etkisi olduğunu belirlemişlerdir.

Mansour ve ark. (2008), biyolojik mücadele elemanı olan *Trichoderma harzianum* ve *Bacillus amyloliquefaciens* izolatlarının *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı antagonist etkilerini *in vivo* ve *in vitro* koşullarda araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda denemeye alınan *T. harzianum* ve *B. amyloliquefaciens*' in, *S. sclerotiorum*' un misel ve sklerot gelişimi ile üretimini engellediğini saptamışlardır.

Uppal ve ark. (2008), 5 adet önceden seçilmiş izolat ve 4 adet bitki ekstraktı (kanola, kolza, deniz yosunu, ve Kanada geveni), iki bölgede iki büyüme mevsimi boyunca *in vivo* koşullarda ve büyüme odasında iki farklı patates çeşidini (Russet Burbank, hassas ve Kennebec oldukça elverişli) *Verticillium dahliae*' ya karşı koruyabilme etkileri için test etmişlerdir. Büyüme odası denemelerinde, *Pseudomonas fluorescens* Biotipi F izolatı DF37, iki mevsimde de her iki kültür bitkisi Kennebec ve Russet Burbank' ta *Verticillium* solgunluğundan kaynaklanan damar renk değişikliğinin şiddetini ve oranını önemli ölçüde azaltmıştır. *Bacillus pumilis* izolatı M1 sadece Kennebec kültür bitkisinde solgunluk parametrelerini azaltmıştır. Test edilen bitki ekstraktları arasından, Kanada geveni ekstraktının (MVE) *Verticillium* solgunluğunu azaltmada en etkili bitki ekstraktı (%54-84 oranında) olduğunu tespit etmişlerdir. *In vivo* testinin ilk yılında bakteri tedavisi DF37 ve bitki ekstraktı MVE sırasıyla Russet Burbank ve Kennebec üzerindeki *Verticillium* solgunluğunu azaltmada etkili olmuştur. Hastalık ve damar renk değişikliğindeki azalmalar tedavisiz kontrole göre sırasıyla DF37 için % 26-67, MVE için % 45-55 değerinde olmuş, *in vivo* denemelerinin ikinci yılında bakteri izolatları DF37 ve M1 ve bitki ekstraktları MVE % 19' dan % 31' e kadar bütün solgunluk parametrelerini azalttığını ve Kennebec kültür bitkisinde verimi % 18 arttırdığını tespit etmişlerdir. Bakteriyel izolat DF37 ayrıca *Verticillium* solgunluğunu (% 29-43 arasında) azalttığını ve Russet Burbank kültür bitkisinde verimi de % 24 oranında arttırdığını belirlemişlerdir.

Yang ve ark. (2008), *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı güçlü antagonist aktiviteli *Penicillium zinciri* PY-1' in toprakta ayrıştırılmasını çalışmışlardır. PY-1 zincirinin *Penicillium oxalicum* olduğunu belirlemişlerdir. *P. oxalicum*' un *S. sclerotiorum*' un miselyal gelişimini engelleyen antifungal maddeler ürettiğini tespit etmişlerdir. PY-1 sporlarını ve filtratlarının test edilen bitkilerin yaprak evresinde *S.sclerotiorum* enfeksiyonunu, enfeksiyon boyutunu önemli ölçüde engellediğini ortaya koymuşlardır.

De Cal ve ark. (2009), *Penicillium oxalicum*' un farklı gelişme koşullarında kavunda *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) ve karpuzda *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (FON)' un neden olduğu solgunluğu baskılamadaki biyolojik mücadele potansiyellerini test etmişlerdir. Sera denemelerinde FOM'un neden olduğu *Fusarium* solgunluğunu azaltmak için *P. oxalicum* ve dazometi birlikte uygulamışlardır. Karpuzda FON için *P. oxalicum* yalnız uygulanmıştır, büyüme odasında % 58 ve sera denemelerinde ise % 54 oranında hastalık alanlarını azalttıklarını tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmanın sonucunda *P.oxalicum*' un kavun ve karpuz bitkilerinde *Fusarium* solgunluğunun kontrolünde etkili olabileceğini düşünmüşlerdir.

Yang ve ark. (2009), *Bacillus subtilis* türünün (NJ-18) *in vivo* ve *in vitro* koşullarda *Sclerotinia* kök çürüklüğüne karşı etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma ile NJ-18 türünün fermantasyonu sonucunda yapılan arazi çalışmalarında hastalığın yoğunluğunu ve şiddetini azalttığını, *B. subtilis*'in NJ-18 türünün umut verici bir biyolojik savaş etmeni olduğunu pirinç kını küfü ve kolza çürüklüğü ile diğer *Sclerotinia* hastalıklarının kontrolü için kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir.

Kurt ve ark. (2011) *Brassicaceae*' deki glukosinolatların enzimatik hidrolizi ile açığa çıkan Isothiocyanate' ları (ITCs), fungus patojenlerini kontrol etmede potansiyel faydalılar olarak bildirmişlerdir. *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı saf ITCs' in *in vitro* ortamdaki aktivitesi gelişme düzenleyicilerde eritilerek yapılan çalışmalarla ilişkilendirilmiştir. Bu çalışma ile metil, alil ve benzil ITC' ler *S. sclerotiorum* izolatu Ss 31' li biyo analizlerdeki bileşimlerin en fungitoksik olanları olarak bildirilmiştir. *S. sclerotiorum*' un miselyal gelişimi metil, alil ve benzil ITC' ler tarafından tamamen inhibe edilmiştir. Aromatik ITC' ler petri kutularında daha az toksik etki gösterirken agar ortamda çözüldüğünde alifatik ITC' lerden daha fazla toksik etki gösterdiğini

ortaya koymuşlardır. Benzil ITC, 75.1 mol L^{-1} 'in EC50 değeriyle sklerot çimlendirmesinde en yüksek inhibitör etkisi göstermiştir. Butil ve benzil ITC'ler en yüksek konsantrasyonda *S. sclerotiorum*' un apotesyal üretimini % 92.5'e kadar azalttığını öne sürmüşlerdir. *In vivo* ortam çalışmalarında, sadece alil ve 2-feniletıl ITC' ler düşük konsantrasyonda hastalık oluşumunu sırasıyla % 76,7 ve % 70 oranında azaltmıştır. Çalışma sonucunda ise *S. sclerotiorum*, *Brassica juncea*, *B. carinata*, *B. nigra* ve *Sinapsis spp.*' nin ayrışmasından çıkan alil ve benzil ITC' lerin daha yüksek konsantrasyonlarda direnç gösterebileceğini tespit etmişlerdir.

Danon ve ark. (2010), kompostların toprak kökenli bitki patojeni olan *Sclerotium rolfsii*' nin sklerotiyal yüzeydeki ve onun etrafındaki fungal toplulukların gelişimini ve *S. rolfsii* 'nin paraziti olan dirençlerini tespit etmek için çalışmışlardır. Bu çalışma sonucunda *Threlavia* ve *Petriella* türleriyle beraber, *Chaetomium*, *Geomyces*, *Penicillium* ve *Trichoderma* türleri olarak bilinen mikro parazitler tespit etmişlerdir. Ancak bu mikroparazitler arasında *Sclerotinia*' nın tamamını yenebilen tek bir türe rastlamamışlar, aksine çeşitli dirençler kazanıldığını belirlemişlerdir. Bu antagonist mikroorganizmalar topluluğunun *Sclerotinia*' nın paraziti olduğu hipotezini öne sürmüşlerdir.

Zhang ve ark. (2010), *Sclerotinia sclerotiorum*' un sebep olduğu *Sclerotinia* gövde çürüklüğü Kanada'da yaygın bir soya fasulyesi hastalığıdır. Bu çalışmada *in vitro* ve *in vivo* ortamda yapılan deneyler SSR (*Sclerotinia* Stem Rot = *Sclerotinia* gövde çürüklüğü)' ın önlenmesi için *Bacillus subtilis* zinciri SB24'ün hücre süspansiyonlarının, hücresiz kültür filtratlarının ve sıvı kültürlerinin potansiyel etkisini değerlendirmek üzere yürütülmüştür. SB24 hücre süspansiyonları ve hücresiz kültür filtratları % 50' den % 75' e kadar *S. sclerotiorum*' un miselyal gelişimini önemli ölçüde azaltmış olup, % 90'dan daha fazlaya kadar sklerot oluşumunu önlemiştir. Hücre süspansiyonu ve sıvı kültür hazırlıkları $5 \cdot 10^9$ 'a (cfu ml⁻¹) kadar sıralanan konsantrasyonlarda SRR yoğunluğunu/şiddetini % 45'ten % 90' a kadar ciddi ölçüde azaltmıştır. Bu çalışma sonucunda üç hazırlık için en etkili konsantrasyon SRR yoğunluğunu %60'tan %90'a kadar azaltan $5 \cdot 10^8$ (cfu ml⁻¹) olmuştur. *S.sclerotiorum*' lu bitki, aşılamasından önce 24 sa uygulandığında hastalık şiddetini azaltmada en etkili

olanın *B. subtilis* SB24 olduğunu ve bitki aşılamasından 15 gün sonraya kadar önemli bir etki gözlemlendiklerini öne sürmüşlerdir.

Pane ve ark. (2011), beş farklı kompostun toprak kökenli patojen olan *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotinia minor*' a olan baskılayıcı etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda denemeye alınan bu beş kompost içerisinde hayvan gübresinden çıkan bileşenlerin % 60' ında *P. ultimum*, *R. solani* ve *S. minor*' un neden olduğu hastalığa karşı gelişmeyi engelleyici etki gösterdiği saptanmıştır.

Yang ve ark. (2011), *Sclerotinia sclerotiorum*' un umut veren bir biyolojik mücadele elemanı olan *Coniothyrium minitans*' in toprak uygulaması sırasında gübre uygulamasıyla birleştirilip birleştirilemeyeceğini değerlendirmek amacıyla N-P-K bileşikli ticari gübreyle uyumluluğunu saptamak için bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışma sonucunda bileşik gübrenin *in vitro* ortamda *C. minitans*' in misel gelişimini ve konidial çimlenmesini % 0,1 ile % 10 konstrasyonunda engellediğini tespit etmişlerdir. *C. minitans*' in gübre ile eş zamanlı uygulaması *S. sclerotiorum*' un sklerotlarıyla üretilen apotesyum sayısını azalttığını, karpogenik çimlenmeyi baskılamak için herhangi bir olumsuz etki göstermediğini gözlemlemişlerdir. Bu uygulama sonucunda yağlı tohum kolzasının gövde çürüklük etmeni olan *S. sclerotiorum*' un baskılamasında ve uygulanan gübrelerle birlikte ürün verimliliğinin artışında bir avantaj sağladığını belirlemişlerdir.

Rodriguez ve ark. (2011), *Clonostachys rosea* BAFC 3874' ün *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı antagonist etkisini ikili kültür testlerinde *in vitro* koşullarda araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda kullanılan *C. rosea* kapta yetiştirilen lahana ve soya fasulyesindeki *S. sclerotiorum*' un antagonisti olduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte *S. sclerotiorum*' un yüksek miselyal gelişimini ve sklerot üretimini engellemesinin aynı zamana denk geldiğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak *C. rosea* BAFC 3874' ün sera deneylerinde patojen *S. sclerotiorum*' a karşı etkili bir antagonist olduğunu kanıtlamışlardır.

Kumar ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada, fasulye rhizosferlerinden elde edilen 7 bakteriyel izolat arasından BPR7 ırkı *Bacillus* spp. olarak tespit edilmiştir. BPR7 ırkı *in vitro* ortamda *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia*

sclerotiorum, *Colletoricum sp.* gibi birkaç fitopatojenin büyümesini baskılamada önemli etki göstermiştir. BPR7 ırkının hücresiz kültür filtratı test edilmiş ve patojenlerin koloni gelişimini önlediğini gözlemlemişlerdir.

Meng ve ark. (2012), bu çalışma ile BACO3' ü karakterize etmek ve tanımlamak için patatesin yaygın patojeni olan *Streptomyces spp.*' e karşı biyolojik kontrol aktivitesini değerlendirmek ve BACO3' le üretilen antimikrobiyal bir madde karakterize etmeyi amaçlamışlardır. *Streptomyces spp.*'nin direnç kaynağından izole edilen BACO3 genlerinin dizilimi analiz edilerek *Bacillus amyloliquefaciens* olarak tanımlanmıştır. BACO3 ortak kültür yöntemi kullanılarak *Streptomyces spp.*' e karşı antagonist bir aktivite göstermiştir. Sera çalışmalarında saksı karışımlarına uygulanan BACO3 önemli ölçüde patojenin şiddetini azaltmış olup, potansiyel olarak patates bitkisinin gelişimini arttırdığını öne sürmüşlerdir. Çalışma sonucunda *B. amyloliquefaciens* zinciri BACO3'ün güçlü bir antagonist aktiviteye sahip olduğu, *Streptomyces spp.*' e karşı direnç ve bitki gelişimini yükseltebilme potansiyeli gösterdiğini ve ticari biyolojik savaş etmeni olarak geliştirilebilir potansiyeli olduğunu bildirmişlerdir.

Zeng ve ark. (2012), yaptıkları çalışma ile biyolojik mücadele etmenlerini Michigan' daki soya fasulyesi üretim arazilerinde *Sclerotinia* kök çürüklüğü üzerine ve topraktaki *Sclerotinia sclerotiorum*' un sklerot sayısını azaltmadaki etkisi açısından değerlendirmişlerdir. Biyolojik etmenler *Coniothyrium minitans* CON/M/91-08 (ürün adı: Contans WCN) *Streptomyces lydicus* WYEC 108 (actinovate AG) , *Trichoderma harzianum* T-22 (Plant Shield HC) ve *Bacillus subtilis* QST713 (Serenade MAX)' tir. İki arazi bölgesinde, *S. sclerotiorum*' un sklerotlarıyla bulaştırılan topraklar, bitkilendirme öncesinde üst toprakta yukarıda adı geçen etmenlerle tedavi edilmiştir. Etkili biyolojik kontrol etmeni olan *C. minitans* R1 gelişim evresinde yapraklara fungusit olarak uygulanmıştır ve hastalık şiddetini % 68.5' e kadar, *S. sclerotiorum*' un topraktaki sklerot sayısını ise % 95.3' e kadar azalttığını belirlemişlerdir. *S. lydicus* ve *T. harzianum* sırasıyla hastalık şiddetini % 43.1 ve % 38.5' e kadar, topraktaki sklerot sayısını ise % 90.6 ve % 70.8' e kadar azalttığını bu çalışma ile birlikte kanıtlamışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Fungus Materyali

Denemede kullanılacak olan *Sclerotinia sclerotiorum* Ss 31 nolu domates izolatu bölümümüzde 2008 – 2009 yılları arasında yürütülen Tübitak – 108O304 nolu proje kapsamında elde edilmiştir. Bu izolat – 20 °C de saklanan kültür koleksiyonundan sağlanmıştır.

3.2. Kompost Materyali

Bu çalışmada kullanılacak olan kompost ve gübre materyali, küspe yapım tesislerinden ve MKÜ Selam Çiftliğinden sağlanmıştır. Soya yapım tesisinden sağlanan soya küspesi 1/20 oranında steril saf su ile nemlendirilerek çalışmada kullanılmak amacıyla hazırlanmıştır. Aşağıdaki çizelgede çalışmada kullanılmış olan kompost ve gübre materyallerinin içerikleri verilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Biyolojik mücadele potansiyeli açısından *Sclerotinia sclerotiorum*’ a karşı antagonist mikroorganizmaların izolasyonunda kullanılan kompost ve gübrelerin içerikleri

Kompost ve Gübre No	Kompost ve Gübre Materyalleri
G1	Soya küspesi % 50 + Üre % 20+Büyükbaş hayvan gübresi % 30(Sk; Ü; Bbg; 50:20:30)
G2	Büyükbaş hayvan gübresi % 100 (Bbg; 100)
G3	Tavuk gübresi % 100 (Tg; 100)
G4	Güvercin gübresi % 100 (Gg; 100)
G5	Soya küspesi % 100 (Sk; 100)

Kompostlar hava almayacak şekilde kapatılmış 50 litrelik plastik variller içerisinde hazırlanarak açık havada bekletilmiştir, gübreler ise saf olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Antagonist mikroorganizmaların izole edildiği kompost materyali ve gübrelerin doğal görünümü. (A) Büyük baş hayvan gübresi, (B) Güvercin gübresi, (C) Soya küspesi

3.3. Çalışmalarda Kullanılan Besi Ortamları ve İçerikleri

Çalışmada kullanılan tüm besi yerleri 121 °C’ de 15 dk. otoklavda sterilize edilmiştir. Denemelerde hazır ticari olarak satılan Nutrient Agar (NA), Trypton Soya Agar (TSA) bakteriyel izolasyonlarda, Czapek-Dox Agar (CDA) fungus izolasyonlarında besiyerleri olarak kullanılmıştır. İkili kültür ve ön inkübasyon denemelerinde Patates Dekstroz Agar (PDA) kullanılmıştır. Bu ortamların içerikleri Ek-1 de verilmiştir.

3.4. Kompost ve Gübrelerin Mikrobiyal Analizleri

Kompostların ve gübrelerin mikrobiyal populasyonlarının durumu 0-4 ayları arasında 250 ml’ lik erlenler içerisindeki 90 ml steril saf suya 10 gr kompost ve gübre örneğinin ilave edilmesiyle belirlenmiştir. Erlenler 20 dk süre ile 200 rpm hızla orbital

çalkalayıcıda çalkalanarak elde edilen süspansiyon bir seri halinde (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} ve 10^{-9}) seyreltilmiş olup her bir örnekten alınan 200 μl 'lik süspansiyonlar, bakteriyel izolasyonlar için NA, TSA, fungus izolasyonları içinde CDA besi ortamlarının yüzeylerine yayılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra tüm petri kapları 25°C ' de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Populasyon yoğunluğu cfu g^{-1} olarak belirlenmiştir.

3.5. Fungal ve Bakteriyel İzolatlarının Teşhisi

Antagonist aktivitesi belirlenmiş olan fungus kolonilerinin tür tanısı, stereoskopik mikroskop yardımı ile oluşturdıkları vejetatif ve spor yapılarının morfolojik yapılarına bakılarak elde edilmiştir (Singleton ve ark. 1992).

Bakteriyel izolatların yağ asitleri MIS (Microbial Identification System) standart protokolüne göre firmanın bildirdiği şekilde elde edilmiştir. Ekimi yapılan petriler üzerinde gelişen bakteriyel izolatların hücre morfolojilerine bakılmış ve aday izolatlar ortamda gelişen populasyonu temsil edecek şekilde tesadüfi olarak tek bir hücreden alınarak saflaştırılmıştır. Her bir hücre (koloni) bir izolat olarak değerlendirilmiştir. Tüm bakteri izolatları rutin analizler için $+4^{\circ}\text{C}$ ' de buzdolabında petri kapları içerisinde PDA besi yerinde, uzun süreli saklamalar için % 20'lik glycerol içerisinde -20°C ' de derin dondurucular içinde muhafaza edilmiştir.

3.5.1. Bakteriyel İzolatların Yağ Asitleri Profillerine Göre Tanılanması

Bakteriyel izolatların yağ asitleri MIS (Microbial Identification System) (Şekil 3.2.) standart protokolüne göre elde edilmiştir (Sasser, 1990).

Bu protokole göre, steril bir öze ile test edilecek bakteri kültürlerinin tek hücrelerinden alınarak TSA besi yerine 4 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Kültürler 25°C ' de 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonrası bakteri kültürlerinin 3. ve 4. fazlarından steril öze ile alınarak teflon kapaklı steril cam tüplere aktarılmıştır. İzolatların yağ asitleri 4 farklı çözeltinin kullanıldığı 4 aşamada yapılmıştır.

1) Hücrelerin parçalanması aşamasında tüplere transfer edilen bakteri hücrelerinin üzerine 1ml çözelti 1 (45 g NaOH, 150 ml metanol (HPLC grade) ve 150 ml steril saf

su) eklenerek 5 dakika 100 °C su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra bakterilerin süspanse olabilmesi için tüp karıştırıcı ile 5-10 sn karıştırılmış ve tekrar su banyosuna konularak 25 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda tüpler soğuk su banyosunda hızlı bir şekilde soğutulmuştur.

2) Metilleştirme aşamasında süspansiyonun üzerine 2 ml çözelti 2 (325ml 6 N HCl ve 275 ml metanol (HPLC grade)) eklenerek 5-10 saniye tüp karıştırıcı ile karıştırıldıktan sonra 10 dakika 80 °C' lik su banyosunda bekletilmiştir ve süre sonunda tüpler hızla soğutulmuştur.

3) Saflaştırma aşmasında örneklerin üzerine 1.25 ml çözelti 3 (200 ml heksan (HPLC grade) ve 200 ml metil tert-butil eter (HPLC grade)) eklenerek tüplerin ağzı sıkıca kapatılmıştır. Daha sonra tüpler dairesel döngü hareketi yapan karıştırıcı ile ters-düz edilerek 10 dakika boyunca 20 rpm hızda karıştırılmıştır. İşlem sonunda oluşan iki fazdan alttaki faz pastör pipeti ile uzaklaştırılmıştır ve üstteki faz bir sonraki aşama için saklanmıştır.

4) Bazik yıkama aşamasında ise tüplerin üzerine 3 ml çözelti 4 (10.8 g NaOH ve 900 ml steril saf su) eklenerek tüpler bir önceki aşamada olduğu gibi dairesel döngü hareketi yapan karıştırıcı ile ters-düz edilerek 5 dakika boyunca 20 rpm hızda karıştırılmıştır. İşlem sonrası oluşan üst fazın 2/3' lük kısmı pastör pipeti ile alınıp gaz kromatografisi (GC) tüplerine aktarılmıştır.

Elde edilen yağ asitlerinin karakterizasyonu, yağ asitleri metil esterler gaz kromatografisi (Agilent Technologies 6890N Network GC System) ile yapılmıştır ve yağ asitleri özelliklerine göre bakterilerin tanısı Sherlock MIS 4.5, Microbial ID, Inc., Newark, Delaware bilgisayar programı ile yapılmıştır.



Şekil 3.2. Bakteri izolatların Yağ asit metil ester profillerine göre teşhis etmekte kullanılan MIS (Microbial Identification System)' in genel görünümü

3.6. Seçilen Aday Antagonist Fungus ve Bakteri İzolatları ile *in vitro* Çalışmalar

3.6.1. İzole Edilen Fungus ve Bakterilerin, *Sclerotinia sclerotiorum*' a Karşı Antagonist Etkilerinin Değerlendirilmesi

Seçilen bakteriyel ve fungal izolatlar, *Sclerotinia sclerotiorum*' u antagonize etme yetenekleri yönünden değerlendirilmiştir. Antagonist fungal izolatları seçmek için antagonist fungus agar diskleri ve *S. sclerotiorum* birbirinden yaklaşık 4 cm mesafede olacak şekilde PDA ortamına aktarılmış ve sonuçlar 4 gün içerisinde değerlendirilmiştir.

Elde edilen tüm bakteri izolatlarının *S. sclerotiorum*' a karşı antagonistik potansiyelleri, PDA içeren petri kaplarında ikili kültür testleriyle saptanmıştır (Landa ve ark. 1997). Bu testlerde her bir petrinin ucuna test edilecek bakteri izolatu çizilerek 26°C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bakterilerin gelişmesini takiben, PDA ortamında gelişmiş 4 günlük *S. sclerotiorum* kültürünün uç kısımlarından alınan 5 mm çapında miselyal diskler petrilere çizgi halinde gelişen bakterilerin 4 cm uzağına

yerleştirilerek 25°C’ de gelişmeye bırakılmıştır. Kontrol olarak fungus, bakterilerin çizildiği yere benzer şekilde dışardan kalemle çizilmiştir.

Kontrol petrilerinde fungusun işaretli alana ulaşmasıyla birlikte, bakterilerin çizildiği tüm petrilere bakteriye doğru yönelen fungal miselyal gelişimi (Rb) ölçülmüş ve kontrol petrilerdeki miselyal gelişmeye (Rc) göre engelleme oranlarının % si hesaplanmıştır (Ahmed ve ark. 1999).

$$\% \text{ Engelleme} = (Rc - Rb) * 100 / Rc$$

Her bakteri-fungus kombinasyonu için ölçümler 5 farklı petri kabında yapılmış olup, deneme 3 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

3.6.2. Ön İnkübasyon Süresinin Bakterilerin Antagonist Potansiyelleri Üzerine Olan Etkinliği

Yapılan değerlendirmede antagonist özellik gösteren *Bacillus pumilis* (G4B:1:49), *Bacillus cereus* (G1B:2:6), *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5), Tanısı yapılamadı (G2B:3:4), *Stenotrophomonas maltophilia* (G2B:3:7), *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus pumilis* (G2B:5:4), *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5) izolatları, ön inkübasyon süresinin bakterilerin antagonizm potansiyeli üzerine olan etkinliğinin belirlenmesi çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir. Bu amaçla seçilen antagonist özellik gösteren izolatlar PDA içeren petrilere fungus inokulasyonunun 1, 24, 48 ve 72 saat öncesinden çizilerek ön inkübasyona bırakılmış ve daha önce açıklandığı şekilde (Bölüm 3.6.1) *S. sclerotiorum* kültürlerinden alınan diskler petriye bakterilerin çizildiği noktadan 4 cm uzağına yerleştirilerek inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak yalnız *S. sclerotiorum* ekimi yapılmıştır. Değerlendirmeler ikili kültür testlemelerinde olduğu gibi yapılmış ve patojen gelişiminin antagonist bakteri izolatları tarafından engellenmeleri (%) hesaplanmıştır.

3.7. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HR= Hypersensitive Reaction)

Kompost ve gübrelerden izole edilen bakteriyel izolatların patojenisitelerinin belirlenmesi amacı ile tütünde aşırı duyarlılık testi (HR) yapılmıştır. HR testinde PDA besi yerinde 2 günlük bakteri kültürleri 10^8 cfu ml⁻¹ (OD=0.13) yoğunlukta steril saf su içerisinde süspanse edilerek tütün yapraklarına enjekte edilmiştir. Negatif kontrol olarak yapraklara steril saf su inokule edilmiş, pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatı kullanılmıştır. İnokulasyondan 2 gün sonra değerlendirme yapılarak inokulasyon noktasında doku çökmesine neden olan izolatlar HR (+) olarak kabul edilmiştir.

3.8. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Tüm *in vitro* denemeleri tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve patojen gelişiminin engellenme oranları % oranlarına çevrilmeden SPSS istatistik programı kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve Tukey çoklu karşılaştırma testi ile izolatlar arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir ($p \leq 0.05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Farklı Kompost ve Gübrelerden İzole Edilen Aday Antagonist Bakteri ve Fungus İzolatlarının Aylara Göre Populasyon Seyri

Hatay ili ve çevresindeki küspe üretim tesislerinden, MKÜ Selam Çiftliğinden alınan gübre ve kompost materyallerinden 0-4 ayları arasında yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen toplam fungus ve bakteri sayıları Çizelge 4.1 ve 4.2’ de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı kompost ve gübrelerden izole edilen bakteri sayılarının aylara göre populasyon seyri (Log Değerleri)

Kompost ve Gübre	Aylar				
	0	1	2	3	4
G1	8,99 h	8,92 fgh	8,87 efgh	8,95 gh	8,96 gh
G2	8,7 defg	8,7 defg	8,67 cdef	8,65 cdef	8,59 bcd
G3	8,7 defg	8,6 bcde	8,6 bcd	8,61 bcde	8,61 bcde
G4	8,41 abc	8,27 a	8,3 a	8,36 ab	8,25 a
G5	8,23 a	8,23 a	8,15 a	8,25a	8,25 a

Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey test, $P \leq 0.05$)

Kompostlama sürecinde başlamadan önce G1 (Soya küspesi % 50 + Üre % 20+Büyükbaş hayvan gübresi % 30) kompostundan elde edilen bakteri sayısı 8,99 olmuştur. Süreç içerisinde yapılan değerlendirmelerde bakteri sayısının aylar içerisinde önemli değişikliğe uğramadığı gözlemlenmiştir. G2 (Büyükbaş hayvan gübresi % 100) gübresinden elde edilen bakteri sayısı başlangıçta 8,7 olup 1. ayda da aynı değer gözlemlenmiş ve bakteri sayısı aylara göre azalan oranlarda devam etmiştir. G3 (Tavuk gübresi % 100) gübresinin olgunlaştırma süresinin başlangıcında elde edilen bakteri sayısı 8,7 olup takip eden aylarda bakteri sayısı 8,6 ve 8,61 olarak gözlemlenmiştir. Bu durum aralarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar olmadığını bildirmektedir. G4 (Güvercin gübresi % 100) gübresinde bakteri sayısı en yüksek seviyesini (8,41) olgunlaştırma sürecini başlangıcında, en düşük seviyesini ise 4. ayda (8,25) göstermiştir. 2. ve 3. aydaki bakteri sayıları arasında istatistiksel olarak farklılık tespit

edilmemiştir. G5 (Soya küspesi % 100) kompostundan elde edilen bakteri sayılarında aylar içerisinde istatistiksel olarak farklılıklar gözlemlenmemiştir.

Kompost ve gübreler arasında aylar içerisinde yapılan değerlendirmelerde (0-4. aylar arası) en yüksek bakteri sayıları G1 kompostundan elde edilmiş olup 1-2-3. aylardaki bakteri sayısındaki sıralama G2, G3, G4, G5 şeklinde olup 4. ayda ise G3, G2, G4=G5 şeklinde belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı kompost ve gübrelerden izole edilen fungus sayılarının aylara göre populasyon seyri (Log Değerleri)

Kompost ve Gübre	Aylar				
	0	1	2	3	4
G1	4,53 bcdef	4,62 cdef	4,16 abc	4,69 def	4,2 abcd
G2	4,10 ab	4,16 abc	4 a	4,52 bcdef	4,10 ab
G3	4 a	4 a	4,10 ab	4,36 abcde	4,16 abc
G4	4,10 ab	4,54 bcdef	4,55 bcdef	4,65 cdef	4,10 ab
G5	4 a	5 f	4,81 ef	4,81 ef	4 a

Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey test, $P \leq 0.05$)

Kompostlama sürecine başlamadan önce G1 kompostundan alınan ilk örneklerde fungus sayısı 4,53 olmuştur. Kompostlama sürecinde yapılan değerlendirmelerde 3. ayda 4,69 ile en yüksek seviyesinde ulaşmış ve 4. ayda (4,2) tekrar düşme eğilimine girmiştir. En düşük fungus sayısı 4,16 ile 2. ayda gözlemlenmiştir. G2 kompostundan alınan örneklerde olgunlaştırma sürecinin başlangıcında fungus sayısı 4,10 olmuştur. Yapılan değerlendirmelerde 1. ayda 4,16 olarak belirlenmiş ve aylar içerisinde yapılan değerlendirmede istatistiksel olarak önemli farklılık gözlemlenmemekle birlikte fungus sayısı 3. ayda 4,52 ile en yüksek seviyesine ulaşmıştır. G3 gübresinden alınan örneklerde olgunlaştırma sürecine başlamadan önce 4 olan fungus sayısı, 3. ayda en yüksek seviyesine (4,36) ulaşmış olup, 4. ayda tekrar düşme eğilimine girmiştir. G4 gübresinde olgunlaştırma sürecinin başlangıcında fungus sayısı 4,10 olup sürecin 4. ayında yine aynı değeri göstermiştir ve aralarında istatistiksel olarak farklılık gözlemlenmemiştir. 3. ayında fungus sayısı en yüksek (4,65) seviyesine ulaşmıştır.

Kompost ve gübreler arasında aylar içerisinde yapılan değerlendirme sonucu (0-4. aylar arası) en yüksek fungus sayısı G5 kompostundan elde edilmiş olup, en yüksek değere (4,81) 2. ve 3. ayda ulaşmıştır. 4. ayda yapılan değerlendirme sonucunda kompost ve gübrelerden elde edilen fungus sayılarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlemlenmemiştir. Çalışmada kullanılan materyallerin aylar içerisindeki sıralaması ise şu şekilde olmuştur; 1. aydaki sıralama G5, G1, G4, G2 ve G3, 2. ayda G5, G4, G1, G3 ve G2, 3. ayda ise G5, G1, G4, G2 ve G3.

Kompost içerikli çalışmalar içerisinde organik madde olarak denenen sarıyonca anızı (2,5 ton) ya da balık ununun (2,5ton) *S. sclerotiorum*' un karpogenik çimlenmesini engellediği ve bunun etkisi ile de *S. sclerotiorum*' un neden olduğu bezelye küfünün şiddetini ve etki alanını azalttığını bildirmişlerdir (Huang ve ark. 2005). *S. sclerotiorum*' un biyolojik savaş etmeni olan *C. minitans*' ın toprak uygulaması sırasında gübre uygulaması (N-P-K) ile birleştirilip ve ticari gübrelerle uyumluluğunu ortaya koydukları çalışmayla bileşik gübreler ile *C. minitans*' ın *in vitro* ortamda *S. sclerotiorum*' un misel gelişimi ile konidial çimlenmesini engellediğini *C. minitans*' ın yağlı tohum kolzasının gövde çürüklük etmeni olan *S. sclerotiorum*' un baskılanmasında bileşik gübreler ile kullanımında ürün verimliliğinin artışında bir avantaj olduğunu bildirmişlerdir (Yang ve ark. 2011). Organik madde olarak sera koşullarında denenen brokoli bitki materyalinin domateslerde sorun olan *S. sclerotiorum* ve *Sclerotium rolfsii*' e karşı hastalık şiddetini azaltmada önemli bir etkiye sahip olduğunu ve benomyl (fungisit) karışımı ile uygulandığı zaman % 100 etki gösterdiğini belirlemişlerdir (Irshad ve Onoğur 2001). Yapılan bir diğer benzer çalışmada seralarda yetiştirilen hıyar bitkilerinde *S. sclerotiorum*' un neden olduğu beyaz çürüklük etmeni için tavuk gübresi ve tavuk gübresi + solarizasyon karışımı uygulanmış ve sklerot canlılığını azaltmada önemli sonuçlar elde ettiklerini öne sürmüşlerdir (Yanar ve ark. 2004).

Kompost ve gübrelerden yapılan izolasyonlarda genel popülasyonu temsil eden farklı morfolojik yapıda 37 bakteriyel izolat ve 5 fungal izolat elde edilmiştir. Mevcut bakteriyel izolatlar arasından 14 izolatın tanısı yapılabilmiş ve elde edilen izolatlara cins düzeyinde bakıldığında büyük bir kısmının *Bacillus* spp. (%80), fungal izolatların ise 4 tanesinin *Penicillium* spp. ve birinin *Aspergillus* sp. olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4).

Elde edilen bakterilerin dağılımına bakıldığında *Bacillus* spp. en fazla G2' den izole edilirken bunu sırası ile G5, G1 ve G4 takip etmiştir. G3' den izole edilen bakteriler arasında *Bacillus* spp.' e rastlanılmamıştır. İzole edilen fungusların büyük çoğunluğunu oluşturan *Penicillium* spp. en fazla G2' den izole edilirken, en az G3 ve G1' den izole edilmiştir.

Çizelge 4.3. Kompost ve Gübrelerden izole edilip yağ asidi metil ester profillerine göre tanısı yapılan antagonist bakteri izolatları

İzolat No	Tür Adı
G2B:3:7	<i>Bacillus atrophaeus</i> (0.392), <i>Virgibacillus pantothenicus</i> (0.321)
G2B:0:4	<i>Bacillus thuringensis-israelensis</i> (0.512)
G2B:3:7	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (0.812)
G5B:1:3	<i>Bacillus subtilis</i> (0.473), <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (0.518)
G4B:0:4	<i>Bacillus pumilis</i> (0.522),
G5B:0:5	<i>Bacillus cereus</i> (0.617)
G5B:3:5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (0.352)
G2B:1:4	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (0.946)
G1B:2:5	<i>Virgibacillus pantothenicus</i> (0.537)
G2B:5:4	<i>Bacillus pumilis</i> (0.564)
G3B:3:5	<i>Bacillus subtilis</i> (0.437)
G1B:3:6	<i>Bacillus cereus</i> (0.642)
G5B:3:5	<i>Bacillus pumilis</i> (0.203), <i>Bacillus megaterium</i> (0.532)
G5B:0:5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (0.352), <i>Bacillus thuringensis-israelensis</i> (0.489)

Teşhisi yapılabilen 14 bakteriyel izolat arasından *Bacillus subtilis* (G5B:1:3), *Bacillus cereus* (G5B:0:5), *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:3:5), *Bacillus pumilis* (G5B:3:5), *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:0:5) G5' den izole edilirken; *Bacillus atrophaeus* (G2B:3:7), *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4), *Bacillus pumilis* (G2B:5:4) G2'den; *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus pumilis* (G4B:0:4) G4' den; *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5), *Bacillus cereus* (G1B:3:6) G1' den izole edilmiştir.

Antagonist etki gösteren 14 bakteriyel izolattan 5 tanesi G2'den, 5 tanesi G5' ten, 1 tanesi G4' ten ve diğer 2 tanesi G1 kompostundan, 1 tanesi de G3 gübresinden izole edilmiştir. Antagonistik potansiyele sahip bakteriyel ve fungal isolatlar farklı zamanlarda yapılmış izolasyonlardan elde edilmiştir. En yüksek antagonistik yeteneğe sahip *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus amyloliquefiacens* (G5B:3:5), *Bacillus atrophaeus* (G2B:3:7) izolasyonun 3. ayında elde edilirken, *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4) ve *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:0:5) kompostlama sürecinin başlangıcında ilk izolasyondan elde edilmiş, *Bacillus subtilis* (G5B:1:3) izolasyonun 1. ayında elde edilirken, en düşük antagonistik yeteneğe sahip *Bacillus pumilis* (G2B:5:4) kompostlamanın 2. ayında yapılmış olan izolasyondan elde edilmiştir.

Çizelge 4.4. Kompost ve Gübrelerden izole edilip tanısı yapılan antagonist fungal isolatları

İzolat No	Tür Adı
G3F:1:6:30	<i>Penicillium spp.</i>
G1F:2:5:32	<i>Penicillium spp.</i>
G2F:2:4:5	<i>Penicillium spp.</i>
G2F:3:6:8	<i>Aspergillus spp.</i>
G3F:3:4:20	<i>Penicillium spp.</i>

Teşhisi yapılabilen 5 fungus izolatu arasından *Penicillium spp.* (G3F:1:6:30) G3'ten, *Penicillium spp.* (G1F:2:5:32) G1 kompostundan, *Penicillium spp.* (G2F:2:4:5) G2 den, *Aspergillus spp.* (G2F:3:6:8) G2'den, *Penicillium spp.* (G3F:3:4:20) G3 den izole edilmiştir. Çalışmada kullanılan *S.sclerotiorum*' a karşı antagonizm gösteren 5 fungal izolatin 1' i G1 kompostundan, 2' si G2 den, diğer 2 tanesi de G3' ten izole edilmiştir. G4 ve G5' den elde edilen fungus türlerinde antagonist etki görülmediği için ikili kültür testlerinde kullanılmamışlardır.

Fungal isolatlardan en yüksek antagonistik yeteneğe sahip *Penicillium spp.* (G3F:1:6:30) ve *Penicillium spp.* (G1F:2:5:32) kompostlama sürecinin başlangıcında ilk izolasyondan elde edilirken *Penicillium spp.* (G2F:2:4:5) kompostlamanın 2. ayında yapılan 2. izolasyondan, *Aspergillus spp.* (G2F:3:6:8) ise kompostlamanın 3. Ayında yapılan 1. izolasyondan elde edilmiştir.

Yapılan benzer çalışmalarda *Bacillus* spp. izolatının gerek *in vitro* gerekse *in vivo* koşullarda birçok bitkide sorun olan fungal patojenin gelişimini engelledikleri ortaya konulmuştur (Thomashow ve Weller, 1988; Brannen ve Backman, 1994; Buysens ve ark., 1996; Chin-a-Woeng ve ark., 1998; Gupta ve ark., 1999; Chen ve ark., 2001; Ramamoorthy ve Samiyappan, 2001; Ramamoorthy ve ark., 2002). *Bacillus subtilis*' in *in vitro* koşullarda PDA üzerinde 48 h geliştirdikten sonra ikili kültür tekniği kullanılarak *S. rolfsii* ve *S. sclerotiorum*' a karşı antagonizm etkisinin varlığını bildirmişlerdir (Baum ve ark., 1990). *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Erwinia herbicola* gibi bakteri izolatlarının *in vitro* koşullarda ikili kültür testlerindeki antagonizm potansiyelleri PDA içeren petri kaplarında *Fusarium oxysporum* ve *S.sclerotiorum*' a karşı denenmiştir. İkili kültür petrilerinde inkübasyondan 5 (*S. sclerotiorum*) ve 7 (*Fusarium oxysporum*) gün sonra oluşan engelleme zonları ölçülmüştür ve elde edilen engelleme zonlarına göre bakteriler 3 grup altında incelenmiştir. Engelleme zonu 1-5 mm. olanlar zayıf, 5-9 mm. arası olanlar etkili, 10 mm üzeri olanlar güçlü antagonist olarak değerlendirilmiştir (Berg ve ark. 2001). Antibiosis, siderofor üreterek demir için rekabet, bitki gelişiminin ve dayanıklılığın teşvik edilmesi gibi mekanizmalar antagonist bakteriler tarafından hastalığın engellenmesinde kullanılan mekanizmalar olarak gösterilmiştir (Scher ve Baker, 1980; Elad ve Baker, 1985; Neilands, 1986; Schppers ve ark., 1987; Fravel, 1988; Weller, 1988; Tüzün ve Kloepper, 1994). *Bacillus* spp.' nin subtilin, bacilylsn, mycobacillin ve iturin A. gibi antimikrobiyal bileşiklerin patojen gelişimini engellemede rol oynadığı bildirilmiştir (Walker ve Abraham, 1970; Sengupta ve ark., 1971; Gross ve ark. 1973; Pierson ve Thomashow, 1992; Frindlender ve ark., 1993; Maurhofer ve ark., 1995; Pierson ve ark., 1995; Buysens ve ark.,1996; Keel ve ark., 1996; Thomashow ve Weller, 1996; Loper ve ark., 1997; Thomashow ve ark., 1997; Anjiah ve ark., 1998; Raaijmakers ve Weller, 1998; Robleto ve ark., 1998; Chen ve ark., 2001; Tambong ve Höfte, 2001; Ramamoorthy ve ark., 2002). Kompostlama sürecinin antagonizm üzerine olan etkinliği değerlendirildiğinde kompostun olgunlaşma sürecinin antagonist potansiyele sahip mikroorganizmaların artışı ile doğrudan bir ilişkisinin olmadığı görülmüştür. Yapılan benzer bir çalışmada kompost olgunlaşma düzeyinin antagonist mikroorganizmaların sayısı ile ilişkili olduğunu (Suarez-Estrella, 2007), diğer bazı çalışmalarda ise aşırı olgunlaşmış kompostların

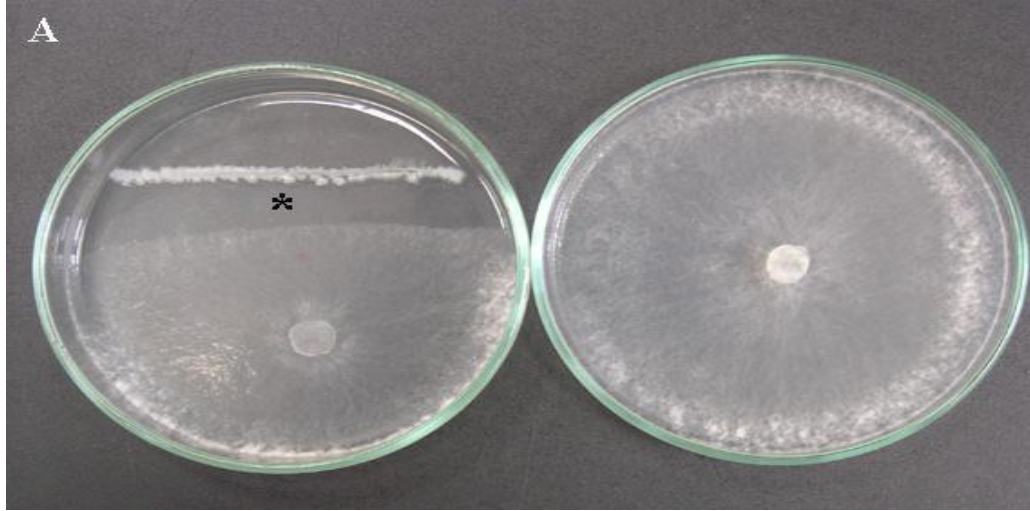
biyolojik savaş etmenlerinin aktivitesinin desteklemedikleri bildirilmiştir (Workneh ve ark., 1993; Hoitink ve ark., 1997).

Gübre ve kompostlardan izole edilen bakteriyel antagonist izolatların özellikle soya fasulyesinde *Sclerotinia* gövde çürüklük etmeni *S. sclerotiorum*' a buğdayda siyah bacak hastalığı etmeni *Gaeumannomyces graminis var. tritici*' ye tütünde siyah kök çürüklük etmeni *Theilaviopsis basicola*' ya; domates, hıyar nohut ve karpuzda *Fusarium* solgunluğu etmenleri olarak bilinen (*F. oxysporum f. sp. lycopersici*, *F. melonis*, *F. ciceris*, *F. niveum*) etmenlerinin gelişimini önemli düzeyde engelledikleri belirlenmiştir (Weller ve Cook, 1983; Weller ve ark., 1985; Weller, 1988; Lemanceau ve Alabouvette, 1993; Tamiette ve ark., 1993; Keel ve ark., 1996; Larkin ve ark., 1996; Landa ve ark., 1997; Raaijmakers ve ark., 1997; Raaijmakers ve Weller, 1998; Giacomodonato ve ark., 2001).

4.2. Fungus ve Bakteri İzolatları İle *in vitro* Çalışmalar

4.2.1. İkili Kültür Testlerinde Fungus ve Bakterilerin Fungal Patojen *Sclerotinia sclerotiorum*' un Miselyal Gelişimine Etkileri

Kompost ve gübrelerden elde edilen her izolatın *S. sclerotiorum*' a karşı antagonist etkinliği ikili kültür testleri ile belirlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6). İkili kültür testleri sonucunda 37 bakteri izolatı ve 5 fungus izolatı test edilen fungal patojene karşı değişik oranlarda antagonist etki göstermiştir. Çalışmalardan elde edilen ve ikili kültür testlerine tabi tutulmuş antagonist potansiyele sahip bakteriyel izolatların çoğunluğunu (% 90) *Bacillus* spp. (Şekil 4.2) ve fungal izolatların çoğunluğunu ise (% 80) *Penicillium* spp. oluşturmuştur. Yapılan çalışmalarda *S. sclerotiorum*' un *in vitro* gelişimi en yüksek düzeyde *Bacillus* spp. izolatları tarafından engellenmiştir.



Şekil 4.2. Soya küspesinden elde edilen *Bacillus subtilis* (G5B:1:3) izolatının *in vitro* koşullarda fungal hastalık etmeninin gelişimini engellemesinin ikili kültür testlemeleri ile belirlenmesi. (A), antagonistik özellik gösteren bakteri izolatı tarafından oluşturulan engellenme bölgesinin gözlendiği (*) ikili kültür petrisi

Kompost ve gübrelerden izole edilen 228 bakteriyel (koloni) hücreden rastgele seçilmiş 37 adet izolatın *S. sclerotiorum*' a karşı antagonist etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemeler sonucunda en yüksek antagonist etkiyi % 88 engelleme yüzdesi ile *Bacillus subtilis* (G3B:3:5) kodlu izolat, bunu sırası ile *Bacillus cereus* (G1B:3:6), *Bacillus pumulis* (G5B:3:5), *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4), *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:0:5) kodlu izolatlar takip etmiştir.

Çizelge 4.5. Seçilmiş bakteri izolatlarının *in vitro* koşullarda *Sclerotinia sclerotiorum*' un gelişimini engellemesi üzerine (%) etkisi

Bakteriyel İzolat	Miselyal Gelişimi (cm)	% Engelleme
Kontrol	4,00 m	0,00
G3B:1:3	1.2 abcde	70
G1B:1:3	1.6 defgh	60
G2B:0:4	0.96 abcd	76
G5B:1:5	1.33 bcdef	66
G4B:0:4	1.5 cdef	62,5
G5B:0:5	1 abcd	75
G1B:2:6	2.43 jklm	39
G2B:2:5	3.33 mno	16,7
G3B:2:4	2.13 ijklm	46
G3B:2:5	1.86 fghi	53
G4B:2:7	1.73 efghi	56
G5B:2:5	2.33 lmp	41
G2B:2:4	1.63 defghi	59
G2B:3:4	2.03 hijk	49
G2B:3:7	0.93 abcd	76
G5B:3:5	0.70 abc	82
G3B:3:5	0.46 a	88
G3B:3:3	1.53 cdef	61
G1B:3:6	0.66 ab	83
G2B:3:2	2.16 jklm	46
G1B:4:6	2.30 klmn	42
G2B:4:4	2.33 jklm	43
G3B:4:4	2.63 klmn	34
G3B:4:7	2.16 ijklm	46
G4B:4:6	1.96 ghij	51
G2B:4:7	1.90 ghij	52
G3B:4:6	2.43 jklm	39
G5B:5:6	2.16 klmn	42
G3B:5:3	2.60 klmn	35
G1B:5:5	2.4 ijkl	40
G2B:5:4	2.76 lmn	31

Çizelge 4.5' in devamı

Bakteriyel İzolat	Miselyal Gelişimi (cm)	% Engelleme
G2B:5:5	2.8 mn	30
G3B:5:6	1.83 fghi	54
G1B:2:5	1.16 abcde	71
G5B:1:5	1.56 defg	61
G5B:3:3	1.86 fghi	53

Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey's Test, $P \leq 0.05$)

Daha önce yapılan birçok benzer çalışmada kompostlardan izole edilen bakteriyel ve fungal izolatların *S. sclerotiorum*' a karşı antagonist potansiyelleri belirlenmiş olup özellikle *Bacillus* spp. ve *C. minitans*' ın, *S. sclerotiorum*' u baskılayabildiği ve bunların ırkları ile biyolojik mücadelenin sağlanabileceğini bildirilmiştir (Mansour ve ark., 2008;; Huang ve ark., 2008; Yang ve ark.,2009-2011). Beyaz çürüklüğe neden olan *S. sclerotiorum*' un sklerot ve miselyal gelişimini engellemede *B. amyloliquefaciens*' in önemli antagonist etkiye sahip olduğunu (Mansour ve ark., 2008), *S. sclerotiorum*' un umut veren biyolojik savaş etmeni olan *C. minitans*' ın gübre ile eş zamanlı uygulamaların da, *S. sclerotiorum*' un sklerotlarıyla üretilen apotesyum sayısını azalttığı, karpogenik çimlenmeyi baskılamak için herhangi bir olumsuz etki göstermediği ve ürün verimliliğinin artmasında bir avantaj olduğu bildirilmiştir (Yang ve ark., 2011).

Bacillus subtilis türünün (MS-18) fermentasyonu sonucu yapılan arazi çalışmalarında hastalığın yoğunluğunu ve şiddetini azalttığını ve *B. subtilis*' in umut verici bir biyolojik savaş etmeni olduğu ifade edilmiştir (Yang ve ark., 2008). *C. minitans* CON/M/91-08, *Streptomyces lydicus* WYEC 108, *B. subtilis* QST713, *Trichoderma harzianum* T-22' nin *S. sclerotiorum*' un apotesyum ve sklerotlarını engellemedeki oranlarının önemli sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir (Zeng ve ark., 2012). *Bacillus amyloliquefaciens* zinciri ARP23 ve MEP218 tarafından soya fasulyesinde hastalık etmeni olan *Sclerotinia* kök çürüklüğünü kontrol etme çalışmalarında sklerot çimlenmesini, miselyal gelişmeyi ve morfolojideki değişiklikleri baskılamada önemli biyolojik mücadele etmeni olduğunu belirlemişlerdir (Alvarez ve

ark., 2011). *Bacillus* spp. BPR7 ırkının *in vitro* ortamda *S. sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* gibi birkaç fitopatojenin büyümesini baskılamada önemli biyolojik savaş etmeni olduğunu belirlemişlerdir (Kumar ve ark., 2012).

Soylu ve ark. 2002' de biber rizosferlerinden izole edilen bakteri izolatlarının *S. sclerotiorum* gibi toprak kökenli fungal etmenlerin gelişimini ikili kültür denemelerinde değişik oranlarda engellediklerini, *S. sclerotiorum*' un fungal gelişimi en yüksek düzeyde *Bacillus* spp. izolatları tarafından engellendiği belirlemişlerdir.

Çizelge 4.6. Seçilmiş bazı fungal izolatların *in vitro* koşullarda *Sclerotinia sclerotiorum*' un gelişimini engellemesi üzerine (%) etkisi.

İzolat No	Fungal Gelişim (cm)	İki izolat arasında gözlenen engelleme zon uzunluğu (cm)
Kontrol	4.0d	0
G3F:1:6:30	1.5ab	1.2
G1F:2:5:32	1.7abc	1.1
G2F:2:4:5	1.33a	0.3
G2F:3:6:8	1.83bc	0.6
G3F:3:4:20	2.1c	0.7

Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey test, $P \leq 0.05$)

Kompostlardan izole edilen toplam 32 fungal (koloni) hücreden rastgele seçilmiş 5 adet izolatın *S. sclerotiorum*' a karşı antagonist etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan denemeler sonucunda *Penicillium* spp. (G3F:1:6:30), *Penicillium* spp. (G1F:2:5:32), nolu izolatların antagonist etkili oldukları gözlemlenmiştir (Şekil 4.3). Diğer izolatlarda *Penicillium* spp. (G2F:2:4:5), *Aspergillus* spp. (G2F:3:6:8), *Penicillium* spp. (G3F:3:4:20) ise engelleme zonu sırası ile (0.3, 0.6, 0.7) olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.3. Büyükbaş hayvan gübresinden elde edilen *Penicillium* spp. (G2F:2:4:5) izolatının *in vitro* koşullarda fungal hastalık etmeninin gelişimini engellemesinin ikili kültür testlemeleri ile belirlenmesi. (A), antagonistik özellik gösteren fungus izolatı tarafından oluşturulan engellenme bölgesinin gözlemlendiği (*) ikili kültür petrisi

4.2.2. Ön İnkübasyon Süresinin Bakterilerin Antagonist Potansiyelleri Üzerine Olan Etkinliği

Ön inkübasyon süresinin antagonizm potansiyeli üzerine olan etkinliğinin belirlenmesi amacıyla antagonist etki gösteren izolatlar arasından rastgele seçilen *Bacillus pumilis* (G4B:1:4), *Bacillus cereus* (G1B:2:6), *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5), Tanısı yapılamadı (G2B:3:4), *Stenotrophomonas maltophilia* (G2B:3:7), *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus pumilis* (G2B:5:4), *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5) kodlu izolatlar denemede kullanılmıştır. Bu çalışmada, bakterilerin ön inkübasyon süresiyle antagonistik potansiyelleri arasındaki ilişki *S. sclerotiorum*' a, karşı araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar ön inkübasyon süresiyle (1, 24, 48 ve 72 saat) bakterilerin antagonist potansiyelleri arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu göstermiştir (Çizelge 7).

Çizelge 4.7. Seçilmiş bazı antagonist bakteri izolatların *in vitro* koşullarda fungal hastalık etmeni *S. sclerotiorum*' un gelişimini engellemesi üzerine ön inkübasyon sürelerinin etkisi

Bakteriyel İzolatlar	Ön İnkübasyona Bağlı Miselyal Gelişim (cm)			
	1h	24h	48h	72h
Kontrol	4.0 np	4.0 np	4.0 np	4.0 np
G4B:1:4	2.23 jkl	2 ghijk	1.5 bcdefg	1.13 abc
G1B:2:6	3.03 m	2.16 ijkl	1.73 defghij	1.56 cdefg
G5B:2:5	1.73 deg hijk	1.5 bcdefg	1 ab	0.86 a
G2B:3:4	2.66 lm	2.16 ijkl	1.16 cdefghi	1.26 abcde
G2B:3:7	3.16 m	2.23 jkl	1.93 ghijk	1.60 cdefg
G3B:3:5	2.66 lm	2.13 hijkl	1.73 defghij	1.20 abcd
G2B:5:4	2.36 kl	2 ghijk	1.63 cdefghi	1.36 abcdef
G1B:2:5	2 ghijk	2 ghijk	1.86 fghijk	1.80 efghij

Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Tukey's Test, $P \leq 0.05$)

Yapılan bu değerlendirmede antagonist etki gösteren izolatlar arasından rastgele seçilen *Bacillus pumulis* (G4B:1:4), *Bacillus cereus* (G1B:2:6), *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5), Tanısı yapılamadı (G2B:3:4), *Stenotrophomonas maltophilia* (G2B:3:7), *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus pumulis* (G2B:5:4), *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5) kodlu izolatların en yüksek antagonist etkiyi 72. saatte gösterdiği ve miselyal gelişimin sırasıyla 1.13 cm, 1.56 cm, 0.86 cm, 1.26 cm, 1.60 cm, 1.80 cm, 1.36 cm ve 1.20 cm olduğu belirlenmiştir. 72 saatten sonra en yüksek antagonist etki 48. saat ile devam etmiş olup, bu sırayı 24. saat ve 1. saat takip etmiştir, 48-24-1. saatlerdeki antagonizm potansiyeli değerlendirmesinde miselyal gelişimi ise değişik oranlarda engellemişlerdir. 72. saatten 1. saate doğru ilerledikçe miselyal gelişim engellenmesi azalmıştır.

Aynı ön inkübasyon saatleri arasında 1. saatte en yüksek antagonist etkiyi *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5) ve *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5) kodlu izolatlar (1.73 cm, 2 cm) göstermiş olup bunu sırası ile *Bacillus pumulis* (G4B:1:4), *Bacillus pumulis* (G2B:5:4), *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), Tanısı yapılamadı (G2B:3:4) ve *Stenotrophomonas maltophilia* (G2B:3:7) kodlu izolatlar takip etmiştir. *Bacillus subtilis* (G3B:3:5) ve Tanısı yapılamadı (G2B:3:4) kodlu izolatlar arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı belirlenmiştir. 24. saatte en yüksek antagonist etkiyi *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5) kodlu izolatın gösterdiği, *Bacillus pumulis* (G4B:1:4), *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5), *Bacillus pumulis* (G2B:5:4), Tanısı yapılamadı (G2B:3:4) ve *Bacillus cereus* (G1B:2:6) kodlu izolatlar arasında istatistiksel olarak bir farkın olmadığı, en düşük antagonist etkiyi *Stenotrophomonas maltophilia* (G2B:3:7) kodlu izolatın gösterdiği tespit edilmiştir.

Ön inkübasyonun 48. saatinde en yüksek antagonist etkiyi *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5) kodlu izolatın, bunu sırası ile (G2B:3:4) Tanısı yapılamadı, *Bacillus pumulis* (G4B:1:4), *Bacillus pumulis* (G2B:5:4), *Bacillus cereus* (G1B:2:6), *Bacillus subtilis* (G3B:3:5) ve *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5) kodlu izolat takip etmiştir. *Bacillus cereus* (G1B:2:6) ve *Bacillus subtilis* (G3B:3:5) kodlu izolatlar arasında istatistiksel olarak bir fark olmadığı belirlenmiştir. 72. saatte en yüksek antagonist etkiyi *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5) kodlu izolat göstermiş olup, sırası ile *Bacillus pumulis* (G4B:1:4), *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), Tanısı yapılamadı (G2B:3:4), *Bacillus pumulis* (G2B:5:4), *Bacillus cereus* (G1B:2:6), *Stenotrophomonas maltophilia* (G2B:3:7) ve *Virgibacillus pantothenicus* (G1B:2:5) nolu izolatların takip ettiği belirlenmiştir.

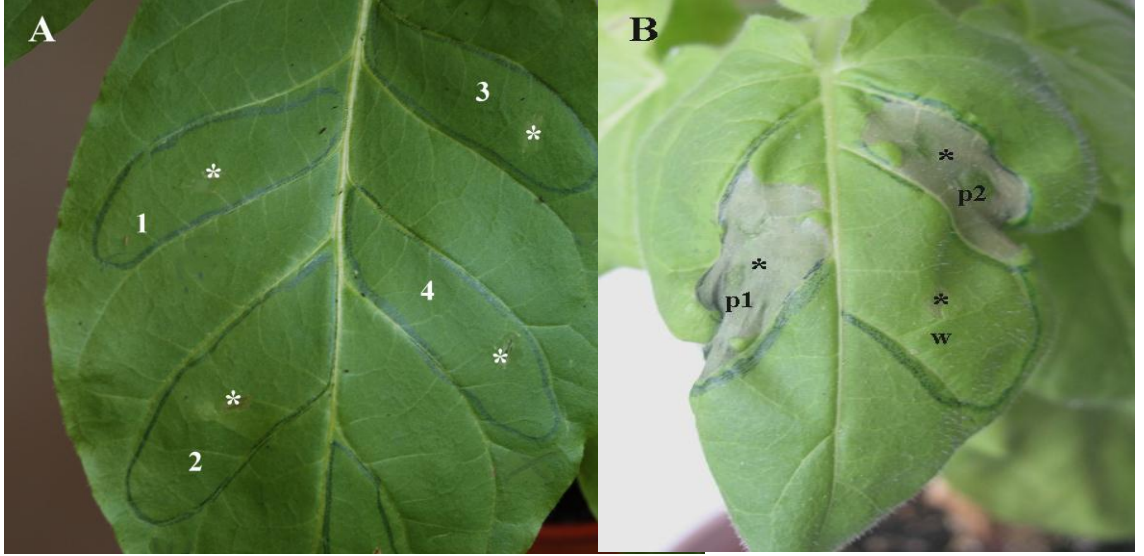
Ön inkübasyon süresinin antagonizm potansiyeli üzerine olan etkinliğinin belirlenmesi amacı ile yapılan genel değerlendirme sonunda en iyi etkiyi *Bacillus cereus* (G1B:2:6) nolu izolat göstermekle birlikte yalnızca antagonist açıdan değerlendirildiğinde *Bacillus amyloliquefaciens* (G5B:2:5) nolu izolatın diğer izolatlar arasında en iyi antagonist etkiyi gösterdiği tespit edilmiştir. Ön inkübasyon süresinin, üretilen antifungal bileşiklerin konsantrasyonlarının yükselmesine katkıda bulunarak fungal etmenlerin miselyal gelişimlerinin engellenmesinde rol oynadığı yapılan diğer çalışmalarda da bildirilmiştir (Yoshida ve ark. 2001; Tekin, 2004; Soylu ve ark. 2005; Yılmaz, 2008; Çakırbey, 2012).

4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HR= Hypersensitive Reaction)

Kompost materyallerinden elde edilen 37 bakteriyel izolat arasından teşhisi yapılabilen 14 izolat ile tütünde aşırı duyarlılık testi (HR) yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre kullanılan izolatların (Çizelge 4.8) hiçbirisi HR göstermemiştir (Şekil 4.3). Bu durum izole edilen antagonist bakterilerin hiçbirinin bitki patojeni olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.8. Tütünde aşırı duyarlılık testi (HR= Hypersensitive Reaction) ne tabi tutulan bakteri izolatları

İzolat No	Tür Adı
G2B:3:7	<i>Bacillus atrophaeus</i>
G2B:0:4	<i>Bacillus thuringensis-israelensis</i>
G2B:3:7	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
G5B:1:3	<i>Bacillus subtilis</i>
G4B:0:4	<i>Bacillus pumilis</i>
G5B:0:5	<i>Bacillus cereus</i>
G5B:3:5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
G2B:1:4	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
G1B:2:5	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>
G2B:5:4	<i>Bacillus pumilis</i>
G3B:3:5	<i>Bacillus subtilis</i>
G1B:3:6	<i>Bacillus cereus</i>
G5B:3:5	<i>Bacillus pumilis</i>
G5B:0:5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>



Şekil 4.4. Farklı kompostlardan elde edilen antagonist izolatlar (**A**) ve patojenik bakteri izolatlarının (**B**) tütün yapraklarındaki inokulasyon noktalarında (*) oluşturduğu aşırı duyarlılık reaksiyonları (HR testi). Damar aralarında gösterilen 1, 2, 3 ve 4 sayıları herhangi bir reaksiyona sebep olmayan farklı antagonist izolatlarının inokulasyon noktalarını; p1 ve p2 HR tepkimesine neden olmuş bitki patojeni bakteri izolatının inokulasyon noktalarını; w, ise herhangi bir reaksiyona sebep olmayan steril su inokulasyonunu gösterir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez projesi kapsamında hazırlanmış gübre ve kompostlar oldukça zengin ve etkili mikroorganizmalara konukçuluk etmektedir. Bu gübre ve kompostlardan elde edilen antagonist potansiyele sahip mikroorganizmaların beyaz çürüklük etmeni olarak karşımıza çıkan *Sclerotinia sclerotiorum*' un mücadelesinde etkin bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. Çalışmada kullanılan *S. sclerotiorum*' a karşı en yüksek düzeyde antagonist etkiye sahip olan G3F:1:6:30 (*Penicillium* spp.), G1F:2:5:32 (*Penicillium* spp.), G2F:2:4:5 (*Penicillium* spp.) ve G2F:3:6:8 (*Aspergillus niger*), G3F:3:4:20 (*Penicillium* spp.) kodlu fungal izolatlar ile, G3B:3:5 (*Bacillus subtilis*), G1B:3:6 (*Bacillus cereus*), G5B:3:5 (*Bacillus pumilis*), G2B:0:4 (*Bacillus thuringiensis*) , G5B:0:5 (*Bacillus amyloliquefaciens*) kodlu bakteriyel izolatlardır. Bakteriyel izolatlar arasından G2B:0:4, G3B:3:5 ve G1B:3:6 izolatlarının bu hastalık etmeninin, ürünlerde sebep olduğu kayıpları engellemede kullanılabilecek bir araca doğrudan (biyolojik preparat) dönüştürülebileceği düşünülmektedir. Biyolojik mücadele kapsamında tüm gübre ve kompostlar, içerisinde bulundurdıkları potansiyel mikroorganizmalar açısından zenginlik göstermekle birlikte, G3B:3:5 nolu bakteri izolatu G3 (Tavuk gübresi % 100) gübresinden, G1B:3:6 nolu bakteri izolatu G1 kompostundan (Büyükbaş hayvan gübresi 20, üre %30, soya küspesi %50) izole edilmiş olduğundan bu kompostların doğrudan kullanılması önerilebilir. Kompostlardan izole edilen mikroorganizmaların laboratuvar koşullarında geliştirilen mikroorganizmalara oranla gerek ortama daha hızlı adaptasyon sağlaması gerekse minimum düzeyde yetiştirme şartlarına ihtiyaç duyulması nedeniyle biyolojik mücadeledeki başarı şanslarının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Larkin ve ark., 1996). Pek çok *Bacillus* spp. antimikrobiyal bileşikler üretmelerinin yanı sıra, olumsuz çevre koşullarına dayanıklı spor oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Bu sporlar kolaylıkla uygun teknolojilerle biyolojik preparatlara dönüştürülerek birçok bitki hastalığının kontrolünde kullanılabilmektedir (Emmert ve Hendelsmann, 1999). Bu dönüşüm gerek bakteri hücresinin doğrudan kullanılması ile gerekse yapılacak olan kimyasal analizlerle belirlenecek olan bakterilerin üretmiş olduğu antimikrobiyal metabolit(ler) saflaştırılarak sentetik olarak üretilip biopreparat olarak kullanılabilir.

Bu antagonistlerin *in vivo* koşullarda *Sclerotinia sclerotiorum*' a karşı kullanılma potansiyellerinin araştırılmasıyla biyolojik preparat olarak kullanıma en uygun olanın seğimi ve hastalığı engellemede kullandıkları mekanizmaların belirlenmesi üzerine ęalıřmalar gelecekte sũrdũrũlmelidir.

KAYNAKLAR

- Abawi, G.S., Grogan, R.G., 1979. Epidemiology of diseases caused by *Sclerotinia* species, **Phytopathology**, **69**, 899-904.
- 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.
- Alvarez, F., Castro, M., Principe, A., Borioli, G., Fischer, S., Mori, G., Jofre, E., 2011. The plant associated *Bacillus amyloliquefaciens* strains MEP218 and ARP23 capable of producing the cyclic lipopeptides iturin or surfactin and fengycin are effective in biocontrol of *Sclerotinia* stem rot disease. **Journal of applied microbiology** **112**:159-174.
- Andreoli, Y.E., Laich, F.S., Navarro, C.A., 1993. *In vitro* control of *Sclerotinia sclerotiorum* and *Gaeumannomyces graminis* by bacteria of the fluorescent *Pseudomonas* group. **Review of Argentinian Microbiology**, **25**:70-79.
- Anjaiah, V., Koedam, N., Nowak-Thomson, B., Loper, J.E., Höfte, M., Tambong, J.T. and Cornelis, P., 1998. Involvement of phenazines and anthranilate in the antagonism of *Pseudomonas aeruginosa* PNA1 and Tn5 derivatives toward *Fusarium* spp. and *Pythium* spp. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, **11**: 847-854.
- Anonim, 2010. Tarımda üre kullanımı, www.ziraatciyiz.biz
- Anonim, 2010. Soya yetiştiriciliği ve tarımda kullanımı, Hatay Tarım İl Müdürlüğü
- Arıcı, E. ve Basım, E., 2001. Determination of fungal pathogens of pepper and eggplant in the province of Isparta and Burdur. **International XIth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant**, pp. 320-322, Antalya-Turkey.
- Ayers, W.A. and Adams, P.B., 1981. Mycoparasitism and its application to biological control of plant disease. In Biological Control. **Crop Production Beltsville Symposium in Agricultural Research**, vol. 5. New jersey: Allenheld, Omsun & Co., pp. 91-103.
- Ayers, W.A., Adams P.B., 1991. Mycoparasitism and its application to biological control of plant disease. In Biological Control. in **Crop Production Beltsville Symposium in Agricultural Research**, vol. 5. (Papavizas, G.C., ed.). New Jersey: Allenheld, Omsun & Co., pp. 91-103.
- Bardin, S.D., Huang, H.C., 2001. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada, **Canadian Journal of Plant Pathology**, **23**, 88-98
- Basım, H., Katırcıoğlu, Y.Z., 1990. Bazı *Bacillus subtilis* izolatlarının bazı bitki patojeni funguslara karşı *in vitro* koşullarda antagonistik etkilerinin araştırılması. **Türkiye II. Biyolojik Mücadele Kongresi 26-29 Eylül Ankara**.
- Berg, G., Fritze, A., Roskot, N. and Smalla, K., 2001. Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae*. **Journal of Applied Microbiology**, **91**: 963-971.
- Brannen, P.M. and Backman, P.A., 1994. Decrease in *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* incidence through use of *Bacillus subtilis* seed inoculants. **Proceeding of the Beltwide Cotton Conference**, 1244-245, Memphis.
- Bolton, M.D., Bart P.H.J., Thomma, B.P.H.J., Nelson, B.D., 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen, **Molecular Plant Pathology**, **7**:1-16

- Buysens, S., Heungens, K., Poppe, J. and Höfte, M., 1996. Involvement of pyochelin and pyoverdine suppression of *Pythium*-induced damping-off of tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2. **Applied and Environmental Microbiology**, 62: 865-871.
- Cavigelli, M.A., Thien, S.J., 2003. Phosphorus bioavailability following incorporation of green manure crops. **Soil Science Society of America Journal**, Volume 67, Issue 4, Pages : 1186-1194.
- Chen, C., Belanger, R.R., Benhamou, N. and Paulitz, T.C., 2001. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) *Pythium aphanidermatum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 56: 13-23.
- Chin-a-Woeng, T.F.C., Bloemberg, G.V., van der Drift, K.M.G.F., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R.J., Keel, C., Bakker, P.A.H.M., Tichy, H.V., de Bruijn, F.J., Thomas-Oates, J.E and Lugtenberg, B.J.J., 1998. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL 1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* . **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 11: 1069-1077.
- Conklin, A.E., Susan, M.E., Liebman, M., Lambert, E.D., Gallandt, R., & William, Halteman, A., 2002. Effects of red clover (*Trifolium pratense*) green manure and compost soil amendments on wild mustard (*Brassica kaber*) growth and incidence of disease. **Plant and Soil**, 238: 245-256.
- Çakırbey, S., 2012. Kavun solgunluk patojeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis*' e karşı farklı kompostlardan elde edilen mikroorganizmaların in vitro antifungal etkileri. Yüksek Lisans Tezi , Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. sayfa 46-48.
- Danon, M., Chen, Y., Hadar, Y., 2010. Ascomycete communities associated with suppression of *Sclerotium rolfsii* in compost. **Fungal Ecology** 3:20-30.
- De Cal, A., Sztejnberg, A., Sabuquillo, P., Melgarejo, P., 2009. Management *Fusarium* wilt on melon and watermelon by *Penicillium oxalicum*. **Biological Control**, 51: 480-486.
- Demir, S.T., Delen, N., 1991. *Sclerotinia* (*Monilinia*) spp. izolatlarının bazı fungusitlere karşı duyarlılıkları üzerinde araştırmalar, **VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, İzmir** s. 275-279.
- Devay, J. E., 1991. Historical review principles of soil solarisation, Page, 1-15 in; *Soil Solarisation*, DeVay, J. E., Stapleton, J. J., and Elmore, C. L., eds. **FAO Plant Prot. Bull.**
- Doğu D. M., Mert-Türk F., 2007. Yıldırım İ., Çanakkale'de lahanagillerde beyaz çürüklük etmeni *Sclerotinia sclerotiorum*'un yaygınlığının ve izolatlar arasındaki varyasyonların saptanması, **Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta**, s. 282.
- Dutta, P., Das, B.C., Islam, M., 2008. Eco- friendly strategies for management of *Sclerotinia* rot of french bean. **J. Biological Control** 22(2):405-410.
- Elad, Y. and Baker, R., 1985. The role of competition for iron and carbon in suppression of clamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. **Phytopathology**, 75: 1053-1059.
- Emmert, E.A.B., and Handelsman, J., 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram -) positive perspective. **FEMS Microbiological Letters**, 171: 1-9.
- Erhart, E., Burian, K., Hartl, W. and Stich, K., 1999. Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. **Journal of Phytopathology**, 147: 299-305.

- Fao, 2009. www.fao.gov.tr
- Flores- Moctezuma, H.E., Montes- Belmont, R., Jimenez-Perez, a., Nava-Juarez, R., 2006. Pathogenic diversity of *Sclerotium rolfsii* isolated from Mexico, and potential control of southern blight through solarization and organic amendments. **Crop Protection** 25:195-201.
- Fernando, W.G.D., Nakkeren, S., Zhang, Y., Savchuk, S., 2007. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. **Crop Protection** 26:100-107.
- Fravel, D.R 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, 26:75-91.
- Frindlender, M., Inbar, J. and Chet, I., 1993. Biological control of soil borne plant pathogens by a *Bacillus subtilis* 1,3-glucanase-producing *Pseudomonas cepacia*. **Soil Biology and Biochemistry**, 25: 1211-1221.
- Giacomodonato, M.N., Pettinari, M.J., Souto, G.I., Mendez, B.S. and Lopez, N.I., 2001. A PCR-based method for the screening of bacterial strains with antifungal activity in suppressive soybean rhizosphere. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 17: 51-55.
- Gorodecki, B., Hadar, Y., 1990. Suppression of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* in container media containing composted separated cattle manure and composted grape marc. **Crop Protection**, 9: 271-274.
- Giesler, L.J., and Yuen, G.Y., 1998. Evaluation of *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 for biocontrol of Brown patch disease. **PII: S0261-2194:00049-0**
- Glick, B. R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. **Canadian Journal of Microbiology**, 41: 109-117.
- Gossen, B.D., Rimmer S.R., Holley J.D., 2001. First report of resistance to benomyl fungicide in *Sclerotinia sclerotiorum*, **Plant disease**, 85:1206.
- Groos, E., Kiltz, H. and Nebelin, E., 1973. Subtilin IV: the Structure of subtilin. **Z. Physiol. Chem.**, 354: 810-812.
- Gupta, C.P., Sharma, A., Dubey, R.C. and Maheshawari, D.K., 1999. *Pseudomonas aeruginosa* (GRC1) as a strong antagonist of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum*. **Cytobios**, 99: 183-189.
- Hadar, Y. and Mandelbaum, R., 1986. Suppression of *Pythium aphanidermatum* damping-off in container media containing composted liquorice roots. **Crop Protection**, 5: 88-92.
- Hoitink, H.A.J., Fahy, P.C., 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. **Annu. Rev. Phytopathol**, 24, 93–114.
- Hoitink, H.A.J., Boehm, M.J., Hadar, Y., 1993. Mechanisms of suppression of soilborne plant pathogens in compost-amended substrates. In: Hoitink, H.A.J., Keener, H.M. (Eds.), *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. Renaissance Publications, Worthington, OH, pp. 601–621. *anual de cultivo sin suelo*. Universidad de Almería, Spain.
- Hoitink, H.A.J., and Grebus, M.E., 1997. Composts and the control of plant diseases. In: Hayes M.H.B. and Wilson, W.S. (eds). *Humic Substances in Soils, Peats and Waters: Health and Environmental Aspects* (pp. 359-366). Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK.
- Hoitink, H.A.J., Boehm, M.J., 1999. Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. **Annu. Rev. Phytopathol**, 37: 427–446.

- Hoitink, H.A.J., Krause, M.S., Han, D.Y., 2001. Spectrum and mechanisms of plant disease control with compost. In: Stofella, P.J., Kahn, B.A., (eds), **Compost utilization in horticultural cropping systems**. Lewis publishers, boca raton, Florida, p. 263.
- Hou, X., Boyetchko, S.M., Brkic, M., Olson, D., Andrew, R., Hegedus, D., 2006. Characterization of anti-fungal activity of *Bacillus* spp. associated with sclerotia from *Sclerotinia sclerotium*. **Biotechnological products and process engineering** 72:644-653.
- Hsiang, T., Liao A., Benedetto D., 2007. Sensitivity of *Sclerotinia homoeocarpa* to demethylation-inhibiting fungicides in Ontario, Canada, after a decade of use, **Plant Pathology**, 56: 500-507.
- Huang, H.C., Kozub G.C., 1989. A simple method for production of apothecia from sclerotia of *Sclerotinia sclerotium*, **Plant Protection Bulletin**, 31: 333-345.
- Huang, H.C., Yanke, L.J., and Phillippe, R.C., 1993. Bacterial suppression of basal pod rot and end rot of dry peas caused by *Sclerotinia sclerotium*. **Can. J. Microbial.** 39:227-233
- Huang, H.C., Erickson, R.S., Chang, C., Moyer, R.J., Larney, J.F., Huang, J.M., 2005. Control of White Mold of Bean Caused by *Sclerotinia sclerotium* using organic soil amendments and biocontrol agents. **Plant Pathology Bulletin** 14:183-190.
- Huang, H.C., Erickson, R.S., Phillippe, L.M., Mueller, C.A., Sun, S.K., Huang, J.W., 2006. Control of apothecia of *Sclerotinia sclerotium* by soil amendment with S-H mixture or Perlka in bean, canola and wheat field. **Soil Biology & Biochemistry** 38:1248-1352.
- Huang, H.C., Erickson, R.S., 2008. Factors affecting biological control of *Sclerotinia sclerotium* by fungal antagonist. **J. Phytopathology** 156:628-634.
- Hu, X., Roberts, D.P., Jiang, M., Zhang, Y., 2005. Decreased incidence of disease caused by *Sclerotinia sclerotium* and improved plant vigor of oil seed rape with *Bacillus subtilis* TU-100. **Microbiological Biotechnology** 68:802-807.
- Irshad, M., Onoğur E., 2001. Evaluation of broccoli plant material incorporation into soil for the control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. and *Sclerotinia sclerotium* (Lib.) de Bary in tomato under greenhouse conditions, **J. Turk. Phytopath.**, 30:47-56.
- Katan J., 1981. Solar heating (solarization) of soil for control of soilborne pests, **Ann. Rev. Phytopathol.**, 19: 211-236.
- Keel, C., Weller, D.M., Natsch, A., Defago, G., Cook, R.J. and Thomashow, L.S., 1996. Conservation of the 2,4-diacetylphloroglucinol-biosynthesis locus among Fluorescent *Pseudomonas* strains from diverse geographic locations. **Applied and Environmental Microbiology**, 62: 552-563.
- Kıran, Ö.F. ve Ertunç, F., 1998. Detection of the diseases of solanaceous plants in Van province. **Journal of Turkish Phytopathology**, 27:105-111.
- Klasse, H.J., 1995. Control of *Sclerotinia sclerotium* by using calcium cyanamide fertilizer (PERLKA), **VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana**, s. 244-246.
- Kurt, Ş., Erkiş A., 1997. Marul'da beyaz çürüklüğe (*Sclerotinia sclerotium* (Lib.) de Bary) karşı sarmısak ekstraktı ve iprodione'un Etkinliğinin Belirlenmesi, **Ç.Ü.Z.F Dergisi**, 13 (1): 111-119.
- Kurt, Ş., Emir, B., 2004. Effect of soil solarization chicken litter and viscera on populations of soilborne fungal pathogens and pepper growth, **Plant Pathology Journal**, 3(2):118-124.

- Kurt, Ş., Güneş, U., Soylu, E.M., 2011. *In vitro* and in vivo antifungal activity of synthetic pure isothiocyanates against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Society Chemical Industry** 67:869-875.
- Kurt, Ş., 2012. Beyaz Çürüklük Etmeni *Sclerotinia*. **Bitki Fungal Hastalıkları Bölüm:** 116-118.
- 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.
- Kwok, O.C.H., Fahy P.C., Hoitink, H.A.J., and Kuter, G.A., 1987. Interactions between bacteria and *Trichoderma hamatum* in suppression of *Rhizoctonia* damping-off in bark compost media. **Phytopathology**, 77:1206-1212.
- Landa, B.B., Hervás, A., Bettiol, W. and Jimenes-Dias, R.M., 1997. Antagonist activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f.sp *ciceris*. **Phytoparasitica**, 25: 305-318.
- Larkin, R.P., Hopkins, D.L. And Martin, F.N., 1996. Suppression of *Fusarium oxysporum* and other microorganisms recovered from a disease-suppressive soil. **Phytopathology**, 86: 812-819.
- Lemanceau, P. and Alabouvette, C., 1993. Suppression of Fusarium wilts by Fluorescent Pseudomonads: Mechanisms and Applications. **Biocontrol Science and Technology**, 3: 219-234.
- Le Tourneau, D., 1979. Morphology, cytology and physiology of *Sclerotinia* species in culture, **Phytopathology**, 69:887-890
- Li, G.Q., Huang, H.C., Acharya, S.N., 2003. Antagonism and biocontrol potential of *Ulocladium atrum* on *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, 28:11-18.
- Li, L., Ma, J., Li, Y., Wang, Z., Gao, T., Wang, Q., 2012. Screening and partial characterization of *Bacillus* with potential applications in biocontrol of cucumber Fusarium wilt. **Crop Protection**, 35: 29-35.
- Litterick, AM, Harrier, L., Wallace, P., Watson, CA., Wood, M., 2004. The role of uncomposted materials, composts, manures, and compost extracts in reducing pest and disease incidence and severity in sustainable temperate agricultural and horticultural crop production- a review. **Crit Rev Plant Sci** , 23:453-479.
- Lumsden, R.D., Dow R.L., 1973. Histopathology of *Sclerotinia sclerotiorum* infection of bean, **Phytopathology**, 63:708-7
- Lumsden, R.D., 1979. Histology and physiology of pathogenesis in plant diseases caused by *Sclerotinia* species, **Phytopathology**, 69: 890-896
- Lumsden, R. D., Lewis, J. A. and Millner, P. D., 1983. Effect of Composted Sewage Sludge on Several Soilborne Pathogens and Disease. **Phytopathology**, 73: 1543-1548.
- Loper, J.E., Nowak-Thompson, B., Whistler C.A., Hagen, M.J., Corbell, N.A., Henkels M.D. and Stockwell V.O. 1997. Biological control mediated by antifungal metabolite production and resource competition: an overview. (K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and S. Akino, Editörler). In: **Plant growth-promoting rhizobacteria: Present Status and Future Prospects**, pp. 73–79, OECD, Paris, France.
- Magid, J., Kjaergaard, C., 2001. Recovering decomposing plant residues from the particulate soil organic matter fraction: size versus sedimentation separation. **Biology and Fertility of Soils**, Volume 33, Issue 3, pp 252-257.

- Mandelbaum, R., Hadar, Y., and Chen, Y., 1988. Composting of agricultural wastes for their use as container media: effect of heat treatments on suppression of *Pythium aphanidermanum* and microbial activities in substrates containing compost. **Biological Wastes**, 26: 261-274.
- Mansour, T.A., Nida, Y.A., Partice, S., 2008. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, 27:1354-1359.
- Maurhofer, M.C., Keel, C., Haas, D. and Defago, G., 1995. Influence of plant species on disease suppression by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO with enhanced antibiotic production. **Plant Pathology**, 44: 40-50.
- Mcquilken, M. P., Mitchell S. J., Budge S. P., Whipps J. M., Fenlon J. S., Archer S. A., 1995. Effects of on sclerotial survival and apothecial production of *Sclerotinia sclerotiorum* in field-grown oilseed rape, **Plant Pathol.**, 44: 883-896
- Meng, Q.X., Jiang, H.H., Hanson, L.E., Hao, J.J., 2012. Characterizing a novel strain of *Bacillus amyloliquefaciens* BAC03 for potential biological control application. **Journal of applied microbiology** 113:1165-1175.
- Neilands, J.B., 1986. Siderophores in relation to plant growth and disease. **Annual Review of Plant Physiology**, 37: 187-208.
- Nemec, S., Datnoff, L.E. and Stranberg, J., 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root disease of vegetables and citrus. **Crop Protection**, 15: 735-742.
- Noble, R., Coventry, E., 2005. Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review. **Biocontrol Science and Technology** 15: 3 -20.
- Pane, C., Spaccini, R., Piccola, A., Scala, F., Bonanomi, G., 2011. Compost amendments enhance peat suppressiveness to *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotinia minor*. **Biological Control**, 56:115-124
- Pierson, L.S. and Thomashow, L.S., 1992. Cloning and heterologous expression of the phenazine biosynthetic locus from *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, 5: 330-339.
- Pierson, L.S.III, Gaffney, T., Lam, S. and Gong, F., 1995. Molecular analysis of genes encoding phenazine biosynthesis in biological control *Pseudomonas aureofaciens* 30-84. **FEMS Microbiology Letters**, 134: 299-307.
- Pascual, J.A., Hernandez, T., Garcia, C., De Leij, F.A.A.M., Lynch, J.M., 2000. Long-term suppression of *Pythium ultimum* in arid soils using fresh and composted municipal wastes. **Biol. Fert. Soils**, 30: 478-484.
- Rabeendran, N., Jones, E.E., Moot, D.J., Stewart, A., 2006. Biocontrol of *Sclerotinia lettuce* drop by *Coniothyrium minitans* and *Trichoderma hamatum*. **Biological Control**, 39:352-362.
- Raaijmaker, J.M., Weller, D.M. and Thomashow, L.S., 1997. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. **Applied and Environmental Microbiology**, 3: 881-887.
- Raaijmakers, J.M. and Weller, D.M., 1998. Natural plant protection by 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. in take-all decline soils. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 11: 144-152.
- Ramamoorthy, V. and Samiyappan, R., 2001. Induction of defense-related genes in *Pseudomonas fluorescens* treated chilli plants in response to infection by *Colletotrichum capsici*. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, 31: 146-155.

- Ramamoorthy, V., Raguchander, T. and Samiyappan, R., 2002. Enhancing resistance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with Fluorescent *Pseudomonads*. **European Journal of Plant Pathology**, 108: 429-441.
- Robleto, E.A., Borneman, J., and Triplett, E.W. 1998. Effects of bacterial antibiotic production on rhizosphere microbial communities from a culture-independent perspective. **Applied Environmental Microbiology**, 64: 5020-5022. **Microbe Interactions**, 11: 1069-1077.
- Rodriguez, M.A., Cabrera, G., Gozza, F.C., Eberlin, M.N., Godeas, A., 2011. *Clonostachys rosea* BAFC3874 as a *Sclerotinia sclerotiorum* antagonists: mechanisms involved and potential as a biocontrol agent. **Journal of Applied Microbiology**.
- Sasser, M. 1990. Identification of bacteria through fatty acid analyses. (Z. Klement, K. Rudolph, D.C. Sands, Editör). In: **Methods in Phytobacteriology**. Academiai Kiado, Budapest, pp. 199- 204, Hungary.
- Scher, F.M. and Baker, R., 1980. Mechanism of biological control in a Fusarium-suppressive soil. **Phytopathology**, 70: 412-417.
- Schisler, D.A., Slininger, P.J., Behle, R.W., Jackson, M.A., 2004. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. **Phytopathology** 94:1267-1271.
- Schppers, B., Bakker, A.W. and Bakker, P.A.H.M., 1987. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. **Annual Review of Phytopathology**, 25: 339-358.
- Sengupta, S., Banerjee, A.B. and Bode, S.K., 1971. Γ -Glutamyl and D-or L-peptide linkages in mycobacillin, a cyclic peptide antibiotic. **Biochemical Journal**, 121: 839-846.
- Singleton, L.L., Mihail, J.D., and Rush, C.M. 1992. **Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi**, APS Press, St. Paul, Minnesota, 265 pp.
- Soylu, S., and Kurt, Ş., 2001. Occurrence and distribution of fungal diseases on greenhouse grown pepper plants in Hatay Province. **International XIth Eucarpia Meeting on Genetics and Breeding of Capsicum & Eggplant**, pp 315-319. Antalya-Turkey.
- Soylu, E. M., Yiğitbaş H., Tok F. M., Soylu S., Kurt Ş., Baysal Ö., Kaya A.D., 2005. Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Artemisia annua* L. against foliar and soil-borne fungal pathogens, **Journal of Plant Diseases and Protection**, 112:229-239.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Bozkurt, A., Yiğitbaş, H., 2002. Farklı bölgelerde yetiştirilen biberlerin rhizosferlerinden izole edilen bakteri izolatlarının toprak kökenli fungal patojenlerin gelişimi üzerine olan etkinliklerinin *in vitro* koşullarında belirlenmesi. **Türkiye 5.Biyolojik Mücadele Kongresi 4-7 Eylül Erzurum**.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş., and Ekici, Ö.K. 2005. Antagonistic Potentials Of Rhizosphere-Associated Bacterial Isolates Against Soil-Borne Diseases of Tomato and Pepper Caused By *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 8: 43-48.
- Staub, T. 1991 Fungicide resistance; practical experience with antiresistance strategies and the role of integrated use. **Annual Review of Phytopathology**, 29: 421-442
- Suarez-Estrella, F., Elorrieta, M.A., Vargas-Garcia, M.C., Lopez, M.J., Moreno, J., 2001. Selective isolation of antagonist micro-organisms of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. Biological Control of Fungal and Bacterial plant Pathogens. **IOBC wprs**

- Bullet**, 24:109-112.
- Suarez-Estrella, F., Vargas-García, C., López, M.J., Capel, C and Moreno .J. 2007. Antagonistic activity of bacteria and fungi from horticultural compost against *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* .**Crop Protection**, 26: 46–53.
- Tambong, J.T. and Höfte, M., 2001. Phenazines are involved in biocontrol of *Pythium myriotylum* on cocoyam by *Pseudomonas aeruginosa* PNA1. **European Journal of Plant Pathology**, 107: 511-521.
- THOMASHOW, L.S. and WELLER, D.M., 1988.
- Tamietti, G., Ferraris, L., Matta, A. and Gentile, I.A., 1993. Physiological responses of tomato plants grown in *Fusarium* suppressive soil. **Journal of Phytopathology**, 138: 66-76.
- Tamietti, G., Valentino, D., 2006. Soil solarization as an ecological method for the control of *Fusarium* wilt of melon in Italy. **Crop Protection**, 25: 389-397
- Tekin, Ş., 2004. **Farklı Biber Ekim Alanlarında Yetiştirilen Bitkilerin Rizosferlerinden İzole Edilen Antagonist Bakterilerin Bazı Fungal Patojenlerin Gelişimi Üzerine Etkinlikleri**. Yüksek Lisans Tezi., Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. 52 sayfa.
- Thomashow, L. S. and Weller, D. M., 1996. Current concepts in the use of introduced bacteria for biological disease control: Mechanisms and antifungal metabolites. (G. Stacey, and N.T. Keen, Editörler). In: **Plant Microbe Interactions**, Chapman and Hall, 1: 187-235, New York.
- Thomashow, L.S., Bonsall, R.F., and Weller, D.M. 1997. Antibiotic production by soil rhizosphere microbes *in situ*. (C.J. Hurst, G.R. Knudsen, M.J. McInerney, L.D Stetzenbach, M.V. Walter Editörler). In: **Manual of Environmental Microbiology**, ASM Press, 493-499. Washington DC.
- Tok F.M., Kurt Ş., 2007. Akdeniz bölgesi örtü altı domates bitkilerinden elde edilen *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary izolatlarının miselyal uyum grubu (MUG) ve patojenisite yöntemleri ile karakterizasyonu, **Türkiye II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta**, s 284.
- Tuik. 2010. www.tuik.gov.tr
- Tuiter, G., Szeech, M., Bollen, G.J., 1998. Suppression of *Rhizoctonia solani* in potting mixtures amended with compost made from organic household waste. **Phytopathology**, 88: 764-763.
- Tüzün, S. and Kloppe, J.W., 1994. Induced systemic resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. (M.H. Ryder, P.M. Stephens and G.D. Bowen, Editörler). In: **Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria**, CSIRO Division of Soil, Glen Osmond, 104-109, Australia,
- Trillas-Gay, M.I., Houtink, H.A.J., and Madden, L.V., 1986. Nature of suppression of fusarium wilt of radish in container medium amended with composted hardwood bark. **Plant Disease**, 70: 1023-1027.
- Uppal, A.K., Hadrami, A.E., Adam, L.R., Tenuta, M., Daayf, F., 2008. Biological control of potato Verticillium wilt under controlled and field conditions using selected bacterial antagonist and plant extracts. **Biological Control**, 44:90-100.
- Walker, J.E. and Abraham, E.P., 1970. Isolation of bacilysin and a new amino acid from culture filtrates of *Bacillus subtilis*. **Biochemical Journal**, 118: 557-563.
- Walker, R., Powell, A.A., and Seddon, B., 1998. Bacillus isolates from the rhizosphere of peas and dwarf French beans with antifungal activity against *Botrytis cinerea* and *Pythium* species. **Journal of Applied Microbiology**, 84: 791-801.

- Weller, D.M. and Cook, R.J., 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with Fluorescent *Pseudomonads*. **Phytopathology**, 73: 463-469.
- Weller, D.M., Zhang, B.X. and Cook, R.J., 1985. Application of a rapid screening test for selection of bacteria suppressive to take-all of wheat. **Plant Disease**, 69: 710-713.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, 26: 379-407.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, 26: 379-407.
- Widmer, T.L., Graham, J.H., Mitchell, D.J., 1999. Composted municipal solid wastes promote growth of young citrus trees infested with *Phytophthora nicotianae*. **Compost Sci. Util.** 7:6-16.
- Workneh, F. Bruggen, V., Drinkwater, A.H.C., Sherman, L.E.C., 1993. Variables associated with a reduction in corky root and *Phytophthora* root rot of tomatoes in organic compared to conventional farms. **Phytopathology**, 83: 581-589.
- Yanar, Y., Kadioğlu İ., Asav Ü., Onaran A., 2004. Sera koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum*'un sebep olduğu beyaz çürüklük hastalığının kontrolünde solarizasyonun kullanılması, **Türkiye I. Bitki Koruma Kongresi**, s.166.
- Yanar, Y., 2005. Tokat iklim koşullarında *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary' un sklerotium canlılığı üzerine solarizasyonun etkisi, **GOP Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 22:15-19.
- Yang, L., Xie, J., Jiang, D., Fu, Y., Li, G., Lin, F., 2008. Antifungal substances procuced by *Penicillium oxalicum* strain PY-1 potential antibiotics aganistplant pathogenic fungi. **J.Microbial.Biotechnol.**24:909-915.
- Yang, D., Wang, B., Wang, j., Chen, Y., Zhou, M., 2009. Activity and efficacy of *Bacillus subtilis* strain NJ-18 aganist rice sheath blight and *Sclerotinia* stem rot of rape. **Biological Control**, 51:61-65.
- Yang, L., Li, G., Zhang, J., Jiang, D., Chen, W., 2011. Compatibility of *Coniothyrium minitans* with compound fertilizer in suppression of *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, 2011.07.002
- Yılmaz, S., 2008. Domates Bitkilerinde Sorun Toprak Kökenli Bazı Fungal Hastalık Etmenleri İle Mücadelede Kök Bakterilerinin Kullanılma Potansiyellerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst. 61 sayfa.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K. and Shirata, A., 2001. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC-2 isolated from mulberry leaves. **Phytopathology**, 91: 181-187.
- Yuen, G. Y., Craig M. L., Kerr E. D., Steadman S. R.,1991. Epiphytic colonization of dry edible bean by bacteria antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* and potential for biological control of white mold disease, **Biol. Control**, 1:293-301
- Yuen, G.Y., Craig, M.L., Kerr, E.R., and Steadman, S.R., 1991. Epiphytic colonization of dry edible beanby bacteria antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* and potential for biological control of white mold disease. **Biol. Control**, 1:293-301
- Yücel, S., Pala, H., Sarı, N. ve Abak, K., 1994. Determination of *F. oxysporum* f.sp. *melonis* races in the East Mediterranean Region of Türkiye and response of some melon genotypes to the disease. **9th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union**, Kuşadası-Türkiye. Pp:87-89.
- Yücel, S., 1994. Akdeniz bölgesi örtü altı sebze alanlarında görülen fungal hastalıklar.

Bitki Koruma Bülteni, 34: 23-34.

Yücel, S., Elekcioglu, İ.H., Can, C., Sogut, M.A., and Ozarslandan, A. 2007. Alternative Treatments to Methylbromide in Eastern Mediterranean Region of Turkey. **Turk J. Agric.For.** 31:47-53.

Zeng, W., Kirk, W., Hao, J., 2012. Field management of *Sclerotinia* stem rot of soybean using biological control agents. **Biological Control**, 60:141-147.

Zeng, W., Wang, D., Kirk, W., Hao, J., 2012. Use of *Coniothyrium minitans* and other microorganisms for reducing *Sclerotinia sclerotiorum*. **Biological Control**, 60:225-232.

Zhang, J.X., Xue, A.G., 2010. Biocontrol of *Sclerotinia* stem rot (*Sclerotinia sclerotiorum*) of soybean using novel *Bacillus subtilis* strain SB24 under control conditions. **Plant Pathology**, 59:382-391.

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, laboratuvar çalışmaları ve yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen, değerli fikirleriyle bana yol gösteren, çalışmalarımı yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Emine Mine SOYLU' ya teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Laboratuvar çalışmalarına yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Şener KURT, Sayın Doç. Dr. Soner SOYLU ve Sayın Yrd. Doç. İ. Adem BOZKURT' a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmada maddi destek sağlayan Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı' na teşekkür ederim.

Kompost materyallerinden izolasyon, deneme hazırlıkları ve her türlü laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Zir. Müh. Senem ÇAKIRBEY' e ve Zir. Müh. Nurçin SOYLAR' a teşekkür ederim.

Ömür boyu hayatımı paylaşacağım ve bu süreçte benden yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Kemal DALKILIÇ ve doğmasına bir ay kalan bitanecik bebeğimize,

Öğrenim hayatım süresince gerek maddi gerekse manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli aileme, bizden uzakta olup ancak her zaman yanımda hissettiğim canım babam ve kardeşim Dilay' a sonsuz teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

07.07.1987 tarihinde Adana’ da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Adana’ da tamamladım. 2005 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ziraat Mühendisliği bölümünü kazandım. 2009 yılı Ziraat Mühendisliği/Bitki Koruma alt programını bitirdim. 2010 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalında yüksek lisans eğitimime başladım. 2011 yılında Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Nevşehir/Hacıbektas İlçe Tarım Müdürlüğünde Ziraat Mühendisi olarak göreve başladım. Halen aynı yer ve pozisyonda görevimi devam ettirmekteyim.

EK-1**Patates Dekstroz Agar (PDA)**

Patates	200 g/l
Dekstroz	20 g/l
Agar	15 g/l

Nutrient Agar (NA)

Meat extract	1 g/l
Maya ekstraktı	2 g/l
Peptone	5 g/l
Sodyum klorid	5 g/l
Agar	15 g/l

Czapek- Dox Agar (CDA)

Sukroz	30 g/l
Sodyum nitrat	3 g/l
Potasyum hidrojen-fosfat	1 g/l
Agar	13 g/l

Tryptone Soya Agar (TSA)

Tryptone	15 g/l
Soya peptone	5 g/l
Sodyum klorid	5 g/l
Agar	15 g/l