



**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ZBK-DR-2007-0003**

**AYDIN İLİNDE ÇİLEK KÖK HASTALIKLARINA
KARŞI ANTAGONİST BAKTERİLERLE
BİYOLOJİK SAVAŞ**

Ümit ÖZYILMAZ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU**

AYDIN-2007

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
ZBK-DR-2007-0003**

**AYDIN İLİNDE ÇİLEK KÖK HASTALIKLARINA
KARŞI ANTAGONİST BAKTERİLERLE
BİYOLOJİK SAVAŞ**

Ümit ÖZYILMAZ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU**

AYDIN-2007

T.C YÜKSEKÖĞRETİM KURULU TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

**(Tez yazarı tarafından bilgisayarda doldurularak kaydedilmeli
Referans Numarası alındıktan sonra basılarak imzalanmalıdır.)**

Ref No: 48655

Tez No:

(Tez Merkezi tarafından
doldurulacaktır.)

Yazar Adı / Soyadı :

Ümit

ÖZYILMAZ

(Tezde kullandığınız tüm adlarınızı açık olarak yazınız.Kısaltma kullanmayınız.)

Uyruğu :

T.C.

T.C. Kimlik No : 15754536972

Telefon No :

256 7727024

GSM No : 537 7825292

E-Posta Adresi :

uozyilmaz@gmail.com

Tezin Özgün Dili :

Türkçe

(Tezin ana bölümünün dili)

Tezin Adı :

AYDIN İLİNDE ÇİLEK KÖK HASTALIKLARINA KARŞI
ANTAGONİST BAKTERİLERLE BİYOLOJİK SAVAŞ

(Tezin özgün dildeki adı.
Yandaki alana en fazla
200 karakter yazılabilir.)

Tezin Türkçe Adı :

(Tezin özgün dili Türkçe
değilse burayı doldurunuz.
Yandaki alana en fazla
200 karakter yazılabilir.)

Tezin İngilizce Adı :

BIOLOGICAL CONTROL of STRAWBERRY ROOT
DISEASES by RHIZOBACTERIA in AYDIN PROVINCE

(Tezin özgün dili Türkçe ise
ingilizce adını buraya yazınız.
Yandaki alana
en fazla 200 karakter yazılabilir.)

Tezin Konu Başlığı :

1. Ziraat
- 2.
- 3.

Tezin Yapıldığı Yer :

Üniversite

Adnan Menderes Üniversitesi

Enstitü / Hastane

Fen Bilimleri Enstitüsü

Fakülte

Ziraat

Anabilim Dalı/Bölüm

Bitki Koruma

Tez Türü :

Doktora

Tez Yılı :

2007 (yyyy)

Sayfa Sayıları :

137

(Toplam)

Giriş Sayfaları :
(Romen rakamlarıyla numaralandırılmış
bölüm)

11

Ana Bölüm : 108

Ekler: 18

(Ana bölümden farklı
numaralandırılmış ise)

Tez Danışmanları : Ünvanı

Adı

Soyadı

1.Danışman : Prof. Dr.

Kemal

BENLİOĞLU

2.Danışman :

3.Danışman

Dizin Terimleri:

(Dizin terimleri listelerinden seçiniz. İmlecini dizin terimini girmek istediğiniz kutucuğa getiriniz.Kutucuğun yanındaki linke tıklayınız. Gelen alfabetik listeden uygun harfi seçiniz. Aradığınız terimi listede tarayıp bulduğunuzda tıklayınız. Terim uygun kutucuğa yerleşecektir.

Türkçe Dizin Terimleri

İngilizce Dizin Terimleri

Rhizoctonia	Rhizoctonia
Phytophthora	Biological control
Biyolojik mücadele	Pseudomonas

Pseudomonas	

Önerilen Dizin Terimleri:(YÖK Dizin terimleri listelerinde bulamayıp önerdiğiniz terimler)

Türkçe	İngilizce
Kök bakterileri	Phytophthora
	Rhizobacteria

Tezin Metin Formatı Dışındaki Ekleri : (Aynı türden 1'den çok dosyanız varsa ilgili kutuda dosya adlarını noktalı virgül (;) ile ayırınız)

Resim:- Dosya adı:
Harita:- Dosya adı:
Görüntü:- Dosya adı:
Ses:- Dosya adı:
Program:- Dosya adı:

Diğer:- Lütfen Belirtiniz:

Dosya
adı:

Kısıtlama :Yok

Kısıtlama Bitiş Tarihi:

(gg/aa/yyyy)

Proje desteği aldıysa Proje no: **Tübitak TOGTAG**
3282

Tarih: 19/12/2007

İmza



İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY SAYFASI	i
İNTİHAL BEYAN SAYFASI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	v
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
EKLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM	21
3.1. MATERYAL	21
3.2. YÖNTEM	22
3.2.1. Bakterilerin İzolasyonu	22
3.2.2. Bakterilerin In-vitro Antifungal Aktivitelerinin Saptanması	23
3.2.3. Bakterilerin Ön Eleme Testleri	24
3.2.4. Enzim Aktivitelerinin Saptanması	25
3.2.5. Sekonder Metabolit Üretimi	28
3.2.6. Antagonist Bakterilerin Tanılanması	32
3.2.7. <i>In-vivo</i> Testler	33
3.2.7.1. Saksı Koşullarında Yürütülen Testler	34
Fungal İzolatların Patojenisite Testleri	34
Antagonist bakterilerin <i>R. solani</i> ve <i>P. cactorum</i> 'a Etkileri	37
Antagonist bakterilerin çilek bitkisi gelişimine etkisi	38
3.2.7.2. Tarla Denemeleri	38
3.2.8. İstatistik Analizler	43
4. BULGULAR	44
4.1. BAKTERİLERİN İZOLASYONU	44
4.2. BAKTERİLERİN IN-VITRO ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI	46
4.3. BAKTERİLERİN ÖN ELEME TESTLERİ	52
4.4. ENZİM AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI	54
4.5. SEKONDER METABOLİT ÜRETİMİ	60
4.6. ANTAGONİST BAKTERİLERİN TANILANMASI	64
4.7. <i>IN-VIVO</i> TESTLER	66

4.7.1. Saksı Koşullarında Yürütülen Testler.....	66
4.7.1.1.Fungal İzolatların Patojenisite Testleri.....	66
4.7.1.2.Antagonist Bakterilerin <i>R. solani</i> ve <i>P. cactorum</i> 'a Etkileri.....	70
4.7.1.3.Antagonist Bakterilerin Çilek Bitkisi Gelişimine Etkisi	73
4.7.2. Tarla Denemeleri	74
5. TARTIŞMA.....	79
6. SONUÇ.....	93
KAYNAKLAR.....	95
EKLER	109
ÖZGEÇMİŞ.....	127

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Bitki Koruma Ana Bilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Ümit ÖZYILMAZ tarafından hazırlanan “**Aydın İlinde Çilek Kök Hastalıklarına Karşı Antagonist Bakterilerle Biyolojik Savaş**” başlıklı tez, 23/11/2007 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı	Adı Soyadı	Kurumu	İmza
Başkan	Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU	ADÜ, Zir. Fak. Bitki Koruma Böl.	
Üye	Prof. Dr. Tayyar BORA	EÜ, Zir. Fak. Bitki Koruma Böl.	
Üye	Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU	ADÜ, Zir. Fak. Bitki Koruma Böl.	
Üye	Prof. Dr. Ekmeç TEKİNTAŞ	ADÜ, Zir. Fak. Bahçe Bitkileri Böl.	
Üye	Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ	Ankara Üniv. Fen Edebiyat Fak.	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun sayılı kararıyla tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ
Enstitü Müdürü

İntihal (Aşırma) Beyan Sayfası

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı : Ümit ÖZYILMAZ

İmza :



ÖZET

Doktora Tezi

AYDIN İLİNDE ÇİLEK KÖK HASTALIKLARINA KARŞI ANTAGONİST BAKTERİLERLE BİYOLOJİK SAVAŞ

Ümit ÖZYILMAZ

Adnan Menderes Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bitki Koruma Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU

Bu çalışma; Aydın ili Sultanhisar ilçesinde çilek yetiştiriciliğinde sorun olan önemli toprak kaynaklı fungal hastalıklar *Rhizoctonia solani* ve *Phytophthora cactorum*'a karşı antagonist bakterileri kullanarak biyolojik savaşımlı hedeflemiştir. Bu amaçla yörede yetiştirilen sağlıklı çilek bitkileri, karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana, turp, bakla ile yabancı otlardan yabani turp, darıcan ve çoban çantası bitkilerinin köklerinden 362 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. İkili kültür testlerinde bir ya da her iki fungal patojene karşı engelleme zonu oluşturan 101 antagonist bakteri içinden bazı ön testler yapılarak 24 tanesi seçilmiş ve bu isolatlar yağ asiti metil ester analizi (FAME) ile tanımlanmıştır. Seçilen 24 antagonist bakteri izolatu'nun her iki fungal patojene karşı *in-vivo* etkinlikleri, enzim aktiviteleri, sekonder metabolit oluşturma yetenekleri ve çilek bitkisinin gelişimine olan etkileri ayrıca belirlenmiştir. Testlenen isolatlardan hiç biri kitinaz, selüloz ve pektinaz enzim aktivitesi göstermemiş buna karşın 13 izolatu proteaz, 3 izolatu fosfataz enzimi üretmiş, 20 izolatu da inorganik fosfatı çözebilme yeteneğinde olduğu görülmüştür. İkincil metabolit oluşturma yeteneklerine bakıldığında ise 19 izolatu HCN, 18 izolatu siderofor, 11 izolatu yüzey aktif madde ve 16 izolatu da 2-4, DAPG ürettiği, iki izolatu da 62.4 ve 1.9 µg/ml oranında IAA oluşturduğu saptanmıştır. Camarosa çeşidi çilek fideleri ile saksı koşullarında yürütülen denemelerde; 3ss9, 6l10, 7ec11, mbe isolatları *R. solani*'ye karşı %57; 3ss9 ve 6l10 isolatları *P. cactorum*'a karşı %50 oranında etkili bulunmuştur. Her iki patojene de etkili bulunan 3ss9 ve 6l10 antagonist bakterilerinin inorganik fosfatı çözebilme, proteaz, HCN, yüzey aktif madde, 2-4, DAPG ve siderofor üretebilme karakterinde olduğu belirlenmiştir. Üç yıl boyunca ticari çilek (Camarosa çeşidi) yetiştirilen bir tarlada yürütülen denemelerde sadece 2006-2007 çilek üretim sezonunda 3ss9, 6l10, ka ve HRO-C48 isolatlarının fide dikimi ile beraber ve dikimden yaklaşık 7 ay sonra toprağa içirme şeklinde yapılan uygulamalardan olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu denemede 3ss9 ve ka *Pseudomonas fluorescens* biyotip F bakteriyel antagonislerinin uygulandığı parsellerde hasat sonunda yapılan sayımlarda kontrole göre istatistiki açıdan daha az bitkinin öldüğü saptanmıştır. Ayrıca tüm bakteri uygulamaları (ka 4282 kg/da, 3ss9 4170 kg/da, HRO-C48 4103 kg/da, 6l10 4029 kg/da)'nın istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte kontrol (3928 kg/da)'e göre verimi arttırdığı görülmüştür.

2007, 128 sayfa

Anahtar Sözcükler:

Rhizoctonia, *Phytophthora*, biyolojik mücadele, kök bakterileri, *Pseudomonas*

ABSTRACT

Ph.D Thesis

**BIOLOGICAL CONTROL of STRAWBERRY ROOT
DISEASES by RHIZOBACTERIA in AYDIN PROVINCE**

Ümit ÖZYILMAZ

Adnan Menderes University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU

The study aims to use bacteria-mediated biological control against to soil-born diseases of strawberry (*Rhizoctonia solani* and *Phytophthora cactorum*) in Sultanhisar town of Aydin province of Turkey. A total of 362 bacterial isolates were obtained from the rhizosphere of healthy strawberry, cauliflower, red cabbage, broccoli, cabbage, radish, wild radish, broad bean, barnyard grass and shepherd's purse plants. The 24 isolates out of 101 producing zone of inhibition against at least one (or both) fungal pathogen in dual culture tests were selected by *in-vitro* antifungal activity and preliminary tests, and identified by using Fatty Acid Methyl Ester (FAME) analysis. The isolates were tested *in-vivo* against both fungal pathogens, and they were also screened for their ability to produce enzymes, secondary metabolites and growth promotion in strawberry seedlings. None of the isolates produced chitinase, cellulase and pectinase, while three, thirteen and twenty of 24 isolates showed phosphatase, protease and inorganic phosphorus solubilization activity, respectively. Of 24 isolates tested, 19 produced HCN, 18 produced siderophore, 11 produced biosurfactant, 16 had *phlD* gene for 2-4, DAPG production and two produced indole acetic acid (62.4 and 1.9 µg/ml). Among the rhizobacterial isolates tested in potted-plant (cv Camarosa) trials; 3ss9, 6l10, 7ec11, mbe controlled *R. solani* (57%) while 3ss9 and 6l10 reduced the severity of *P. cactorum* root rot by %50. All these isolates effective *in-vivo* were found to be positive for protease, HCN, bio-surfactant, 2-4,DAPG, siderophore production and phosphorus solubilization. In only 2006-2007 growing season of the three-year field trials conducted in a commercial strawberry (cv Camarosa) fields, the promising results were obtained from bacterial treatments (3ss9, 6l10, ka, HRO-C48) applied as a soil drench before planting and 7 months later. The number of dead plants after harvest was significantly less in *Pseudomonas fluorescens* biotype F isolates 3ss9 and ka treated plots than untreated control. However, marketable strawberry yield was least in untreated control plots (3928 kg/da), although yield differences were not statistically significant in all treatments (ka 4282 kg/da, 3ss9 4170 kg/da, HRO-C48 4103 kg/da, 6l10 4029 kg/da).

2007, 128 pages**Key Words:***Rhizoctonia*, *Phytophthora*, biological control, rhizobacteria, *Pseudomonas*

ÖNSÖZ

Bu çalışma; çileklerde önemli fungal kök hastalıkları (*Rhizoctonia solani* ve *Phytophthora cactorum*) ile savaşım için kullanılabilecek etkili bakteriyel antagonistleri çilek bitkisi ve bazı *Crucifereae* familyasına ait bitkilerin rizosferinden izole etmek, bu antagonistleri tanılayıp olası etki mekanizmalarını belirlemeye çalışarak biyolojik savaşımında kullanılabilme olanaklarını değerlendirmek amacıyla ele alınmıştır.

Çalışma TUBİTAK TOGTAĞ 3282 ve Adnan Menderes Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri ZRF04009 no'lu projeler ile desteklenmiş ve Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarı ve iklim odası ile Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarı olanakları kullanılarak yürütülmüştür. Tarla denemeleri ise Aydın ili Sultanhisar ilçesinde Nihat ÖZYİĞİT'e ait ticari çilek üretim alanlarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarım sırasında her türlü yardımı esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Sayın Kemal BENLİOĞLU başta olmak üzere, Tez İzleme Komitesi toplantılarında katkılarını ve görüşlerini esirgemeyen Prof. Dr. Sayın Tayyar BORA (Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)'ya, kullanılan fungal izolatları sağladığı ve Tez İzleme Komitesi Toplantılarında yardımlarını esirgemediği için Sayın Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU (Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Aydın)'na, etkinliği saptanmış ve test çalışmalarında pozitif kültür olarak kullanılan HRO-C48 ve E11 izolatlarını gönderdiği için Prof. Dr. Sayın Gabriele BERG (Rostock Üniversitesi, Almanya)'e, elde edilen bakterilerin tanılanmasında kullanılan yağ asitleri metil ester (FAME) analizi yönteminin uygulanması ve laboratuvarını kullanıma açtığı için desteklerinden dolayı Prof. Dr. Sayın Fikrettin ŞAHİN (Yeditepe Üniversitesi, İstanbul)'e, arazi çalışmaları için üretim alanlarından parsel ayırdığı ve tüm bakım işlemlerini üstlendiği için Sayın Nihat ÖZYİĞİT'e teşekkürü bir borç bilirim.

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

°C	derece santigrad
2,4-DAPG	2,4-diacetylphloroglucinol
bp	baz çifti (base pare)
CAS	crom Azurol S
cm	santimetre
CMC	karboksi metil seluloz (carboxy methyl cellulose)
da	dekar
DF	Dworkin Foster minimal medium
dk	dakika
DNA	deoksiribonükleik asit
dNTP	deoksinukleosid trifosfat
FAME	yağ asitleri metil ester (fatty acid methylester)
g	gram (ağırlık)
g	nispi santrifugal kuvvet
ha	hektar
HCN	hidrojen siyanid
HDTMA	hexadecyltrimethylammonium bromide
IAA	Indol asetik asit
KB	KingB
kg	kilogram
L	litre
m	metre
M	molar
MeBr	metil bromür
mg	miligram
MIS	mikrobiyal tanılama sistemi (microbial identification system)
ml	mililitre
mm	milimetre
mM	milimolar
µl	mikrolitre
µg	mikrogram
µm	mikrometre
N	normal
NA	nutrient agar
nM	nanomolar
nm	nanometre
PCR	polimeraz zincir reaksiyonu (polymerase chain reaction)
PDA	patates dekstroza agar
PGPR	bitki gelişimini teşvik eden kök bakterisi (plant growth promoting rhizobacteria)
pH	hidrojen iyonu konsantrasyonu
Pipes	1,4-piperazinediethanesulfonic acid
rpm	dakikadaki devir sayısı (rotation per minute)
SCRI	Scottish Crop Research Institute
SIM	benzerlik indeksi (similarity index)
TBE	tris-borate-EDTA
TOGTAG	Tarım, Orman ve Gıda Teknolojileri Araştırma Grubu
TSB	triptik soya broth
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UV	ultraviolet

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. 2005 yılı dünya çilek üretimi.....	3
Şekil 1.2. Türkiye’de 1990-2005 yılları arasında Türkiye’de çilek ekim alanı ve üretimi.....	4
Şekil 3.1. Antagonist bakterilerin test funguslarını engelleme oranlarının ölçüldüğü ikili kültür testi ve petri altı test şablonu	24
Şekil 3.2. Tarla denemeleri sırasında sıcaklık verilerini toplayan elektronik kaydedici	34
Şekil 3.3. Çilek bitkilerinin patojenisite testleri için yetiştirilmesi	35
Şekil 3.4. <i>R. solani</i> izolatlarının kepek kültürlerinde gelişmesi ve gelişmiş kültürlerin parçalandıktan sonra toprakla karıştırılmadan önceki görünümü	36
Şekil 3.5. 2005-2006 tarla denemelerinde kök bandırması şeklinde bakteri uygulaması	41
Şekil 3.6. 2006-2007 tarla denemelerinde bakteri uygulaması	43
Şekil 4.1. Dört farklı bakteri izolatının PDA besiyerinde ikili kültür ön testlerinde <i>R. solani</i> R3/2 izolatına karşı engelleme zonu	44
Şekil 4.2. PDA besiyerinde yürütülen ikili kültür testlerinde 6b8 bakterisinin R3/2 <i>R. solani</i> izolatını engellemesi.....	47
Şekil 4.3. Bakteriyel izolatların her iki fungusa olan etkilerinin değerlendirildiği küme analizi sonucunda oluşan kümeler	51
Şekil 4.4. 4c15 bakterisi ile inokule edilmiş White Burley tütün yapraklarında aşırı duyarlılık belirtisi	52
Şekil 4.5. Kitin Agar besiyerinde kitinaz aktivitesi testi	56
Şekil 4.6. Selüloz aktivitesi testi	57
Şekil 4.7. Skim Milk Agar besiyerinde proteaz aktivitesi testi	57
Şekil 4.8. Pektat Agar besiyerinde pektinaz aktivitesi testi.....	58
Şekil 4.9. DNaz Agar besiyerinde DNaz aktivitesi testi.....	58
Şekil 4.10. İnorganik fosfatı çözebilmeme testi	59
Şekil 4.11. Fosfataz testi.....	59
Şekil 4.12. IAA miktarlarının hesaplanmasında kullanılan doğru formülü ve korelasyon katsayısı	60
Şekil 4.13. HCN test sıvı besiyerinde gelişen bakteri izolatlarının oluşturduğu HCN nedeniyle pikrik asit emdirilmiş kağıt şeritlerde meydana getirdiği renk değişimi	62
Şekil 4.14. Deterjan içeren mineral besiyerinde yüzey aktif madde üreten izolatların oluşturduğu zon.....	63
Şekil 4.15. İzolatların B2BF ve BPR4 primerleri ile amplifikasyonu sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezde ethidium bromide ile boyandıktan sonraki görünümü	63

Şekil 4.16. CAS Blue Agar besiyerinde siderofor üreten izolatların oluşturduğu turuncu-sarı zon.....	64
Şekil 4.17. <i>R. solani</i> izolatlarının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ortalamaları	67
Şekil 4.18. İklim odasında yürütülen patojenisite testlerinde 10 adet <i>R. solani</i> izolatı ile inokule edilmiş saksılarda inokulasyondan 5 hafta sonra çilek bitkilerinin görünümü	67
Şekil 4.19. <i>P. cactorum</i> izolatlarının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ortalamaları	68
Şekil 4.20. İklim odasında yürütülen patojenisite testlerinde 11 adet <i>P. cactorum</i> izolatı ile inokule edilmiş saksılarda inokulasyondan 5 hafta sonra çilek bitkilerinin görünümü	69
Şekil 4.21. İklim odasında <i>in-vivo</i> antagonistik etkinin saptanması amacıyla yürütülen denemelerde R8/2 <i>R. solani</i> , P5 <i>P. cactorum</i> izolatı ile inokule edilmiş topraklardaki beş haftalık çilek bitkilerinin görünümü	71
Şekil 4.22. İklim odası koşullarında bakterilerin bitki gelişimine olan etkilerinin saptandığı denemede antagonist bakteri ile inokule edilmiş çilek bitkilerinin inokulasyondan beş hafta sonraki görünüm	73
Şekil 4.23. Bakterilerin çilek bitkisi gelişimine olan etkisine yönelik denemelerde sağda bakteri (6ba3) uygulanan ve solda hiç uygulama yapılmayan çilek bitkilerinin görünümü	73
Şekil 4.24. 2004-2005 çilek üretim sezonu hasat döneminden görüntüler.....	75
Şekil 4.25. 2005-2006 çilek üretim sezonunda çöken bitkilere ait bir görünüm	76
Şekil 4.26. 2005-2006 çilek üretim sezonu hasat döneminde deneme alanının genel görünümü, hasat ve tartım işlemi.....	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. 2005 yılı Dünya çilek üretimi.....	3
Çizelge 1.2. 2001-2005 yıllarında Aydın ili merkez ve ilçelerindeki çilek üretimi	4
Çizelge 1.3. Dünya’da çilekte toprak kaynaklı patojenlere karşı ruhsatlı biyopreparatlar	8
Çizelge 4.1. Çalışmada izole edilen bakterilerin izole edildikleri tarih, orijin bitki, toplam izolat sayısı, KingB besiyerinde floresans veren izolat sayısı ve <i>in-vitro</i> ön değerlendirme ile seçilen <i>R. solani</i> ile <i>P. cactorum</i> ’a etkili izolatlar	45
Çizelge 4.2. İkili kültür testleri sonucunda antagonist izolatların <i>R. solani</i> ’yi ve <i>P. cactorum</i> ’u engelleme oranları (%) ve etkilerine göre yer aldıkları kümeler	48
Çizelge 4.3. 101 antagonist bakteri izolatının KB besiyerinde UV ışık altında floresans verme, tütünde aşırı duyarlılık oluşturma, 37°C’de gelişme durumu ve gram boyama testi sonuçları.....	53
Çizelge 4.4. Antagonist adayı bakterilerin kitiniaz, proteaz, pektinaz, selüloz, DNaz, fosfataz ve fosfatı çözebilme testleri sonuçları	55
Çizelge 4.5. Antagonist adayı bakterilerin HCN, indol asetik asit, yüzey aktif madde, 2,4-DAPG ve siderofor üretimi testleri sonuçları	61
Çizelge 4.6. Yağ asitleri analiz sonuçları	65
Çizelge 4.7. On <i>Rhizoctonia solani</i> izolatının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ve bitkilerin ağırlığındaki yüzde değişim	66
Çizelge 4.8. Onbir <i>Phytophthora cactorum</i> izolatının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ve bitkilerin ağırlığındaki yüzde değişim	68
Çizelge 4.9. Kontrollü koşullarında antagonistik etkinin saptanması denemesinde <i>R. solani</i> ve <i>P.cactorum</i> son sayım skala değerleri ortalamaları, yüzde hastalık ve yüzde etki değerleri	72
Çizelge 4.10. İklim odası koşullarında antagonist adayı bakterilerin çilek bitkisinin gelişimine etkisi	74
Çizelge 4.11. 2004-2005 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları.....	74
Çizelge 4.12. 2004-2005 çilek üretim sezonunda 5/4/2005 - 22/6/2005 tarihleri arasında karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri	75
Çizelge 4.13. 2005-2006 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları.....	76

Çizelge 4.14. 2005-2006 çilek üretim sezonunda 19/4/2006 - 12/6/2006 tarihleri arasında karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri	77
Çizelge 4.15. 2006-2007 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları.....	78
Çizelge 4.16. 2006-2007 çilek üretim sezonunda 9/4/2007 - 12/6/2007 tarihleri arasında karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri	78

EKLER DİZİNİ

Ek 1: Biyolojik Materyal Transfer Belgesi.....	109
Ek 2: Tarla denemelerinin kurulduğu arazilerin toprak özellikleri	110
Ek 3: İkili kültür testleri sonucunda antagonist izolatların <i>R. solani</i> 'yi ve <i>P. cactorum</i> 'u engelleme oranları (%)	111
Ek 4: IAA üretim miktarlarının hesaplanmasında yararlanılan doğrunun oluşturulmasında kullanılan IAA miktarları ve spektrofotometrede 535 nm okuma değerleri	114
Ek 5: IAA üretiminin saptanmasına yönelik 535 nm okuma değerleri ve ortalamaları	114
Ek 6: <i>R. solani</i> için yapılan patojenisite testinde elde edilen varyans analizi tabloları	115
Ek 7: <i>P. cactorum</i> için yapılan patojenisite testinde elde edilen varyans analizi tabloları.....	116
Ek 8: <i>R. solani</i> ve <i>P. cactorum</i> 'a karşı antagonist bakterilerin etkisi denemesinde elde edilen skala değerleri ve ortalamaları.....	117
Ek 9: İklim odası koşullarında antagonist aday bakterilerin çilek bitkisinin gelişimine etkisi denemesinde ağırlık yüzde değişim oranları	119
Ek 10: 2004-2005 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları ve varyans analiz tabloları	120
Ek 11: 2005-2006 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları ve varyans analiz tabloları	121
Ek 12: 2005-2006 çilek üretim sezonunda karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri	122
Ek 13: 2006-2007 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları ve varyans analiz tabloları	123
Ek 14: 2006-2007 çilek üretim sezonunda karakterlere ait pazarlanabilir kümülatif çilek verimleri.....	124
Ek 15: 2005-2007 yılları rasında yürütülen tarla denemelerinde vejetasyon dönemindeki hava ve toprak sıcaklıkları	125
Ek 16: Etki mekanizmaları ile sekonder metabolitler arasındaki korelasyon	126

1. GİRİŞ

Rosales takımında, *Rosaceae* (Gülgiller) familyasında yer alan *Fragaria* cinsinin içerdiği bitki türlerine ve bu türlerin yenilebilir meyvelerine çilek adı verilmektedir. Çilek, hem sanayiye elverişli hem de taze olarak tüketilebilen çok lezzetli ve hoş kokulu bir meyve türüdür. Taze olarak tüketilmesinin yanında, reçel, marmelat, dondurma, pasta ve likör yapımında da geniş ölçüde kullanılmaktadır. Ayrıca dondurularak saklanabilmekte, konservesi yapılmakta ya da meyve suyu olarak değerlendirilebilmektedir. İnsan sağlığı ve beslenmesi açısından son derece yararlı bir meyve olan çilek C vitamini bakımından da zengindir. Ayrıca selüloz içeriğinden dolayı sindirimi kolaylaştırmakta ve yüksek düzeyde elajik asit ihtiva ettiğinden dolayı da kanseri önleyici özelliği bilinmektedir.

Anayurdu Kuzey ve Güney Amerika olan çilek deniz seviyesinden 3,255 m yükseklikte, soğuk yörelerde, subtropik bölgelerde, sulanabilir çöllerde, yaz aylarında gece gündüz aydınlık olan arktik (Kuzey Kutbuna yakın) bölgelerde, Ekvator'da, yani çok değişik ekolojik koşullarda doğal olarak yetişebilmektedir. Kuzey Yarım Küre'nin ılıman bölgeleriyle birlikte Güney Yarımküre'de geniş ölçüde tarımı yapılmaktadır. İlk olarak kültüre alınan çilek türü "Orman Çileği" veya "Yabani Çilek" olarak adlandırılan, meyveleri küçük fakat kokulu *Fragaria silvestris*'dir (Aybak, 2000).

Günümüzde yetiştiriciliği yapılan kültür çeşitlerinin büyük çoğunluğu, 1750 li yıllarda Avrupa'da *Fragaria chiloensis* ve *Fragaria virginiana* isimli iki türün hibritlenmesi ile elde edilen *Fragaria x ananassa*'dan elde edilmiştir. Bu türe ismi meyvelerinin kokusu ananasa benzediğinden dolayı verilmiştir (Maas, 1998). Dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan çeşit California Üniversitesi'nde geliştirilen Camarosa çeşididir. Bu çeşit kısa gün çeşidi olup erkenci ve iri meyvelidir. Meyveleri parlak, kırmızı, sert ve yola dayanıklıdır (Hancock, 1999). Ülkemizde de en çok üretimi yapılan çilek çeşitlerinden birisi Camarosa'dır. Bu çeşit sera ve açıkta yaz dikimi çilek yetiştiriciliğine uygundur (Aybak, 2000).

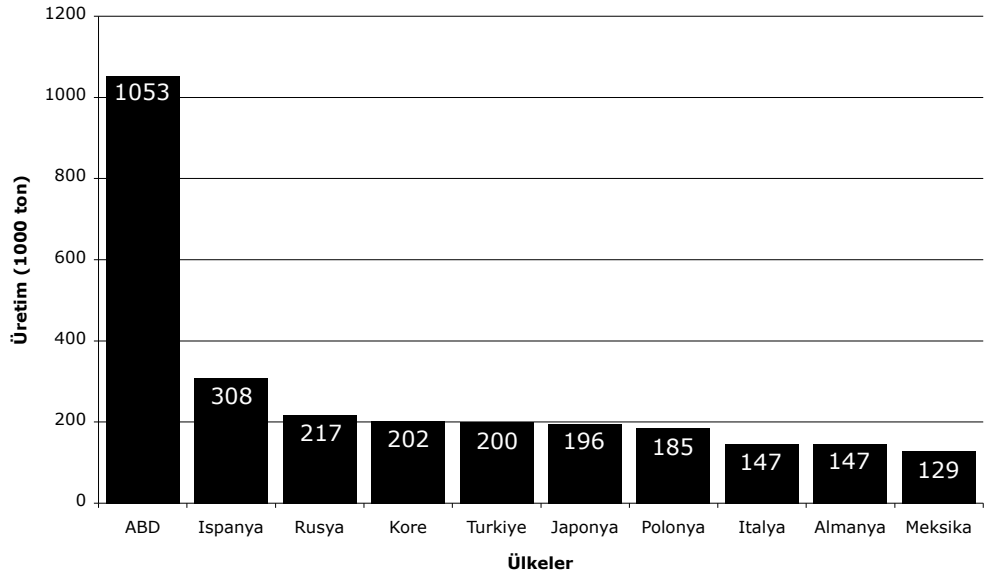
Çilek yalancı bir meyvedir. Yenilen çilek meyvesi 40-60 pistilin birleşmesinden oluşan çiçek ekseninin çiçek tablasının genişleyerek etlenmesiyle oluşmakta ve yüzeyinde çok sayıda gerçek meyve (aken) sayılan küçük tohum görünümündeki kabartılar bulunmaktadır. Çilek yüzeysel saçak köklü bir bitkidir. Kökler kök gövdesi (ana taç)'nden çıkmaktadır. Kökler iyi drene edilmiş, süzek kumlu topraklarda 60-70 cm derinliğe kadar inebilmektedir. Killi topraklarda ise kökler yatay büyümektedir. Bitki yaşlandıkça kök sistemi odunlaşmakta ve yeni sürgünler vermektedir. Kök ve genç kök sürgünleri taşıyan sürüngen gövdelere stolon adı verilmektedir. Kollar yaz boyunca yeni yaprakların koltuklarındaki tomurcuklardan meydana gelmektedir. Kollar sayesinde çilek vejetatif olarak üretilabilmektedir. Çileğin +7.2 °C altındaki sıcaklık isteği toplam 400-500 saattir. Bu gereksinimin tamamı doğal olarak karşılanamadığında fideler soğuk depolarda bir iki hafta tutularak yapay olarak soğuklama ihtiyacı karşılanmaktadır. Soğuklama gereksinimi örtüaltı yetiştiriciliğinde ve Akdeniz'in ve Ege'nin sıcak bölgelerinde açıkta yetiştiricilikte sorun olabilmektedir. Optimum sıcaklık isteği gündüzleri 18-22°C, geceleri 10-13°C'dir. Çileklerde büyüme için sıcaklık eşiği 16°C'dir. Sonbaharda havaların serinlemesi ile beraber bitkilerde vejetatif büyüme yavaşlamakta, kök ve toprak altı gövdesinde nişasta toplanmaktadır. Toprak isteği olarak süzek, kumlu tınlı, hafif organik maddece ve humusca yeterli, besin maddelerince zengin, hafif asit (pH 5.5-6.5), suda ve toprakta Cl (klor) ve Na (Sodyum)'dan kaynaklanan tuzluluğun az olduğu topraklarda iyi gelişmektedir. Toprak pH alt sınırı 5.3'dür (Aybak, 2000).

Dünyada çilek üretimi 2005 verilerine göre yaklaşık 3,700,000 ton ve Türkiye'nin bu üretimdeki payı 200,000 ton ile %5.4'tür. Dünya çilek üretiminde beşinci sırada olan Türkiye'de ekiliş alanı 14,000 ha'dır (Çizelge 1.1, Şekil 1.1). FAO (Food and Agricultural Organization) verileri incelendiğinde ABD yaklaşık olarak 50 ton/ha verim elde ederken bunu yaklaşık 40 ton/ha ile İspanya izlemektedir. Ülkemizdeki verim ise 14 ton/ha civarlarındadır (Anonymous, 2007). Son on yıl dikkate alındığında Türkiye'deki çilek üretimi ve ekim alanları yaklaşık olarak iki kat artmıştır (Şekil 1.2). Türkiye, dondurulmuş çilek ihracatından yıllara göre değişen 10,000-17,000 ton ürüne karşılık 10-30 milyon dolar, taze çilek ihracatından ise,

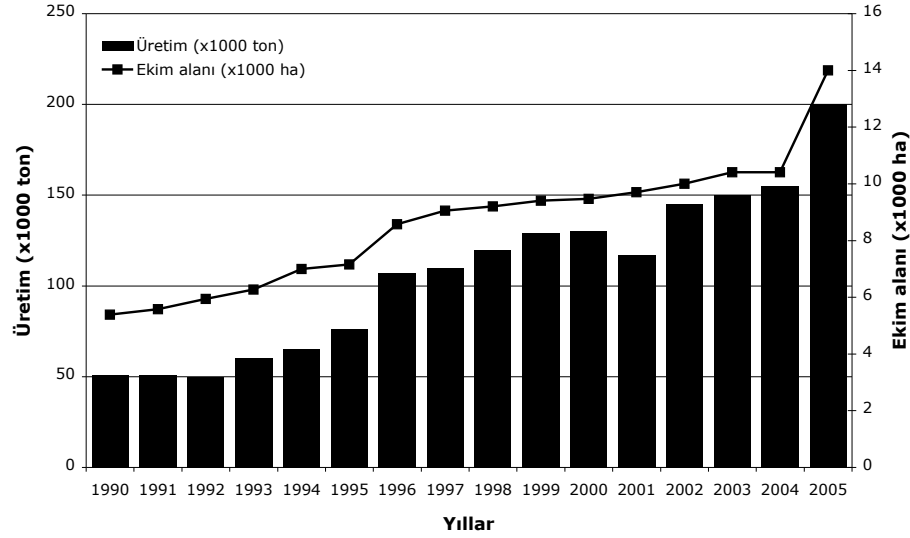
2003 yılında 179,000 kg ürüne karşılık 146,000 dolar döviz elde etmiştir (Anonymous, 2003).

Çizelge 1.1. 2005 yılı Dünya çilek üretimi (Anonymous, 2007)

Ülke	Alan (x1000 ha)	Üretim (x1000 ton)	Verim (ton/ha)
ABD	21	1053	50
İspanya	8	308	41
Rusya	36	217	6
Kore	7	202	29
Türkiye	14	200	14
Japonya	7	196	29
Polonya	55	185	3
İtalya	6	147	25
Almanya	13	147	11
Meksika	4	129	32



Şekil 1.1. 2005 yılı dünya çilek üretimi



Şekil 1.2. Türkiye’de 1990-2005 yılları arasında Türkiye’de çilek ekim alanı ve üretimi

Türkiye çilek üretiminin %7.1’ini ve Ege Bölgesi çilek üretiminin %60’ını sağlayan Aydın ili, çilek yetiştiriciliği açısından en önemli üretim merkezlerinden biridir. Aydın ili’nde çilek yetiştiriciliği tamamen örtüaltı yetiştiriciliği şeklindedir ve üretimin en yaygın olduğu bölge Sultanhisar ve Köşk ilçelerini kapsamaktadır (Çizelge 1.2). 2005 yılı verilerine göre Sultanhisar ilçesi 12,320 ton ile ilin çilek üretiminin %87’sini karşılamaktadır (Anonymous, 2005; Anonymous, 2007).

Çizelge 1.2. 2001-2005 yıllarında Aydın ili merkez ve ilçelerindeki çilek üretimi (Anonymous, 2005)

	2005		2004		2003		2002		2001	
	Alan (da)	Üretim (ton)	Alan (da)	Üretim (ton)	Alan (da)	Üretim (ton)	Alan (da)	Üretim (ton)	Alan (da)	Üretim (ton)
Sultanhisar	3850	12320	3100	10850	2500	7500	2500	7500	2900	10150
Köşk	260	800			163	489	93	372	195	682
Merkez	151	452								
İncirliova	127	381	127	445	127	445	50	150		
Yenipazar	100	200	100	200	90	180	90	180	44	132
Nazilli	15	45	100	300	30	90	30	90	30	90
Karpuzlu	3	9	3	9						
Didim			9	36	13	65	7	35	5	30
TOPLAM	4506	14207	3439	11840	2923	8769	2770	8327	3174	11084

Sultanhisar ilçesinde yoğunlaşmış olarak yüksek tünel şeklinde yapılan çilek tarımı; yüksek randıman elde etmek ve verimliliği artırmak için sulama, mekanizasyon, gübreleme ve ilaçlama programları gibi tüm olanakların kullanıldığı entansif bir tarım şeklinde gerçekleştirilmektedir. Dikimlerde genel olarak Camarosa çeşidi frigo fideler kullanılmaktadır. Aydın İli'nde çilek fidelerinin dikimi yaklaşık olarak ağustos ayının başında genellikle solarizasyon uygulanmış sırtlara yapılmakta ve eylül ayında sırtların üzerine siyah malç çekilmektedir. Ocak ayında çilek bitkilerinin yeşil aksamı traşlanarak bitkilerin üzerine naylon örtü çekilerek yüksek tüneller oluşturulmaktadır. Bölgede hasat mart ayının sonunda başlamakta ve haziran ayı sonuna kadar devam etmektedir. En yüksek verim nisan sonu mayıs başı gibi alınmaktadır.

Çilek gelişimini çevresel, genetik ve biyolojik faktörler etkilemektedir. Üretimde verimi etkileyen en önemli faktörlerden biri bitki koruma problemleridir. Yabancı otlar, böcekler ve hastalıkların neden olduğu zarar diğer bitkilerde olduğu gibi çilek bitkisinde de kalitatif ve kantitatif olarak önemli ölçüde kayıplara neden olmaktadır. Dünyada yapılan çalışmalar çileklerde bir çok fungal patojenin ekonomik ölçüde zarara neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu fungal hastalıklar başlıca yaprak, meyve gibi kısımları hastalandıran toprak üstü hastalıklar ve kök ile kök boğazını hastalandıran toprak kaynaklı hastalıklar olarak sınıflandırılabilir. Yeşil aksamda görülen hastalıklar kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.:Fr.) başta olmak üzere, külleme (*Sphaerotheca macularis* (Wallr.:Fr.) Jacz.), yaprak leke hastalığı (*Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindau) ve antraknoz (*Collectotrichum* spp.) olarak sayılabilir. Toprak kaynaklı fungal hastalıklardan ise en yıkıcı olanları *Rhizoctonia solani* Kühn, *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt, *Phytophthora fragaria* C. J. Hickman, *Verticillium dahliae* Kleb, *Pythium* spp. ve *Fusarium* spp. olduğu bildirilmiştir (Maas, 1998; De los Santos *et al.*, 2003). Farr *et al.* (1989)'nın sadece ABD'de 500 adet konukçusunu saptadıkları *R. solani* dünyanın birçok yerinde çileklerde de ciddi kayıplara neden olmaktadır. *Rhizoctonia* çileklerde ana kökleri ve ona bağlı besleyici kökleri öldüren toprak kaynaklı bir patojen olup fidelikte ve tarlada en iyi şekilde metil bromür (MeBr) ile kontrol edilebilmektedir.

Fakat uygulamadan sonra rekabetçi mikroorganizmaların da azalması (Maas, 1998) veya bulaşık fide ile hastalık tekrar kendini gösterebilmektedir.

Çileklerde *P. cactorum* adı verilen fungusun neden olduğu kök çürüklüğü hastalığının belirtileri ise kök ve meyvelerde görülmektedir. Hastalık çoğunlukla bitkinin üst kısımlarından başlamakta ve köklere doğru ilerlemektedir. Bazı durumlarda kollarda yeni köklenen genç çilek bitkilerinden de başlayabilmektedir. Hastalığa karşı en iyi mücadele yöntemleri; temiz fide kullanımı, iyi bir drenaj ve fideleri uygun bir fungusit solüsyonuna bandırarak dikmektir. Daha önce çilek yetiştirilen bir alanda yine çilek dikimi yapılacaksa mutlaka solarizasyon uygulanması önerilmektedir (Maas, 1998).

Ülkemizde çilek üretiminin en yaygın olduğu Ege ve Akdeniz Bölgelerinde üretimi sınırlandıran ve ekonomik kayıplara neden olan en önemli hastalıkların başta Kurşuni küf (*B. cinerea*) ve toprak kaynaklı fungal hastalıklardan da *Rhizoctonia* spp., *P. cactorum* (Kapkın, 1978; Pala, 1987; Güncü, 1989) olduğu bilinmektedir. Son yıllarda Aydın ili çilek alanlarında yürütülen çalışmalarda ise çileğin en önemli toprak kaynaklı hastalıklarından biri olan *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*'nin mevcut olmadığı, *V. dahliae* nın çok sınırlı oranda bulunduğu (Benlioğlu *et al.*, 2002); *R. solani* ve *P. cactorum*'un ise çileklerde en önemli toprak kaynaklı hastalıklar olduğu ve % 84'e varan bitki ölümlerine neden olduğu rapor edilmiştir (Benlioğlu *et al.*, 2004).

Dünyada pek çok ülkede çilek yetiştiricisi, toprak kaynaklı etmenler, nematod ve yabancı otlarla mücadele için dikim öncesi toprak dezenfeksiyonu uygulamaktadır. Bilindiği gibi toprak dezenfeksiyonu başta MeBr olmak üzere fümigantlarla ya da iklimin uygun olduğu bölgelerde toprak solarizasyonu şeklinde uygulanmaktadır. Ancak değeri yüksek ve entansif tarımın gerektirdiği çilek gibi ürünlerde yaygın olarak kullanılan MeBr stratosferdeki koruyucu ozon tabakasını incelttiği için bu kimyasalın üretimine ve kullanımına uluslararası düzeyde sınırlamalar getirilmiştir. Yakın bir tarihte de tamamen kullanımdan kaldırılacaktır. Bu sınırlandırmalar Dünyada MeBr yerine kimyasal veya diğer alternatiflerinin kullanımını gündeme getirmiştir (Katan *et al.*, 1976; Donohoe *et al.*, 2001; Ferguson *et al.*, 2001; Fritsch,

1998; Gullino *et al.*, 2002; Lopez-Aranda *et al.*, 2001; Martin ve Bull, 2002; Pinkerton *et al.*, 2002, Martin, 2003). Ülkemizde de bu amaçla Dünya Bankası destekli bir proje (TTGV-P2/29M) yürütülmüş ve başta toprak solarizasyonu olmak üzere metam sodium'u da kapsayan bir dizi alternatiflerin kullanımı pratiğe verilmiştir (Benlioğlu *et al.*, 2004; Benlioğlu *et al.*, 2005).

Toprak kaynaklı fungal patojenlerle savaşmada adı geçen etmenlere dayanıklı çeşidin olmamasından dolayı söz konusu hastalıklar ile mücadelede en etkili yöntem toprak dezenfeksiyonudur (Berg, 2007). Dünyada bu amaçla yaygın olarak uygulanan MeBr kullanımının sınırlandırılması diğer alternatif toprak dezenfeksiyonu yöntemlerinin gündeme gelmesine neden olmuştur. Bu durumda özellikle solarizasyon uygulamalarının kültürel ve biyolojik savaş uygulamalarını da içine alan entegre bir savaşım çatısı altında kullanılması çileklerde toprak kaynaklı fungal hastalıkların mücadelesinde en etkili yöntemdir (Martin ve Bull, 2002). Bilindiği üzere solarizasyon sonucunda topraktaki zararlı mikroorganizmaların yanısıra saprofitik ve faydalı diğer mikroorganizmalar da ölmekte ya da popülasyonları düşmektedir. Bundan dolayı topraktaki mikroorganizmalar arasındaki rekabet azalmakta ve antagonist bakterilerin miktarı solarize edilmemiş topraklara nazaran daha da artmaktadır. Yürüten ve arkadaşları (1986) toprak solarizasyonunun çilek köklerinde bakteri ve aktinomisetlerin popülasyonlarını arttırdığını bildirmiştir. Martin ve Bull (2002) fumige edilmiş topraklarda bitkilerin kökündeki *Pseudomonas*'ların sayısında fumige edilmemiş topraklara nazaran bir artış olduğunu belirtmişlerdir. Gamliel ve Katan (1993) floresan *Pseudomonas*'ların solarize edilmiş ve solarize edilmemiş topraklardaki patojenleri baskı altına alma ve bitki gelişimine etkilerini inceledikleri çalışmalarında bu bakterilerin solarizasyon yapılmamış topraklarda yetiştirdikleri domates bitkilerinin gelişimini arttırdığını ancak solarizasyon yapılmış topraklarda gelişmeye etkisi olmadığını bildirmiştir. Floresan *Pseudomonas*'larla domates köklerinin inokulasyonu veya domates bitkilerinin solarizasyon yapılmış toprağa şaşırtılmasının *Penicillium pinophilum*'un kolonizasyonunu baskıladığını ve solarize edilmiş toprakta yetiştirilen domates bitkisinin kökünde testlenen *P. putida* izolatının daha iyi kolonize olduğunu belirtmişlerdir.

Bu yaklaşımlar içinde biyolojik savaş elemanları, hastalıklar ile mücadele yanında bitki gelişimini de teşvik ederek verim artışlarına neden oldukları için ayrı bir önem taşımaktadırlar. Dünyada çilek mikrobiyal ekolojisi ile ilgili çalışmalar henüz 15-20 yıllık bir geçmişe sahip olmakla birlikte (Martin ve Bull, 2002), günümüzde çilekte kök hastalıklarını önlemek ve bitki gelişimini teşvik etmek amacıyla önerilen fungal ve bakteriyel kökenli ruhsatlı biyopreparatların varlığı da bilinmektedir (Berg, 2007). Bu biyopreparatlar Çizelge 1.3'te özetlenmiştir.

Çizelge 1.3. Dünya'da çilekte toprak kaynaklı patojenlere karşı ruhsatlı biyopreparatlar (Berg, 2007)

Ticari İsmi	Biyolojik Savaş Elemanı	Etki Gösterdiği Hastalıklar	Firma, Ülke
Bio-fungus (Supresivit, Anti-fungus)	<i>Trichoderma</i> sp.	<i>Sclerotinia</i> , <i>Phytophthora</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium</i> spp., <i>Fusarium</i> , <i>Verticillium</i>	BioPlant, Danimarka
Polversum (Polygandron)	<i>Pythium oligandrum</i>	<i>Pythium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Botrytis</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp., <i>Alternaria</i> spp., <i>Tilletia</i> , <i>R solani</i>	Biopreparaty Ltd., Çek Cumhuriyeti
Root-Shield (PlantShield, T-22 Planter box)	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Pythium</i> spp., <i>R. solani</i> , <i>Fusarium</i> spp.	Bioworks Inc., ABD
Rhizo-Plus	<i>Bacillus subtilis</i>	Bitki gelişimini artırıcı	KFZB Biotechnik Almanya
RhizoStar	<i>Serratia plymuthica</i> HRO-C48	Kök bölgesinde genel koruyucu	E-nema, Almanya

Çizelge 1.3'te görüleceği gibi ruhsatlı biyopreparatlardan 2 tanesi bakteriyel orijinlidir. Bilindiği gibi dünyada bitkilerde görülen yeşil aksam ve kök hastalıklarına karşı biyolojik savaş amacıyla bir çok bakteri kullanılmaktadır (Campbell, 1989). Bu bakteriler bitkilerin rizosfer veya filosferinde kolonize olabileceği gibi endofitik olarak da bulunabilmektedir (Kloepper *et al.*, 1999).

Biyolojik savaşta kullanılan antagonist bakterilerin bitki patojenlerine karşı etki mekanizmaları; besin ve yer için yarışma, antibiyotik ve toksin oluşturma ya da hücre duvarını yıkan enzimleri üretme olarak üç temel başlık altında gruplandırılabilir (Fravel, 1988). Bakteriyel biyolojik savaş ajanlarının sahip

olduğu 1) antibiyotik sentezi, 2) demiri bağlayan sideroforları üreterek çözülebilir demiri oluşturma ve bunu bitkinin kullanımına sunma, ayrıca patojenler için demir rekabeti yaratma, 3) HCN gibi antifungal etkisi bulunan düşük molekül ağırlıklı bileşikler oluşturma, 4) Fungal hücre duvarını eriten kitinaz, β 1-3 glukanaz, proteaz ya da selüloz gibi enzimleri üretme ve 5) yer ve besin rekabetine girme gibi özellikleri sayesinde biyokontrolde doğrudan kullanılabilirler. Bakteriler ürettikleri bileşikler ile doğrudan olduğu gibi dolaylı olarak da etkili olabilmektedir. Bu bileşikler sayesinde toprakta bulunan besin maddelerinin bitki tarafından alımını kolaylaştırarak bitki gelişimini arttırıcı etkide de bulunmaktadırlar. Toprakta birçok bitkinin kökünde yaşayan bu bakterilere genel olarak bitki gelişimini arttıran kök bakterileri (Plant Growth Promoting Rhizobacteria PGPR) adı verilmektedir. Bu bakteriler 1) atmosferik azotu bağlayarak bitkiye sunabilmekte, 2) siderofor sentezleyerek bitkilerin topraktaki demiri kullanmasına yardımcı olabilmekte, 3) birçok bitki hormonu üretebilmekte (örneğin IAA), 4) fosfor gibi bazı mineral maddeleri çözerek bunu bitkinin kullanımına sunabilmekte ve 5) sentezlediğı diğer bileşikler sayesinde bitki büyümesini ve gelişimini ayarlayabilmekte, ayrıca bitkide dayanıklılığı teşvik edebilmektedir (Penrose ve Glick, 2003).

Bu çalışma, Aydın ilinde çilek ve çeşitli bitkilerin rizosferinden izole edilen bakterilerin çileklerde toprak kaynaklı fungal hastalık etmenlerinden *Rhizoctonia solani* ve *Phytophthora cactorum*'a karşı *in-vitro* ve *in-vivo*'da biyolojik savaşım olanaklarını araştırmak ve etki mekanizmalarını belirlemek amacıyla ele alınmıştır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Toprak kaynaklı fungal patojenler tüm dünyada çileklerde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan biyolojik etmenlerdendir (Maas, 1998). Bunlardan en tahripkar olanları *Verticillium dahliae*, *Phytophthora cactorum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora fragariae*, *Phythium* spp. ve *Fusarium* spp. olarak sayılabilir (Maas, 1998; De los Santos *et al.*, 2003). Bu hastalıklardan *Verticillium dahliae*'nin neden olduğu solgunluk hastalığı, etmenin sahip olduğu mikrosklerotları sayesinde uzun süre toprakta canlılığını sürdürebilmekte ve bu da hastalığın kontrolünü güçleştirmektedir. Çok sayıda konukçusu bulunan hastalık kontrol edilmediği takdirde bir çok bölgede ticari çilek üretimi engellenmektedir (Maas, 1998). Kurze *et al.* (2001)'nin yaptığı bir çalışmada *V. dahliae*'nin %80 oranında verim kaybına neden olduğu bildirilmiştir. Çileklerde taç çürüklüğüne neden olan *Phytophthora cactorum* ise ilk kez 1952 yılında Almanya'da rapor edilmesinin ardından günümüzde birçok Avrupa ülkesi ile dünyanın diğer kısımlarında çilek üretiminde önemli kayıplara neden olmaktadır. Hastalık, Norveç'te 1992 (Eikemo *et al.*, 2000), Polonya'da 1994 (Irzykowska, 2005), İspanya'da 2002 (Porras *et al.*, 2007) yıllarında tespit edilen *P. cactorum* fideler yardımıyla farklı lokasyonlara çok hızlı bir şekilde yayılmaktadır. Ülke içinde ve ülkeler arasında hastalığın yayılmasında en önemli etkenlerden birinin hastalıklı fideler olduğu da belirtilmiştir. Lokal olarak hastalık drenaj ve sulama suları ile bulaşık toprak işleme makinaları gibi araçlarla yayılmaktadır (Eikemo *et al.*, 2000; 2003). *Phytophthora cactorum* çilek bitkisinde "Taç Çürüklüğüne" neden olabileceği gibi meyvelerde "Derimsi Meyve Çürüklüğü" adı verilen bir hastalığa neden olmaktadır (Irzykowska, 2005). *Phytophthora* hastalıklarından *Phytophthora fragariae* ise ilk kez 1927 yılında İskoçya'da rapor edilmiştir. 1995 yılında Norveç'te saptanmış olup *P. cactorum*'un aksine sadece sınırlı alanlarda ortaya çıktığı bildirilmiştir. Toprak kaynaklı olan her iki hastalık etmeninin oluşturdıkları dinlenme sporları (oospor) nedeniyle mücadelesinin zor olduğu ve etmenin birkaç yıl tarlada canlı kalabildiği belirtilmiştir (Eikemo *et al.*, 2003). Yine toprak kaynaklı ve saprofitik karakterde *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Cylindrocarpon* ve *Fusarium* türlerinin neden olduğu Siyah Kök Çürüklüğü hastalığı ise dünyada çilek üretimini etkileyen ve önemli verim kayıplarına neden olan kök

hastalık kompleksi olarak bilinmektedir. Bunlar içinde en önemli patojenlerin *Rhizoctonia* ve *Pythium* türlerinin olduğu, *Cylindrocarpon* ve *Fusarium* türlerinin ise minör patojenler olarak bulunduğu bildirilmektedir (Martin, 2000; Manici *et al.*, 2005). Martin ve Bull (2002) *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Cylindrocarpon* spp.'nin ABD'de Kaliforniya'da çilekte %85 lere kadar varan verim kayıplarına neden olabileceğine değinmişlerdir.

Yurdumuzda Ege ve Akdeniz Bölgelerinde yetiştirilen çileklerde sorun olan en önemli toprak kaynaklı fungal hastalıkların *Rhizoctonia* spp., *Phytophthora cactorum* olduğu bildirilmiştir (Kapkın, 1978; Pala, 1987; Güncü, 1989). Kapkın (1978) İzmir'de yaptığı çalışmada elde ettiği 2092 fungal izolattan *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp.'ni kök ve taç bölgesinde en yaygın fungal izolatlar olarak saptamıştır. Pala (1987), Akdeniz bölgesindeki çileklerde toprak kaynaklı *R. solani*'nin önemini vurgulamıştır. Gürer ve Coşkun (1993) Zonguldak ve Bartın'daki çilek alanlarında *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme* ve *R. solani*'yi saptamışlardır. Yürüten ve arkadaşları (1986) toprak kaynaklı mikroorganizmaların neden olduğu kök çürüklüğü hastalığının Akdeniz Bölgesinde çileklerde önemli sorunlara yol açtığını, hastalık nedeniyle %40-60 oranında bitkinin öldüğünü bildirmiştir. Aydın ilindeki çilek yetiştiriciliğinde *R. solani* ve *P. cactorum*'un en önemli toprak kaynaklı hastalıklar olduğu ve hiç bir uygulama yapılmayan topraklarda % 84'e varan bitki ölümlerine neden olduğu (Benlioglu *et al.*, 2004), *Verticillium dahliae*'nin çok sınırlı oranda bulunduğu ve dünya çilek üretiminde çileğin en önemli toprak kaynaklı hastalıklarından biri olan *Phytophthora fragariae* C. J. Hickman var. *fragariae*'nin mevcut olmadığı bildirilmiştir (Benlioglu *et al.*, 2002). Adı geçen araştırmacılar, üreticilerin kullandıkları fidelerin de bu etmenlerle bulaşık olduğunu ve toprak dezenfeksiyonu uygulanmayan alanlarda ikinci yıla bırakılan çileklerin bu hastalıklar nedeni ile tamamen öldüğünü ifade etmişlerdir.

Çileklerde toprak kaynaklı fungal patojenler ile mücadele basit olarak hastalıktan ari toprağa temiz üretim materyalinin dikilmesine yöneliktir. Yetiştiricilik sırasında yapılan sulama gibi işlemlerle de etmenlerin bulaştırılmamasına dikkat edilmektedir. Topraktan patojenlerin elimine edilmesi ya da inokulum miktarının azaltılması genel

olarak toprak dezenfeksiyonu ile mümkündür. Çileklerde toprak fumigasyonu ile yıkıcı hastalıklardan olan *V. dahliae* ve *Phytophthora* spp.'nin hastalık oranı azaltılabilmektedir (Martin ve Bull, 2002). *Verticillium* solgunluğunun kontrolü son yıllara kadar en yaygın kullanılan toprak fumigantlarından biri olan MeBr ile yapılabilmekteyken bu kimyasalın uygulamadan kalkması ile topraktaki mikrosklerotların öldürülmesi büyük sorun haline gelmiştir (Kurze *et al.*, 2001). Etmenin geniş konukçu dizisi nedeniyle münavebe ile hastalığın kontrolünde etkili korunma sağlanamamaktadır (Gordon *et al.*, 2006). Bir başka toprak kaynaklı patojen olan *Phytophthora* spp.'nin neden olduğu hastalıkları kontrol altına alabilen en etkili fungusitlerden birinin Aliette (Fosetyl-Al) olduğu ve bu fungusitin temiz fide ile birlikte kullanılması ve drenaja dikkat edilmesi durumunda hastalığın daha iyi kontrol edilebileceği bildirilmiştir (Eikemo, 2003). Toprak kaynaklı hastalıkların kontrolünde alternatif yöntemlerden bir tanesinde toprak solarizasyonudur (Katan *et al.*, 1976; Grinstein *et al.*, 1995). Porras *et al.* (2007) yaptıkları çalışmada *P. cactorum*'u MeBr uygulanması ile doğal enfekteli tarlada solarizasyon uygulamasının etmenin popülasyonunu %55-100 oranında düşürdüğünü bildirmişlerdir. Bu maksatla yapılan çalışmalarda Aydın ili Sultanhisar ilçesinde çilek ekim alanlarında toprak solarizasyonunun metil bromüre iyi bir alternatif olduğu bulunmuştur (Benlioğlu *et al.*, 2004; Benlioğlu *et al.*, 2005).

Tüm bu mücadele yöntemleri içinde toprak kaynaklı fungal hastalıkların kontrolünde biyolojik savaş kapsamında kök bakterilerinin kullanılması da bir alternatif olarak düşünülmektedir (Berg *et al.*, 2000a). Ancak bu konuda dünyada çok az sayıda biyokontrol ürününün piyasada mevcut olduğu bildirilmiştir (Berg *et al.*, 2001).

Dünyada yapılan çalışmalar ile biyolojik savaşta kullanılabilecek olan bakteriler birçok bitkinin değişik kısımlarından ya da topraktan izole edilmekte ve bu bakterilerin antagonistik özellikleri ile patojene olan etki mekanizması ortaya konulmaya çalışılmaktadır.

Leben *et al.* (1987) patateslerde sorun olan *V. dahliae*'nin neden olduğu *Verticillium* solgunluğu hastalığını floresan *Pseudomonas* M-4 izolatu ile kontrol etme olanaklarını incelemişler ve hastalık bulaştırılmış saksılarda yetiştirilen patates

bitkilerine antagonist bakterilerin toz formülasyonu uygulamasının sürgün, kök yaş ağırlıkları ile bitki boylarında önemli ölçüde fark oluşturduğunu saptamışlardır. Buna ek olarak gövde dokusundaki *V. dahliae* propagüllerinin bakteri uygulaması yapılan patateslerde daha az olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar aynı izolatın 8 saat 77°C’de pastörize edilmiş topraklarda patates bitkisi gelişimine olumlu yönde etki etmediğini, buna rağmen bakterinin hastalık ile bulaştırılmış topraklara nazaran patatesin kök bölgesinde daha iyi kolonize olduğunu saptamışlardır.

Gamliel ve Katan (1993) domates köklerinin floresan *Pseudomonas*’lar ile inokule edilmesinin ya da fidelerin solarize edilmiş topraklara dikilmesinin *Penicillium pinophilum* patojenini baskı altına aldığını ve bitkilerdeki gelişme geriliğini engellediğini bildirmişlerdir. Buna ek olarak bitki gelişimini teşvik eden *Pseudomonas putida*, *P. fluorescens* ve *P. alcaligenes*’ın bezelyede *Sclerotium rolfsii*, domates ve pamukta *Fusarium* solgunluğunun neden olduğu hastalık oranını düşürdüğünü saptamışlardır. Bu bakteriler solarize edilmemiş topraklardaki bitkilere uygulandığında bitkilerin kuru ağırlıklarında anlamlı ölçüde artışa neden olurken, solarize edilmiş topraklarda yetiştirilen bitkilerde herhangi bir etki göstermediği belirtilmiştir. Streptomisin’e dayanaklı hale getirilen floresan *Pseudomonas*’lar ile yapılan denemelerde kök bölgesindeki bakteri popülasyonunun solarize edilmiş topraklarda yetiştirilen bitkilerde solarize edilmemiş göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar floresan *Pseudomonas*’ları toprakta minor ve major patojenleri etkili bir şekilde baskılayabilecek biyolojik savaş ajanları olarak önermişlerdir.

D’Ercole (1993) çileklerde *Rhizoctonia fragariae*’nın neden olduğu kök çürüklüğü hastalığını aynı türün patojen olmayan izolatları ile kontrol altına almaya çalışmıştır. Araştırmacı kontrollü koşullarda yürüttüğü denemelerde RF94 patojen olmayan izolatın hastalığı kontrol altına alabildiğini bildirmiş ve bu izolatın hızlı bir kök kolonizasyonuna sahip olabileceğine değinmiştir.

Hessenmuller ve Zeller (1996) *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter* ve *Pseudomonas* genuslarına ait 15 antagonist bakteri izolatı ile yaptıkları çalışmalarda çileklerde problem olan toprak kaynaklı fungal hastalıklardan *P. cactorum* ve *P.*

fragaria'yı *in-vitro* ve kontrollü koşullarda kontrol altına almaya çalışmışlardır. Tüm izolatlar ikili kültür testlerinde patojenlerin miseloyal gelişimini engellerken dört tanesinin çilek kök sisteminde hastalığı azalttığını saptamışlardır. En etkili izolat olarak buldukları *Bacillus licheniformis*'in çileklerde kök çürüklüğüne neden olan *P. cactorum*'u %68 oranında engellediğini bulmuşlardır. Araştırmacılar bu izolatın toprakta canlı kalabilmesinin ve kök yüzeyinde çok iyi kolonize olmasının antagonistik etkisinde önemli bir rol oynadığına değinmişlerdir.

De Freitas *et al.* (1997) fosfat çözme kabiliyetindeki kök bakterilerinin kanola bitkisinin gelişimini arttırıcı etkilerini kontrollü koşullarda saksı denemeleri ile araştırmışlardır. Tarlada yetiştirilen buğday, bezelye, kanola, arpa ve mısır bitkilerinin kök bölgesinden izole edilen 111 adet bakteriden 9 tanesinin PGPR özelliklerinin olduğunu yaptıkları fosfatı çözebilme testleri ile belirlemişlerdir. En etkili fosfat çözen bakteriler ise yapılan yağ asitleri (FAME) analizi sonucunda *Bacillus brevis*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis* ve *Xanthomonas maltophilia* olarak saptanmıştır. Fosfat çözen bakterilerin etkileri fosfatca yoksun topraklara kaya fosfatı ilave edilerek testlenmiştir. Bazı izolatların saksıdaki bitkilerin gelişimini istatistiki olarak arttırdığı görülürken bazılarının etkili olmadığı yazarlar tarafından bildirilmiştir. Kaya fosfatının ilave edilmediği denemede ise bakteriler saksılardaki bitkilerin ağırlıkları ve verimi açısından değerlendirildiğinde, *B. thuringiensis* diğerlerinden istatistiki olarak etkili çıkmıştır. Aynı şekilde *Xanthomonas maltophilia*'a da diğer *Bacillus* cinsi bakteriler gibi bitki gelişimine olumlu etki göstermiştir. Bu nedenle kanola bitkisindeki pozitif yöndeki gelişimin fosfat çözülebilirliği mekanizmasına bağlı olmadığı kanısına varılmıştır.

Koch *et al.* (1998) lahana köklerinden izole edilmiş ve etkinliği saptanmış üç bakteri izolatının (*Pseudomonas chlororaphis*, *P. putida* biotype A ve tanılanamamış U410) hıyar ve kıvrıcık lahana da hastalık oluşturan *Pythium ultimum*'a karşı antagonistik etkisini araştırmışlar ve U410 izolatının tohum uygulamalarının diğer ikisine göre hastalığı daha etkili bir şekilde kontrol altına aldığını saptamışlardır. Bezelyede ise *P. chlororaphis* ve U410 tohum uygulamaları ile *R. solani*'ye karşı sırasıyla %25 ve %30 oranında etki elde etmişlerdir. Aynı şekilde bu izolatlar ile pamukta *R. solani*'ye karşı %23-44 arasında bir etki sağlanmıştır. Aynı araştırmada çilek köklerinin *P.*

chlororaphis ve U410 bakteri süspansiyonlarına batırılması ile sera ve tarlada *Phytophthora fragaria* var. *fragaria* hastalığına karşı bir korumanın sağlandığı bildirilmiştir.

Gulati *et al.* (1999), daha önceki çalışmalarda *P. ultimum*'a karşı antagonistik etkisi saptanan *Pseudomonas chlororaphis* (I-112) izolatu ile çileklerde *Phytophthora fragaria* var. *fragaria*'nın neden olduğu kök çürüklüğü hastalığını kontrol altına almaya çalışmışlardır. Antagonist izolatın kök bandırma yöntemi ile çileklere uygulanmasının ardından hastalıkta %55 oranında azalma ve bitki kütlesinde önemli bir artış olduğunu saptamışlardır. Ayrıca yaptıkları ikili kültür testleri ile bu antagonistin *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora infestans*, *Phytophthora fragaria*, *Phytium ultimum* ve *Rizoctonia solani* miseloyal gelişimini %85 oranında azalttığını bildirmişlerdir.

De La Fuente *et al.* (2000), yemlik baklagillerde sorun olan *Pythium ultimum*'u iki floresan *Pseudomonas* ile kontrol altına almaya çalışmışlar ve kullandıkları antagonistlerin ürettikleri phenazine, 2,4-diacetylphloroglucinol, pyoluteorin ve pyrrolnitrin antibiyotiklerinin biyolojik kontrol aktivitesinde rol oynayabileceğine değinmişlerdir. Yukarıda bahsedilen iki floresan *Pseudomonas*'tan biri olan UP148 izolatu istatistiki olarak hastalığı önemli düzeyde kontrol etmiş ve phenazine antibiyotiği ürettiği belirlenmiştir. Buna ek olarak bu izolat HCN ve siderofor üretirken proteaz aktivitesi de gösterdiği saptanmıştır.

Berg *et al.* (2000a) çileklerdeki *Verticillium* solgunluğunu kontrol etmek amacıyla yaptıkları bir çalışmada yine çilek köklerinden izole ettikleri *Pseudomonas* ve *Streptomyces* cinsi bakterileri kullanmışlardır. Sera denemelerinde *Streptomyces albidoflavus* ile %117, *Pseudomonas fluorescens* ile %344; tarla denemelerinde ise *S. albidoflavus* ile %113, *P. fluorescens* ile %247 nisbi verim artışı sağlamışlardır. Yapılan *in-vitro* denemelerde *Verticillium*'un yanında *R. solani* ve *P. cactorum*'a karşı da antifungal etki gösteren *Pseudomonas*'ların hepsinin HCN ürettiği saptanırken, *Streptomyces*'lerin hiçbirinin bunu üretmediği belirlenmiştir. Bunun tam tersi durum kitinaz üretimi için ortaya çıkmış ve *Pseudomonas*'lar kitinaz

üretmezken *Streptomyces*'lerin ürettiği saptanmıştır. Ayrıca çalışmada tüm izolatların siderofor oluşturduğu da ortaya konmuştur.

Kurze *et al.* (2001), *Serratia plymuthica* HRO-C48'nin çilek bitkisinin gelişimine olan etkisi ile *V. dahliae* ve *P. cactorum*'a olan antifungal etkilerini araştırmışlardır. Yüksek kitin parçalayıcı aktivite gösteren bu izolat ile yapılan sera denemelerinde *Verticillium* solgunluğunun %18.5, *Phytophthora* kök çürüklüğünün ise %33.4 oranında azaldığı görülmüştür. Bu iki hastalık etmeni ile doğal bulaşık tarlalarda birbirini takip eden üç vejetasyon periyodu boyunca düzenlenen denemelerde; dikim öncesi bitki köklerinin antagonist solüsyonuna bandırılması ile yapılan uygulamanın *Verticillium* solgunluğunu ortalama %24.2 azaltırken verimi ortalama %296 oranında arttırdığı saptanmıştır. Buna benzer olarak *Phytophthora* kök çürüklüğü ortalama %9.6 azalırken %60 oranında da verim artışı elde edildiği bildirilmiştir.

Berg *et al.* (2001), *V. dahliae*'nin konukçusu olduğu bitkilerdeki potansiyel biyokontrol ajanı olabilecek kök bakterilerini değerlendirmişler ve bunun için patates, kolza ve çilek bitkilerinden bu bakterileri izole etmişlerdir. İzole edilen 60 bakteri ile yapılan ikili kültür çalışmalarında tüm bakteriler *V. dahliae*'ye karşı antagonistik etki gösterirken, 31 izolat *R. solani*'ye, 17 izolat *S. sclerotiorum*'a antagonistik etki göstermiştir. Her üç hastalık içinde en etkili izolatların kolza bitkisinden izole edildiği bildirilmiştir. Etki mekanizmalarına bakıldığında ise bu bakterilerin büyük bir çoğunluğunun (54 tane) proteaz, 4 tanesinin β -1.3 glukanaz, 9 tanesinin kitinaz aktivitesine sahip olduğu ve bu bakterilerin büyük bir kısmının kolza bitkisinden izole edildiğini belirtmişlerdir. Bakterilerin bitki gelişimine olan etkileri mikrolateler içinde çimlendirilen çilek tohumlarına bakteri uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Bakteri ile muamele edilmeyen tohumlar kontrol olarak kullanılmış ve 25 izolatın bitki gelişimini arttırdığı saptanmıştır. Denemede gövde ve kök uzunlukları açısından izolatlar değerlendirildiklerinde sırasıyla %30 ve %41 artış ile *Serratia plymuthica* (R12) izolatının en etkili olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri izolatların etkinliklerini değerlendirirken puanlama sistemine gitmişler, böylece sahip oldukları özelliklere göre en yüksek puan alanları en etkili izolatlar olarak değerlendirmişlerdir. Bu değerlendirme sonunda çilek izolatlarından *Pseudomonas putida* B (E2), patates izolatlarından *P. chlororaphis* (P15) ve kolza

izolatlarından ise *S. plymuthica* (R12) en etkili antagonistler olarak belirlenmiştir. Bu izolatların sera koşullarında kurulan denemede *Verticillium* solgunluğuna karşı etkili oldukları bulunmuştur. Uygulamadan 10 hafta sonra *P. putida* (E2)'nin uygulama yapılmamış kontrole göre %11, *P. chloraphis* (P15)'in ise %6 oranında solgunluğu azalttığı belirlenmiştir. Bunun tam tersi olarak *S. plymuthica* (R12) uygulamasının hastalık oranını istatistiki olarak arttırdığı saptanmıştır. Deneme verim değerleri açısından değerlendirildiğinde ise *P. putida* (E2)'nin %104, *P. chloraphis* (P15)'in %113 ve *S. plymuthica* (R12)'nin %72 oranında verim artışına neden olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Alstrom (2001) yapmış olduğu çalışmada kolza bitkisinin köklerinden izole ettiği bakterilerin *V. dahliae*'nin biyolojik kontrolünde kullanılma olanaklarını araştırmıştır. Enterobacteriaceae üyesi bir çok kırmızı pigmentli bakterinin yanında *Alcaligenes*, *Stenotrophonas* ve *Pseudomonas* genusundan bakterilerin de izole edildiği çalışmada kırmızı bakterilerin *Serratia* türleri ile benzerlik gösterdiği bildirilmiştir. *In-vitro* çalışmalarda bakteri izolatlarının fungusu doğrudan baskı altına almasının yanında dolaylı olarak da etkilediği bildirilmiştir. Çalışmada izole edilen 16 bakterinin özellikleri incelendiğinde bunlardan 8 tanesinin kitinaz, 12 tanesinin selüloz, 15 tanesinin proteaz aktivitesi gösterdiği, 11 tanesinin de fosfor çözücü etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca 7 izolatın da HCN oluşturduğu saptanmıştır. Kitinaz aktivitesi gösteren izolatların bir tanesi hariç diğerleri yağ asitleri analizi ile Enterobacteriaceae üyesi olarak tanılanmış ve diğer genoslara ait olan izolatların hiç birisinin kitinaz aktivitesine sahip olmadığı bildirilmiştir.

Berg *et al.* (2002) Almanya' da yaptığı bir çalışmada; değişik bitki türlerinde bakteriyel antagonistlerin varlığı ve çeşitliliğini araştırmışlardır. Bunun için patates, kolza ve çilek bitkileri ile topraktan izole ettikleri *Verticillium dahliae*'ye karşı antagonist etkisi bulunan kök bakterilerinin fenotipik ve genotipik çeşitliliğini saptamaya çalışmışlardır. İzole ettikleri toplam 5854 bakterinin *Verticillium*'a karşı olan etkisini ikili kültür testleri ile araştırmışlar ve 334 izolatı etkili bulmuşlardır. Çilek bitkisi kökünden izole edilen bakterilerin %9.5'i antagonistik aktivite gösterirken bunu %6.3 ile kolza, %3.7 ile patates ve %3.3 ile toprak bakterileri izlemiştir. Yazarlar kolza bitkisi kökünden izole edilen antagonist bakterilerin

Serratia spp. ve *Pantoea agglomerans* gibi *Enterobacteriaceae* üyeleri olduğunu bildirirken, çilek kökünden izole edilen antagonistlerin büyük bir çoğunluğunun (%69) *Pseudomonas putida* olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında çilekten izole edilen antagonist bakterilerin %30'unun *R. solani*'yi, %7'sinin *S. sclerotium*'u ve %6.4'ünün *P. cactorum*'u baskı altında tuttuğu saptanmıştır. Araştırmacılar antagonistik etkisini belirledikleri 33 *Enterobacteriaceae* üyesinin 26 tanesini *R. solani*'ye, 8 tanesini de *P. cactorum*'a etkili bulurken, bu izolatların 20'sinin kitinaz, 29'unun proteaz ürettiğini belirlemişlerdir. Buna benzer olarak etkinliği saptanmış 35 adet *P. putida* A izolatından 22 tanesi *R. solani*'yi, 6 tanesi *P. cactorum*'u engellerken, bunların 33 tanesinin proteaz, 13 tanesinin King B besiyerinde UV ışık altında floresan ışımaya, 11 tanesinin 2,4-DAPG, 20 tanesinin HCN, 24 tanesinin ise IAA ürettiği belirlenmiştir. Bu izolatlardan hiç birinin kitinaz üretmediği bildirilmiştir.

Krechel *et al.* (2002) yaptıkları bir çalışmada; patates bitkisinin kök yüzeyi, kök içi, gövde içi ve yaprak yüzeyindeki doğal olarak bulunan bakteri çeşitliliğini araştırmış ve bir gram bitki dokusunda sırasıyla 10^7 , 10^5 , 10^3 ve 10^5 oranında bakteri bulmuşlardır. Bunun yanında izole ettikleri 440 adet bakterinin *V. dahliae* ve *R. solani*'ye karşı olan antagonistik etkilerini ikili kültür testleri ile araştırmışlar, yüksek etki gösteren bakterilerin %10'unun kök yüzeyinden, %9'unun kök içinden, %6'sının yaprak yüzeyinden ve %5'inin gövde içinden izole edildiğini ortaya koymuşlardır. Bunlardan 33 izolatı *in-vitro*'da antogonistik mekanizmaları (glukanaz, kitinaz, pektinaz, selüloz ve proteaz aktiviteleri)'na göre karakterize etmişler ve bu özellikleri de göz önüne alarak geliştirdikleri puanlama sistemi ile antagonist adaylarını seçmeye çalışmışlardır.

Anandhakumar ve Zeller (2004a, 2004b) yapmış oldukları çalışmada bir çok kök bakterisinin çileklerde hastalık oluşturan *P. fragaria* var. *fragaria* ve *P. cactorum*'a karşı antagonistik etkilerine *in-vitro*'da bakmışlar ve bunlardan *Raoultella terrigena* (G-584), *Bacillus amyloliquefaciens* (G-V1) ve *Pseudomonas fluorescens* (2R1-7)'ı en etkili izolatlar olarak seçip *in-vivo* çalışmalarda kullanmışlardır. Almanya'da yürütülen sera ve tarla denemelerinde bu üç izolat *Phytophthora* inokule edilmiş topraklarda denenmiş ve kök bandırma yöntemi ile uygulanan izolatların %27-55

oranlarda bu iki hastalığı neredeyse “Aliette” isimli fungusit kadar kontrol altına aldığı saptanmıştır. Antagonistik etkinin farklı enzimatik reaksiyonlardan kaynaklandığı belirtilmiştir.

Vestberg *et al.* (2004) bazı mikroorganizma uygulamalarının çilekte bitki gelişimi ve bitki sağlığı üzerine olan etkilerini araştırmışlar ve bu amaçla *Glomus mosseae* (BEG29), *Bacillus subtilis* (M3), *Trichoderma harzianum* (DB11), *Pseudomonas fluorescens* (C7r12) ve *Gliocladium catenulatum* (Gliomix®) izolatlarını tek başlarına veya ikili olarak birbirleri ile karıştırarak *P. cactorum* ve *P. fragariae* hastalıklarına karşı denemişlerdir. Sera denemelerinin Finlandiya ve Belçika, fidelik denemelerinin ise Finlandiya’da yapıldığı çalışmalarda; *T. harzianum* ve *G. mosseae* haricinde uygulanan mikroorganizmaların uygulamadan dört hafta sonra yeterli yoğunluğa ulaştığı saptanmıştır. Yapılan yedi denemenin sadece ikisinde uygulanan mikroorganizmalar ya da karışımları anlamlı düzeyde bitki gelişimini arttırıcı etkide bulunurken, ikili karışım halindeki uygulamaların tek mikroorganizma uygulamalarına nazaran daha etkili olmadığı da bildirilmiştir. Uygulamalardan *B. subtilis* en iyi etkiyi göstermiştir. Sonbaharda kurulan denemede uygulamaların büyük çoğunluğu hastalık belirtilerini ve kökteki oospor sayılarını düşürürken, çilek gelişimi için uygun olan yaz aylarında kurulan denemede ise uygulamalar hastalığı kontrol edememiş hatta bazı mikroorganizmaların hastalık şiddetini arttırdığı araştırmacılar tarafından gözlenmiştir. *B. subtilis*, *G. mosseae* ve *G. catenulatum* köklerdeki nekrozu çok az bir oranda düşürmüştür. Hiç bir uygulama tek başına çilek kök bölgesindeki *P. fragariae* oospor sayısını düşürmezken yapılan birden fazla uygulama ile bunların sayıları düşürülebilmektedir. Çalışmada kullanılan *T. harzianum*, *G. mosseae* ve *B. subtilis* izolatları bitki gelişimini arttırıcı ve hastalıkları engelleme açısından ümitvar izolatlar olarak saptanmıştır. Ancak yazarlar deneme sonuçları arasındaki varyasyon nedeniyle konu üzerinde daha çok çalışılması gerektiğini de bildirmişlerdir.

Grosch *et al.* (2006) değişik çevrelerden izole ettikleri 434 adet bakteri izolatının *R. solani*’ye antifungal etkisini patates ve marul bitkilerinde *in-vitro* ve *in-vivo*’da araştırmış, bunlardan 18 tanesini ikili kültür testlerinin yanında kitinaz, beta 1,3-glukanaz ve proteaz aktivitelerini dikkate alarak en etkili izolat olarak seçmişlerdir.

Bunlar içinde 2 floresan *Pseudomonas* ve bir *Serratia plymuthica* izolatının hem kontrollü hemde tarla koşullarında patates ve marul bitkilerinde *R. solani*'ye karşı etki gösterdiğini ve hastalık şiddetini düşürdüğünü saptamışlardır.

Costa *et al.* (2007) çilek ve kolza bitkilerinin köklerinde bulunan *Pseudomonas*'ların çeşitliliğini ve *Verticillium dahliae*'ye olan antagonistik potansiyellerini araştırmışlardır. Almanya'nın Berlin, Braunschweig ve Rostock bölgelerindeki çilek, kolza ve topraktan izole ettikleri bakterilerden 101 tanesinin *V. dahliae*'ye karşı antagonist etki gösterdiğini saptamışlardır. Bu 101 izolatın 13 tanesi topraktan, 54 tanesi çilek rizosferinden ve 34 tanesi kolza rizosferinden izole edilmiştir. Bakteriyel izolatların 91 tanesinin proteaz, 5 tanesinin kitinaz ve 1 tanesinin ise selüloz aktivitesi gösterdiği ancak hiç birinin glukanaz aktivitesine sahip olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca bu izolatlardan 82 tanesinin *R. solani*'ye, 68 tanesinin *Fusarium oxysporum*'a *in-vitro*'da antagonistik etki gösterdiği ve 75 tanesinin 2,4-DAPG üretiminden sorumlu olan *PhID* genine sahip olduğu saptanmıştır.

Ülkemizde son yıllarda biyolojik mücadele konusunda yapılan çalışmaların sayısı artmasına karşın çilekte bu konu ile ilgili çok az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Yürüten ve arkadaşları (1986) çilekte kök çürüklüğü patojeni ve bu patojen üzerinde etkili olabilecek antagonist mikroorganizmaları araştırmış ve güneş enerjisi ile kısmen pastörize edilen topraklarda patojen ve antagonistlerin davranışını saptamaya çalışmışlardır. Antagonist mikroorganizmaları hastalıklı ve sağlıklı bitkilerin rizosferinden alınan topraklardan izole etmişlerdir. *Rhizoctonia* sp.'ye karşı antagonistik etki gösteren 18 *Thichoderma* spp., 7 *Aspergillus* spp., 17 Bakteri ve 7 aktinamiset grubu mikroorganizma belirlemişlerdir.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERİYAL

Aydın ili Sultanhisar ilçesinde ticari çilek üretim alanlarındaki çilek bitkileri (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa ve *Fragaria x ananassa* cv. Sweet Charlie çeşidi) ve aynı yörede yetiştirilen karnabahar (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*), kırmızı lahana (*Brassica oleracea* L. var. *rubra*), brokoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*), lahana (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), turp (*Raphanus* sp.), bakla (*Vicia faba*) ile yabancı otlardan yabancı turp (*Raphanus raphanistrum* L.), darıcan (*Echinochloa crus-galli* L.) ve çoban çantası (*Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik.) bitkilerinin rizosferi antagonist bakteri izolasyon çalışmaları için kullanılmıştır. Çalışmalarda ayrıca fungal izolatların patojenisite testleri ve antagonist bakterilerin etkinliklerini saptamak için Camarosa çeşidi çilek fideleri ve tütünde aşırı duyarlılık testleri için White Burley çeşidi (*Nicotiana tabacum*) tütün bitkileri bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

Tez kapsamında tüm *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarda yukarıda adı geçen bitkilerin rizosferinden izole edilen bakteri kültürleri, referans izolat olarak Prof. Dr. Gabriele BERG (Rostock Üniversitesi, Almanya)'den temin edilen (Ek 1) *Serratia pulymuthica* (HRO-C48), *Pseudomonas fluorescens* (E11) bakteri izolatları kullanılmıştır. Çalışmalarda ayrıca pektinaz testi için *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (Scottish Crop Research Institute, SCRI-133), tütünde aşırı duyarlılık testi için *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Kütahya 18: Prof. Dr. Kemal BENLİOĞLU), IAA testi için *Pseudomonas savastanoi* (ITM-519: Prof. Dr. Nicola S. Iacobellis, Basilicata Üniversitesi, İtalya) izolatları pozitif kültür olarak kullanılmıştır. Tezde antagonist bakterilerin etkinliklerini belirlemek amacıyla yürütülen *in-vitro* ve *in-vivo* testlerde Prof. Dr. Seher BENLİOĞLU tarafından izole edilerek tanılanan (TÜBİTAK-TOGTAĞ 1641 nolu proje) 10 adet *R. solani* ve 11 adet *P. cactorum* fungal izolat kullanılmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Bakterilerin İzolasyonu

2003 yılı Şubat, Nisan, Kasım ve 2004 yılı Nisan, Ağustos, Eylül aylarında Aydın ili Sultanhisar ilçesinde üretimi yapılan çilek bitkileri ile aynı yörede kış sezonunda çilek ekim alanlarında yetiştirilen Crucifereae familyası sebzeleri karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana, turp bitkilerinden, ayrıca bakla bitkileri ile yabani turp, darıcan ve çoban çantası yabancı otlarından kök örnekleri alınmıştır. Polietilen torbalara konulan örnekler buz kutusu içinde laboratuvara getirilmiş ve 24 saat içinde rizosferden antagonist bakteri izolasyonu yapılmıştır. Bunun için bitkilerin kökleri elle vurularak fazla topraklarından arındırılmaya çalışılmış ve bistüri yardımıyla 1-2 cm boyunda kesilip paçal yapılmıştır. Bu kök parçalarından 3 g alınarak içinde 27 ml steril fizyolojik serum (%0.85 NaCl, pH7.0) bulunan stomacher torbalarına konmuş ve 1 dk boyunca stomacher (BagMixer®, Interscience, Fransa) ile karıştırılmıştır. Her örnek için 10^{-5} 'e kadar steril fizyolojik serum içeren tüplere seyreltme serileri hazırlanmış; 10^{-3} , 10^{-4} ve 10^{-5} seyreltmelerden 100 µl olacak şekilde bağıet yardımıyla yayılarak King B (20 g Proteoz pepton No 3, 1.5 g K_2HPO_4 , 1.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 15 ml glycerol, 15 g agar, 1 litre damıtık su (King *et al.*, 1954)) besiyerlerine ekilmiştir. 25 °C'de 4 gün gelişimin ardından bu petrilere gelişen farklı koloni morfolojisine sahip bakteriler KB besiyerine saflaştırılmıştır. İzole edilen bakterilerin KB besiyerinde UV ışık altında (366 nm) floresans verme özellikleri ayrıca kaydedilmiştir. Bakterilerin antifungal etkisinin olup olmadığının saptanması amacıyla petri kabında ikili kültür testleri yapılarak izolatlar bir ön elemeyden geçirilmişlerdir. Bunun için; patates dekstrozu agar (PDA) besiyeri içeren petrilere, merkezden 2 cm uzağa ve her petri için dört farklı bakteri olacak şekilde özeyle 5 mm çaplı daire şeklinde bakteri inokulasyonu yapılmıştır. Aynı bakteriler ile bir petri daha hazırlanmış ve bakteri inokulasyonundan 24 saat sonra petrinin birine *R. solani* (R3/2), diğerine *P. cactorum* (P2/01) içeren 1 cm çaplı agar plağı petrilere tam ortalarına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Beş günlük inkubasyonun ardından test funguslarına antagonistik etki gösteren bakteriler ilerideki çalışmalarda kullanılmak

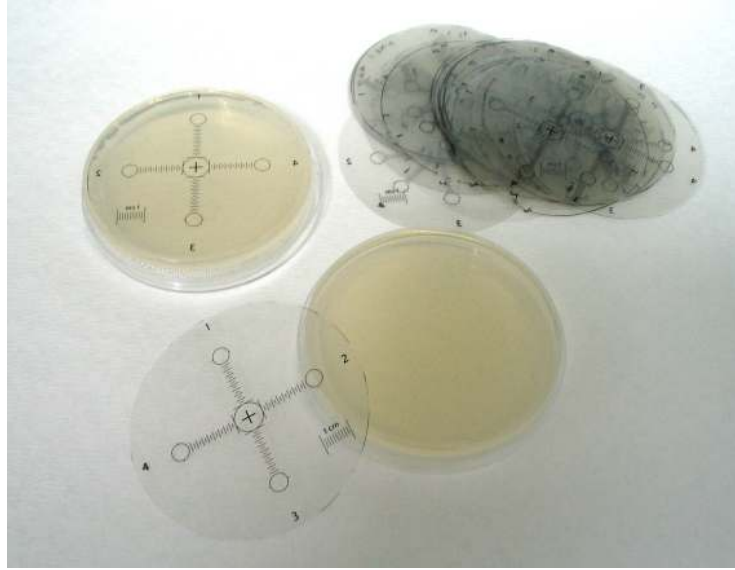
üzere %20 glycerol içeren Nutrient Broth (Difco) besiyeri içinde -76°C de saklanmıştır.

3.2.2. Bakterilerin *In-vitro* Antifungal Aktivitelerinin Saptanması

Ön testlerden geçirilerek stoklanan antagonist adayı bakteri izolatlarının *R. solani* ve *P. cactorum*'a karşı antifungal etkilerinin ne oranda olduğunun saptanması amacıyla 3 tekerrürlü olarak *in-vitro*'da ikili kültür testleri yapılmıştır. Bu amaçla 24-48 saatlik NA (Nutrient Agar) kültürlerinden steril fizyolojik serum (%0.85 NaCl) içine 10^8 hücre/ml (McFarland 1 skalası kullanılarak hazırlanmış (McFarland, 1907)) olacak şekilde bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonları içinde PDA besiyeri bulunan ve alt yüzeyine özel bir şeffaf ölçüm şablonu (Şekil 3.1) yapıştırılmış petri kaplarına merkezden 25 mm uzaklıktaki dört noktaya 5 µl olacak şekilde damlatılmıştır. Bakteri inokulasyonundan 24 saat sonra testlenecek fungusu ait 10 mm çaplı agar plağı bir haftalık PDA kültürlerinin kenarından alınarak bakterilerin ekilmiş olduğu petrinin merkezine konulmuştur. Kontrol petrilere ise bakteri inokulasyonu yapılmadan fungus ekimi yapılmıştır. Besiyerleri 20 °C'de 5 gün boyunca inkube edilmiş ve engellemeler petri kabının altına yapıştırılan şablondan yararlanılarak değerlendirilmiştir. Bakterilerin inokule edildiği petrilere gelişen fungus kolonisi çapı ölçülerek bakteri inokulasyonu yapılmayan petride gelişen fungus kolonisi çapı ile karşılaştırılmış ve aşağıdaki formüle göre yüzde engellemeler hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Engelleme} = \frac{\text{Kontrol petrideki fungus çapı} - \text{Bakteri inokulasyonu yapılmış petrideki fungus çapı}}{\text{Kontrol petrideki fungus çapı}} \times 100$$

İzolatların hem *R. solani*'yi hemde *P. cactorum*'u engellemelerini beraber değerlendirmek amacıyla bu izolatlara kümeleme analizi yapılmış (JMP IN ver 5, Cluster analizi) ve izolatlar 12 kümeye ayrılmıştır.



Şekil 3.1. Antagonist bakterilerin test funguslarını engelleme oranlarının ölçüldüğü ikili kültür testi ve petri altı test şablonu

3.2.3. Bakterilerin Ön Eleme Testleri

Bu amaçla *in-vitro* testlerde fungal patojenlere karşı etkili bulunan antagonist bakterilerin bitki patojeni olup olmadıklarının saptanması için tütünde aşırı duyarlılık testleri (Klement, 1963), çilek fide dikim zamanı bölgede temmuz sonu ağustos başlarında yapıldığı ve bakterilerin dikimle birlikte fidelere uygulanması planlandığı için antagonist aday bakterilerin 37°C'de gelişme testleri yapılmıştır. Ayrıca bakterilerin ön ayırımı için gram boyama testleri de uygulanmıştır.

Tütünde aşırı duyarlılık testleri: Bunun için 24-48 saatlik NA kültürlerinden steril damıtık su içine 10^8 hücre/ml (McFarland 1) olacak şekilde bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyon iklim odasında geliştirilen White Burley çeşidi tütün bitkisinin yapraklarının damar aralarına ince uçlu bir enjektör yardımıyla inokule edilmiştir. İnokulasyon bölgesinde 48-72 saat içinde derimsi bir belirti pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement, 1963). Bu çalışmada pozitif kontrol amacıyla *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* bakteri süspansiyonu kullanılmış, ayrıca negatif kontrol olarak da yapraklara steril su enjekte edilmiştir.

Gram boyama testleri: Klement (1968)'in belirttiği yönteme göre yapılmış ve normal ışık mikroskopunda 100 x objektif altında görülen mavi-mor bakteriler gram pozitif, pembe-kırmızı olarak görülenler de gram negatif olarak kaydedilmiştir.

37 C'de gelişme testleri: Bunun için; 24-48 saatlik NA besiyerinde geliştirilen bakterilerden her biri 2 farklı petri kabındaki NA besiyerlerine ekilmiş ve petrilerin biri 25 C'de diğeri 37 C'de 2 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyonun ardından her izolatan farklı iki sıcaklıktaki gelişimleri değerlendirilmiştir.

3.2.4. Enzim Aktivitelerinin Saptanması

Yapılan ikili kültür, diğeri testler ve bakterilerin izole edildiği orijin bitkileri dikkate alınarak seçilen 24 antagonist bakteri izolatanın; kitinaz, proteaz, pektinaz, selülaz, DNaz, fosfataz enzim aktiviteleri ve inorganik fosfatı çözme kabiliyetleri araştırılmıştır.

Kitinaz: Kitinaz aktivitesinin saptanması için; Nutrient Agar besiyerinde 24-48 saat süreyle geliştirilen bakteriler, Kitin Agar (CA; 1.62 g Nutrient broth, 0.5 g NaCl, 3.6 g Na₂HPO₄, 1.8 g KH₂PO₄, 0.6 g NH₄Cl, 2 g kitin, 0.1 mM CaCl₂, 1mM MgSO₄, 3 nM Thiamin-HCl, 15 g agar, 1 L damıtık su, pH 7.2) besiyerine çizgi ekim şeklinde ekilmiş ve 5 gün boyunca 30 C'de inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonunda gelişen bakterilerin etrafında besiyerinde meydana gelen açık alanlar enzimatik parçalanmayı göstererek pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Berg, 1996; Berg *et al.*, 2000b).

Test besiyerinde kullanılan kitini hazırlamak için; kitin havanda ezilmiş, 40 meş'lik (400  m) elekten ge irilmış ve eleğin altına geçen toz halindeki kitinden 5 g tartılmıştır. Bunun  zerine 50 ml %85'lik fosforik asit eklenmiş ve 24 saat boyunca 5 C'de bekletilmiştir. İşlem sonunda kekleşen kitin üzerine 400 ml deiyonize su eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Filte kağıdı ile süzülerek elde edilen yoğun kıvamlı, beyaz renkli kek üzerine yine 400 ml deiyonize su konularak yıkanmıştır. Bu yıkama işlemine pH 5.0-5.5 olana kadar devam edilmiş ve daha sonra 1 N sodyum hidroksit ile pH'sı 7.0'ye ayarlanmıştır. Daha sonra sıvı 8000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve elde edilen pellet aynı hız ve sürede bir kere daha deiyonize su

ile yıkanmış ve üst sıvı atılarak pellet tutulmuştur. Literatürde %10 oranında kitin içerdiği belirtilen pellet bu oran dikkate alınarak besiyerine eklenmiştir (Reid ve Ogrydzial, 1981; Ramirez *et al.*, 2004).

Proteaz: Proteaz aktivitesini saptamak için testlenecek antagonist bakteriler skim milk agar besiyerine (50 ml sterilize edilmiş ve 55°C'ye soğutulmuş skim milk [Pınar Light Süt %0 yağ], 50 ml 1/5 Tryptic Soy Agar ve %4 agar ile karıştırılmış) ekilmiştir. 20°C'de 5 günlük inkubasyon sonunda koloni etrafında açık alanların oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Krechel *et al.*, 2002). Açık zonun çapı 5mm'ye kadar olanlar "+", 5-10 mm olanlar "++" ve 10 mm'den büyük olanlar "+++" olarak kayıt edilmiştir.

Pektinaz: Pektinaz aktivitesini saptamak için Beraha (1968)'nın pektat agar besiyeri kullanılmıştır. Bu besiyerini hazırlamak için; 200 ml kaynamış damıtık su daha önceden sıcak su ile çalkalanarak ısıtılmış olan blendere konulmuş, bunun üzerine 4.5 ml 1 N NaOH, 3 ml %10 CaCl₂.2H₂O, 0.5 ml %1.5 brothymol blue (alkol içine hazırlanmış solüsyonu), 5 g yeast ekstrakt ve 1.5 g agar ilave edilmiş ve yüksek hızda 15 saniye karıştırılmıştır. Karışım üzerine 300 ml daha kaynamış damıtık su ilave edildikten sonra en son olarak 15 g sodyum polipektat yavaş devirde karıştırılan besiyeri üzerine azar azar ilave edilmiş ardından 15-30 saniye yüksek hızda karıştırılmıştır. Karıştırma işleminin hemen ardından çok hızlı bir şekilde 2 L'lik erlene alınmış, 25 dakika boyunca 121 °C'de otoklav ile sterilize edilmiş ve 20 ml olacak şekilde petrilere dökülmüştür. Bakteriler yüzeyi kuru besiyerlerine nokta ekim tekniği ile inokule edilmiş ve 25°C'de 18 saatlik inkubasyona bırakılmıştır. Gelişimin ardından besiyeri yüzeyinde krater şeklinde çukur oluşturarak gelişen koloniler pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Bu testlerde SCRI-133 kodlu *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

Selülaz: Bu test için Andro *et al.* (1984)'nın önerdiği besiyeri kullanılmıştır. Dört ayrı solüsyondan oluşan besiyeri şu şekilde hazırlanmıştır. *Solüsyon A:* 0.25 g NaCl, 1.5 g K₂HPO₄, 2.5 g karboksi metil selüloz (CMC) 400 ml damıtık su içine konulmuştur. Topaklaşmayı engellemek için CMC ortama yavaş yavaş eklenmiş ve 15 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. *Solüsyon B:* 3 g Na₂HPO₄, 0.5 g

NH_4Cl , 2.5 g glycerol, 0.5 g yeast ekstrakt, 6.5 g bakteriyolojik agar 100 ml damıtık su içine konulmuştur. *Solüsyon C*: 1 M MgSO_4 . *Solüsyon D*: %7.5 v/w CaCl_2 . Her bir solüsyon ayrı ayrı otoklav ile sterilize edilmiş, solüsyon A ve B sıcakken karıştırılmış, bu karışım üzerine solüsyon C ve D den 1'er ml eklenmiştir. Köpük oluşmasına izin verilmeden dikkatlice karıştırılan besiyeri petrilere dökülmüştür. Petriler 24-48 saatlik NA besiyerinde gelişen bakteri kültürleri ile inokule edilmiş ve 25°C'de 4 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyonun ardından petri yüzeyi 10 ml %0.1 kongo kırmızısı solüsyonu ile kaplanmış ve 20 dakika beklenmiştir. Bu sürenin ardından solüsyon dökülerek bu sefer petri yüzeyi 10 ml 1 M NaCl ile kaplanmış ve 5 dakika beklenmiştir. Kırmızı renk alan besiyerinde kolonilerin etrafındaki sarı renkli açık alan pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1990).

DNaz: DNaz testi için Merck DNaz hazırbesiyeri kullanılmıştır. Bu amaçla 24-48 saatlik NA besiyerinde geliştirilen bakteriler DNaz besiyerine ekilmiş ve 25°C'de 5 gün inkubasyona bırakılmıştır. Gelişimin ardından petri kabının üzerine 10 ml 1N HCl dökülmüştür. Bakteri kolonileri etrafında meydana gelen açık alan pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Jeffries *et al.*, 1957).

Fosfataz: Bakterilerin organik fosfatı çözebilmesine yönelik fosfataz enzim aktivitesi Holt *et al.* (1994)'nın belirttiği yöntemle testlenmiştir. Bunun için 8 g nutrient broth, 28 g agar, 1 L damıtık su içine konulmuş ve 121°C'de 15 dakika otoklav ile sterilize edilmiştir. Besiyeri 50°C'ye kadar soğuduktan sonra filtre ile sterilize edilmiş phenolphthalein phosphate solüsyonundan son konsantrasyon %0.05 (ağırlık/hacim) olacak şekilde eklenmiş, karıştırılmış ve besiyeri petrilere 20 ml olarak dökülmüştür. Besiyeri yüzeyinin kurummasının ardından bakteriler nokta ekim tekniği ile inokule edilmiş 25°C'de 2 gün inkubasyona bırakılmıştır. Gelişimin ardından petriler ters çevrilerek petri kapağına 100 µl %25'lik amonyum solüsyonu damlatılmıştır. Gelişen kolonilerin renginin çok kısa bir süre içinde pembe-kırmızı renge dönmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Oluşan kırmızı rengin şiddetine göre; kırmızı ise +++, açık kırmızı ise ++, hafif pembemsi ise + olarak kaydedilmiştir.

İnorganik fosfatı çözebilme: Bakterilerin inorganik fosfatı parçalama kabiliyetleri De Freitas *et al.* (1997)'nin belirttiği besiyeri kullanılarak değerlendirilmiştir. Besiyerini hazırlamak için 10 g glukoz, 4 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, 5 g NH_4Cl , 1 g NaCl , 1 g MgSO_4 , 1 L damıtık su içine konulmuş ve pH 7.2'ye ayarlanmıştır. Besiyerine 20 g agar ilave edilerek 121°C'de 15 dakika otoklav ile sterilize edilmiş ve petrilere 10 ml olacak şekilde dökülmüştür. Besiyerlerinin yüzeyi kuruduktan sonra McFarland 1 (10^8 hücre/ml)'e göre steril fizyolojik serum içine 24 saatlik NA kültürlerinden hazırlanan bakteri süspansiyonları besiyerine 10 µl olacak şekilde damlatılmıştır. İnokule edilen besiyerleri 25°C'de 7 gün boyunca inkube edilmiş ve koloni etrafında oluşan açık alan pozitif sonuç olarak kaydedilmiştir. Oluşan bu alanın çapı ölçülerek isolatların inorganik fosforu çözme yetenekleri değerlendirilmiştir.

3.2.5. Sekonder Metabolit Üretimi

Yirmi dört antagonist bakteri izolatının sekonder metabolit üretim yetenekleri araştırılmıştır. Bu amaçla bakterilerin indol asetik asit (IAA), hidrojen siyanid (HCN), yüzey aktif madde (biosurfactant), 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) üretimi ve siderefor oluşturma yetenekleri yapılan testler ile saptanmıştır.

İndol asetik asit üretimi: Elde edilen bakteriyel isolatların *in-vitro*'da indol 3 asetik asit üretilip üretilmediğinin belirlenmesi için Patten ve Glick (2002)'in önerdiği kolorimetrik yöntemden yararlanılmıştır. Bunun için NA besiyerinde geliştirilen 24-48 saatlik kültürler kullanılmıştır. Bakteriler ilk önce tüplerdeki 5 ml Triptik Soya Broth (TSB) sıvı besiyerine ekilmiş ve 25°C'de gece boyu çalkalanarak inkube edilmiştir. İnkubasyonun ardından bu besiyerinden 20 µl alınarak yine 5 ml TSB sıvı besiyeri içeren tüplere inokulasyon yapılmıştır. 25°C'de gece boyu çalkalamalı inkubasyonun ardından 20 µl alınarak bu sefer 200 µg/ml oranında L-triptofan içeren 5 ml Dworkin Foster (DF) salts minimal medium (4 g KH_2PO_4 , 6 g Na_2HPO_4 , 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2 g glukoz, 2 g glukonik asit, 2 g sitrik asit, 2 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.1 ml Solüsyon A, 0.1 ml Solüsyon B, 1 L damıtık su; [Solüsyon A: 10 mg H_3BO_3 , 11.19 mg $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 124.6 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 78.22 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10 mg MoO_3 , 100 ml damıtık su; Solüsyon B: 100 mg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10 ml damıtık su]) (Dworkin ve Foster, 1958)'a alınmıştır. 25°C'de 48 saat çalkalamalı inkubasyonun ardından

homojen bir gelişmenin elde edilip edilmediğinin anlaşılması amacıyla besiyerlerinden 200 µl alınarak mikroleptlerdeki kuyulara konmuş, spektrofotometrede (Thermo Scientific, Multiskan® Spectrum) 600 nm'de absorbans değerleri okunmuş ve kaydedilmiştir. Bu işlemten sonra DF besiyerinden alınan 1.5 ml bakteri süspansiyonu mikro santrifüj tüplerine konmuş ve 5500 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatandan 40 µl alınmış, mikroleptlerdeki kuyulara konmuş ve üzerine 160 µl Salkowski ayırıcı [150 ml H₂SO₄, 250 ml damıtık su, 7.5 ml 0.5 M FeCl₃.6H₂O; (Gordon ve Weber, 1951)] ilave edilmiştir. Ayırıcının karışması için 1-2 saniye çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında sabit olarak 20 dakika boyunca karanlıkta inkubasyona bırakılmış ve 535 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede okunarak değerler kaydedilmiştir. Spektrofotometrede yapılan tüm okumalar üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve pozitif kontrol olarak *Pseudomonas savastanoi* (ITM-519) izolatı kullanılmıştır. 535 nm'de okunan değerler daha önceden hesaplanmış olan IAA standart doğrusu denkleminde yerine konularak IAA miktarları hesaplanmıştır. Standart doğru denklemini oluşturmak için; 200 µg/ml oranında L-triptofan içeren sekiz adet DF besiyerine sırasıyla son konsantrasyonları 100, 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 ve 0 µg/ml olacak şekilde IAA eklenmiş ve dört tekerrürlü olarak standartlar hazırlanmıştır. Standart çözeltiler yine 535 nm'de okunarak değerler kaydedilmiştir. Ölçülen değerler dikkate alınarak JMP In (Macintosh 5.1 ver) bilgisayar programı yardımıyla regresyon denklemi elde edilmiştir. Her bakteri izolatının IAA üretim miktarları ise 535 nm'de okunan değerlerin denklemde yerine konulması ile hesaplanmıştır.

HCN üretimi: Mevcut antagonist adayı bakterilerin HCN oluşturup oluşturmadıklarının saptanması amacıyla Bakker ve Schippers (1987)'in önerdiği yöntem değiştirilerek kullanılmıştır. Bunun için %0.44 glisin içeren KB sıvı besiyeri hazırlanmış ve 160 mm uzunluğundaki vidalı kapaklı tüplere 5 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Bu tüpler 24-48 saatlik NA besiyerinde gelişen bakteri kültürleri ile inokule edilmiştir. İnokulasyondan hemen sonra tüplerin içine besiyerine değmiyecek şekilde pikrik asit emdirilmiş filtre kağıtları sarkıtılmıştır. Pikrik asitli filtre kağıtları; 10 mm genişliğinde 100 mm uzunluğundaki filtre kağıtlarına pikrik asit solüsyonu (%2 sodyum karbonat, %0.5 pikrik asit)'nin emdirilmesi ve oda sıcaklığında

kurutulması ile hazırlanmıştır. Tüplerin ağzı sıkıca kapatılıp saran film ile sarıldıktan sonra 4 gün boyunca 20 °C’de çalkalayıcıda (150 devir/dakika) inkubasyona bırakılmıştır. Gelişimin ardından filtre kağıtlarının renginin portakal renginden kahverengine dönmesi siyanid üretimini göstermiş ve pozitif sonuç olarak kayıt edilmiştir. Pozitif sonuç, elde edilen kahverenginin tonuna göre en koyu renk “++++” ve en açık “+” olmak üzere dört sınıfa ayrılarak değerlendirilmiştir.

Yüzey aktif madde (biosurfactant) üretimi: Bakterilerin yüzey aktif madde üretimleri Siegmund ve Wagner (1991)’in belirttiği yöntemle yapılmıştır. Testte kullanılacak besiyerinin hazırlanması için 1 L damıtık su içine 20 g glycerol, 0.7 g KH_2PO_4 , 0.9 g Na_2HPO_4 , 2 g NaNO_3 , 0.4 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.1 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.2 g cethyltrimethylammonium bromide, 0.005 g methylen blue ve 15 g agar eklenmiştir. Daha sonra besiyerine 2 ml iz element solüsyonu ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2 g, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.6 g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1.5 g ve 1 L damıtık su) ilave edilmiş ve pH 6.7’ye ayarlanmıştır. Otoklav ile sterilize edilen besiyeri petrilere dökülmüş ve yüzeyleri kuruduktan sonra bakteriler 5 mm bir çap oluşturacak şekilde özeyle inokule edilmiştir. 24 saat boyunca 30 °C’de inkubasyonun ardından koloni etrafında meydana gelen mavi alan pozitif sonuç olarak değerlendirilmiş ve bu alanın çapı ölçülerek kaydedilmiştir.

2,4-Diacetylphloroglucinol üretimi: Bakterilerin 2,4-Diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) üretiminin saptanması için McSpadden Gardener *et al.* (2001)’nın önerdiği moleküler tanılama tekniği PCR kullanılmıştır. 2,4-DAPG üretiminden sorumlu *phlD* geninin belirlenmesi amacıyla bu çalışmada belirtilmiş olan primerler (B2BF: ACC CAC CGC AGC ATC GTT TAT GAG C, BPR4: CCG CCG GTA TGG AAG ATG AAA AAG TC) kullanılarak aşağıda anlatılan yol izlenmiş ve 629 bp büyüklüğündeki nukleotit dizisi amplifiye edilmeye çalışılmıştır. Bunun için 48 saatlik KB besiyerinde geliştirilen bakteri kolonileri kullanılmıştır. Platin öze yardımıyla alınan çok az miktardaki bakteri kolonisi mikrosantrifüj tüpleri içindeki 200 µl steril suya konulmuş ve tüp karıştırıcıda iyice karıştırılarak süspanse edilmiştir. Daha sonra tüpler 13 dakika boyunca 99°C’de bekletilmiş, ardından hemen buza alınmış ve 13000 rpm’de 4°C’de 2.5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant kalıp DNA olarak kullanılmıştır. Amplifikasyon 2 µl PCR

buffer (+KCl), 1.2 µl MgCl₂, 0.4 µl 4dNTP, 0.05 µl Primer B2BF, 0.05 µl Primer BPR4, 0.2 µl Taq ve 2 µl kalıp DNA içeren 20 µl PCR reaksiyonu karışımı ile yapılmıştır (Primerler Iontek firmasına sentezlettirilmiş, diğer karışım malzemeleri Fermentas firmasından temin edilmiştir). 0.2 ml'lik PCR tüplerine yüklenen karışım Thermal Cycler cihazına (Eppendorf® Mastercycler™ Gradient) konulmuş ve 94°C'de 3 dakika, 30 x (94°C'de 10 saniye, 60°C'de 15 saniye ve 72°C'de 15 saniye) ve 72°C'de 5 dakika son döngü koşulları ile amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. PCR işleminin sonunda amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğinin anlaşılması için 4 µl reaksiyon karışımları 0.5 x Tris-Borate-EDTA buffer (TBE) içine hazırlanmış %1.5'lik agaroz jele yüklenmiş ve 45 voltta 30 dakika yürütülmüştür. İşlem sonunda oluşan bantların görülür hale getirilmesi için jel 30 dakika etidyum bromür ile boyanmış ve jel görüntüleme sistemi (Kodak, Edas) ile fotoğrafı çekilmiştir.

Siderofor Üretimi: Crom Azurol S (CAS) agar besiyeri ile sideroforun varlığı araştırılmıştır. Çalışmalara başlamadan önce tüm cam malzemeler metal kirlenmesine karşı 6 M HCl ile yıkanmış ve deiyonize su ile üç kez durulanmıştır. Blue CAS agar besiyeri aşağıdaki gibi hazırlanmıştır. *Besiyeri:* 100 ml 10 x MM9 tuz solüsyonu (6.78 g Na₂HPO₄, 0.3 g KH₂PO₄, 0.5 g NaCl, 1 g NH₄Cl, 100 ml deiyonize su), 15 g agar, 30.24 g 1,4-piperazinediethanesulfonic acid (Pipes), 750 ml deiyonize su içine eklenmiş, pH'yı 6.8'e ayarlamak için 12 g NaOH solüsyonu (%50 NaOH [sulu]) ilave edilmiş ve 121 °C'de 15 dakika otoklav ile sterilize edilmiştir. Otoklav ile sterilize edilmiş ve 50 °C'ye soğutulmuş besiyerine, 30 ml demirden arındırılmış kasamino asit solüsyonu (%10), filtre ile sterilize edilmiş 10 ml glukoz (%20), 1 ml thiamin HCL (%0.2) ve 3 ml L-triptofan (%1) aseptik koşullarda eklenmiştir. Cox (1994)'un önerdiği yöntemle göre kasamino asiti demirden arındırmak için kasamino asit solüsyonu 1:1 oranında kloroform içine hazırlanmış %3'lük 8-hydroxyquinoline solüsyonu ile karıştırılmış, kuvetli bir şekilde çalkalanmış ve 8000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte oluşan faz aseptik olarak dikkatli bir şekilde alınmış ve kullanılmıştır. *CAS solüsyonu:* 50 ml deiyonize su içine 60.5 mg CAS eritilmiş ve üzerine 10 ml demir (III) solüsyonu (1 mM FeCl₃.6H₂O, 10 mM HCl) eklenmiştir. Hazırlanan bu solüsyon manyetik karıştırıcı

üzerindeki 40 ml deiyonize su içinde eritilmiş 72.9 mg hexadecyltrimethylammonium bromide (HDTMA) üzerine yavaşça eklenerek karıştırılmıştır. Karışım 121 °C’de 15 dakika otoklav ile sterilize edilmiş ve 50 °C ye kadar soğutulmuştur. Besiyeri CAS solüsyonu ile köpük oluşumuna izin verilmeden karıştırılmış ve petri kaplarına 30 ml olacak şekilde dökülmüştür. Bakteriler petrilere inokule edilmiş ve 25°C’de 5 günlük inkubasyonun ardından koloni çevresindeki portakal renkli alanın meydana gelmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Schwyn ve Neilands, 1987). Bu alanın çapı ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2.6. Antagonist Bakterilerin Tanılanması

Antagonist bakterilerin tür düzeyinde tanılanması için yağ asitleri metil ester (FAME) analizinden yararlanılmıştır. Bu testler için Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü’nde bulunan Agilent 6890N marka gaz kromatografi cihazı, buna bağlı olarak çalışan Sherlock MIS (Microbial Identification System Inc., Newark, ABD) yazılımı ve TSBA40 kütüphanesinden yararlanılmıştır. Bunun için bakteriler TSBA (Triptik Soya Broth Agar) besiyerine çizgi ekim tekniği ile ekilmiş ve 24 saat boyunca 28°C’de inkubasyona bırakılmıştır. Gelişimin ardından petri yüzeyindeki tek kolonilerden plastik kullan-at öze yardımıyla özenin alabileceği en fazla miktardaki bakteri alınarak 13x100 mm’lik vidalı kapaklı boş cam test tüplerine aktarılmıştır. Tüplerin üzerine 1 ml Ayıraç 1 (45 g NaOH, 150 ml metanol ve 150 ml damıtık su) eklenmiş, ağzı sıkıca kapatılmış ve bakterilerin süspanse olması için tüp karıştırıcı ile iyice karıştırılmıştır. Daha sonra tüpler kaynayan su banyosu içine alınarak 5 dakika bekletilmiş ve sonra tüpler tüp karıştırıcı ile tekrar karıştırılmıştır. Tüpler su banyosuna alınarak 25 dakika daha kaynar su içinde bekletilmiştir. Süre sonunda soğuk su banyosuna alınan tüpler hemen soğutulmuş ve üzerlerine 2 ml Ayıraç 2 (325 ml 6 N HCl ve 275 ml metil alkol) eklenmiş ve tüp karıştırıcıda kısa süreli olarak karıştırılmıştır. Daha sonra tüpler 80°C’deki su banyosuna alınmış ve 10 dakika sonra soğuk su banyosuna alınarak hemen soğutulmuştur. Soğuyan tüplerin üzerine 1.25 ml Ayıraç 3 (200 ml heksan ve 200 ml metil tert-butil eter) eklenmiş, ağzı sıkıca kapatılmış ve tüpler dairesel döngü hareketi yapan bir karıştırıcı ile ters-düz edilerek 10 dakika boyunca nazikçe karıştırılmıştır. İşlem sonunda oluşan iki

fazdan alttaki faz pastör pipeti ile çekilip atılmış ve üstteki faz tutulmuştur. Tüpler üzerine 3 ml Ayıraç 4 (10.8 g NaOH ve 900 ml damıtık su) eklenip, ağzı sıkıca kapatıldıktan sonra yine aynı şekilde ters-düz edilerek 5 dakika daha karıştırılmıştır. Karıştırmanın ardından üstte oluşan fazın 2/3'lük kısmı pastör pipeti ile çekilerek vidalı kapaklı gaz krotomografi tüplerine alınmış ve ağzıları kapatılmıştır. Hazırlanan tüpler gaz krotomografi cihazına konularak, yağ asitleri metil ester profilleri çıkarılmış ve elde edilen profiller cihaz tarafından kendi üzerindeki mevcut TSBA40 kütüphanesi profilleri ile karşılaştırılarak bakteri izolatlarının tür düzeyinde teşhisleri yapılmıştır (Midi, 2006). Test işleminin sonunda benzerlik indeksi (SIM index) 0.3 ve büyük olanlar kesin olarak tanılanmış, 0.3'den küçük olanlar ise kesin olmayan tanılama şeklinde değerlendirilmiştir (Siciliano ve Germida, 1999).

3.2.7. *In-vivo* Testler

Bu amaçla mevcut *R. solani* ve *P. cactorum* izolatlarının virülensi, *in-vitro*'da seçilen 24 antagonist bakteri adayının çilek bitkileri gelişimine ve her iki patojene karşı saksı koşullarında etkinlikleri ile seçilen bakteri izolatlarının tarla koşullarında etkinliklerinin saptanmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır.

Saksı koşullarında yapılan denemeler Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında yürütülürken, tarla denemeleri Aydın ili Sultanhisar ilçesinde çilek üreticisi Nihat ÖZYİĞİT'e ait plastik tünellerde yetiştirilen çilek parsellerinde gerçekleştirilmiştir. İklim odasında kurulan denemeler 24 ± 1 °C sıcaklık, %60-70 nisbi nem ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ışıklandırma periyodunda yürütülmüştür. Tarlada yürütülen çalışmalarda hava sıcaklığı ve toprağın 10 cm derinliğindeki sıcaklık elektronik veri kaydedici (Onset Hobo®) yardımıyla her saatte bir olmak üzere kaydedilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Tarla denemeleri sırasında sıcaklık verilerini toplayan elektronik kaydedici

3.2.7.1. Saksı Koşullarında Yürütülen Testler

Fungal İzolatların Patojenisite Testleri

In-vitro ve yarı *in-vivo* çalışmalarda kullanılmak üzere 10 adet *R. solani* ile 11 adet *P. cactorum* fungal izolatının patojenisite testleri yapılmış ve virulensi saptanmıştır. Bunun için birinci boy Camarosa çeşidi frigo çilek fideleri kullanılmıştır. Laboratuvara getirilen fidelerin kökleri 1.5-2 cm kalacak şekilde tamamen traşlanmış ve bitkilerin yeni kök oluşturması için 3 hafta boyunca iklim odasında steril kum, toprak, torf (1:1:1) karışımında köklenmesi için tutulmuştur (Şekil 3.3). Kök oluşumunun ardından her bitkinin ağırlığı kaydedilerek Kurze *et al.* (2001) ile Martin (2000)'de belirtilen yöntemle göre *Rhizoctonia solani* ve *Phytophthora cactorum* izolatları ile inokule edilmiş topraklara şaşırtılmıştır. İnokulumlu topraklar aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

R. solani inokulumlu toprağın hazırlanması: Otoklav ile sterilizasyona dayanabilen poşetler içine 250 ml yulaf kepeği ve 80 ml saf su eklenmiş ve karıştırılmıştır. Poşetler 2 gün 90'ar dakika otoklav ile sterilize edildikten sonra soğuyan poşetler içine 4 günlük PDA kültürlerinden 1 cm çaplı mantar delici ile çıkarılan 4 adet agarlı plak atılmış ve 25°C'de inkubasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.3. Çilek bitkilerinin patojenisite testleri için yetiştirilmesi (1: Temizlenip traşlanmış dikime hazır frigo fide, 2: Saksıya dikilmiş fide, 3: Fidelerin 14 gün sonraki görünümü, 4: Patojenisite testlerine hazır 21 günlük fidelerin kökleri ile birlikte görünümü)

Toplam 3 hafta inkube olan kültürler birinci haftasında homojen bir gelişmenin sağlanması için karıştırılmıştır. Gelişimin ardından kültürler steril kabin içine serilerek 2 gün boyunca kuruması sağlanmıştır. Kuruyan kültürler elektrikli kahve öğütücü kullanılarak parçalanmış ve steril kum, toprak, torf (1:1:1) karışımına %1 (hacim/hacim) oranında karıştırılarak inokulumlu topraklar hazırlanmıştır (Şekil 3.4).

P. cactorum inokulumlu toprağın hazırlanması: Otoklav ile sterilizasyona dayanabilen poşetler içine 250 ml buğday kepeği, 250 ml vermiculit, 30 gr soya unu ve 84 ml saf su eklenmiş ve karıştırılmıştır. Poşetler 2 gün 90’ar dakika otoklav ile sterilize edildikten sonra *R. solani* inokulumlu kültürün hazırlanmasında anlatıldığı gibi agar plakları ile (her torbaya 8 adet) inokule edilmiş ve 22°C’de 4 haftalık inkubasyonun ardından gelişen kültürler elle ufalanarak topraklara %1 (hacim/hacim) oranında karıştırılmıştır.



Şekil 3.4. *R. solani* izolatlarının kepek kültürlerinde gelişmesi (sol) ve gelişmiş kültürlerin parçalandıktan sonra toprakla karıştırılmadan önceki görünümü

Bu şekilde hazırlanan inokulumlu topraklara şaşırtılan bitkiler iklim odasında beş hafta boyunca yetiştirilmiştir. Patojenisite denemelerinde değerlendirmeler skala yardımıyla ve biyolojik kütle ölçümü yapılarak yürütülmüştür. Bunun için Kurze *et al.* (2001)’nda belirtilen 0-2 skalası tarafımızca değiştirilerek 0-3 skalası (0-belirti

yok, 1-yaprak uçlarında kuruma ve yaprak sapında kararma ama henüz solgunluk yok, 2-solgun bitki, 3-ölü bitki)'na göre sayımlar yapılmıştır. Skala değerlerinin istatistiksel analizi $\sqrt{\text{skala değeri} + 0.5}$ transformasyonu yapıldıktan sonra gerçekleştirilmiştir. İkinci değerlendirmede bitkiler köklere zarar vermeden topraktan dikkatlice çıkarılarak yaş ağırlıkları kaydedilmiş ve ilk ağırlıkları dikkate alınarak ağırlık artış veya azalışları hesaplanmıştır. Patojenisite denemelerinde yer alan karakterlerin ortalama skala değerleri ile fide ağırlığındaki ortalama yüzde değişim oranları arasındaki ilişki ise korelasyon analizi yapılarak değerlendirilmiştir. Patojenisite çalışmaları tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

Antagonist bakterilerin *R. solani* ve *P. cactorum*'a Etkileri

Bu testler daha önceki çalışmalarda seçilen toplam 24 antagonist bakteri izolatu ve 2 adet referans kültür (E11 ve HRO-C48) ile bu testler yürütülmüştür. Bunun için patojenisite testlerinde anlatıldığı gibi birinci boy Camarosa çeşidi frigo çilek fideleri kullanılmıştır. Laboratuvara getirilen fidelerin kökleri 1.5-2 cm kalacak şekilde tamamen traşlanmış ve yeni kök oluşturması için 3 hafta boyunca iklim odasında steril kum, toprak, torf (1:1:1) karışımında tutulmuştur. Kök oluşumunun ardından bitkiler şaşırtılmadan önce 24 saat KB besiyerinde geliştirilen ve steril fizyolojik serum içinde 10^9 hücre/ml (McFarland 3) olacak şekilde hazırlanmış bakteri süspansiyonuna daldırılmış ve 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra patojenisite testlerinde belirtilen yöntemle göre *R. solani* (R8/2) ve *P. cactorum* (P5) izolatları ile inokule edilmiş toprak bulunan saksılara 3 tekerürlü olarak şaşırtılmıştır. Bitkiler iklim odasında beş hafta boyunca yetiştirilmiş ve bu süre sonunda 0-3 skalasına göre sayımları yapılmıştır. Skala değerlerinin istatistiksel analizi $\sqrt{\text{skala değeri} + 0.5}$ transformasyonu yapıldıktan sonra gerçekleştirilmiştir. Ayrıca elde edilen skala değerleri aşağıda belirtilen Towsend-Heuberger formülü ile yüzde hastalık değerine çevrilmiş, Abbott formülü yardımı ile yüzde etkinlikler hesaplanmıştır (Karman, 1971).

$$\text{Towsend-Heuberger hastalık yüzdesi} = \frac{\text{Toplam (n x V)}}{Z \times N} \times 100$$

n= değişik skala gruplarına giren bitki sayısı

V= skala seviyeleri

N= değerlendirilen toplam bitki sayısı

Z= sıfır grubu hariç skala sayısı

$$\text{Abbott yüzde etki} = \frac{\text{Uygulama yapılmamış kontroldeki yüzde etki} - \text{bakterilideki yüzde etki}}{\text{Uygulama yapılmamış kontroldeki yüzde etki}} \times 100$$

Antagonist bakterilerin çilek bitkisi gelişimine etkisi

Bu testler 24 antagonist bakteri izolatu ve 2 adet referans kültür (E11 ve HRO-C48) ile gerçekleştirilmiştir. Bunun için birinci boy Camarosa çeşidi frigo çilek fideleri kullanılmıştır. Laboratuvara getirilen fidelerin kökleri 1.5-2 cm kalacak şekilde tamamen traşlanmış ve yeni kök oluşturması için 3 hafta boyunca 25°C'deki iklim odasında steril kum, toprak, torf (1:1:1) karışımında tutulmuştur. Deneme iklim odasında tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. KB besiyerinde 24-48 saat geliştirilmiş bakteri bulunan petrilerde besiyeri yüzeyi fizyolojik serumla yıkanarak bakteri süspansiyonu hazırlanmış ve konsantrasyonu McFarland 3'e göre 10⁹ koloni/ml'ye ayarlanmıştır. Daha sonra hazırlanan bakteri süspansiyonları her saksıya 20 ml gelecek şekilde toprağa açılan fide dikim deliklerine dökülmüştür. Bu işlemin hemen ardından ağırlıkları ölçülerek kaydedilen çilek fideleri dikilmiştir. Beş hafta boyunca iklim odasında geliştirilen fideler bu süreç sonunda dikkatlice topraklarından arındırılarak yaş ağırlıkları tekrar tartılmış ve deneme başlangıcındaki ağırlıklarına göre yüzde değişimleri hesaplanmıştır.

3.2.7.2. Tarla Denemeleri

Tarla denemeleri Aydın ili Sultanhisar ilçesinde ticari çilek üretimi yapılan alanlarda 2004-2007 yılları arasında üç çilek üretim sezonunda yürütülmüştür.

Bu amaçla 2004-2005 üretim sezonunda her parseli yaklaşık 40 m uzunluğunda, 4.5 m genişliğinde ve 4 masuradan oluşan çilek yüksek tünellerinde 4 karakterli (2 bakteri uygulaması, ön bitki olarak karnabahar ve kontrol) bir ön deneme kurulmuştur. Ön bitki parselinde kış döneminde karnabahar yetiştirilmiş ve hasattan

sonra kalan bitki artıkları sürülerek toprağa karıştırılmıştır. Tüm parsellerde masuralar oluşturulduktan sonra 28/06/2004 - 03/08/2004 tarihleri arasında solarizasyon uygulanmıştır. Bakteri uygulamaları ve kontrolün bulunduğu parsellerde ise çilek öncesi herhangi bir bitki yetiştirilmemiştir. Denemede çalışmalarımız sonunda karnabahar kökünden izole edilen bir floresans *Pseudomonas* (4K1) ve referans kültür olarak *Serratia plymuthica* (HRO-C48) bakterileri kullanılmıştır. Bakteri uygulamaları çilek dikimi (4/8/2004) sırasında fidelerin sulama suyu içine hazırlanmış 10^8 hücre/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonuna 15 dakika süreyle batırılması suretiyle yapılmıştır. İlk uygulamadan 27 gün sonra 31/8/2004 tarihinde aynı şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonları her bitkiye 10 ml olacak şekilde kök boğazına içirme şeklinde verilerek ikinci bir uygulama daha yapılmıştır. Aynı tarihte parsellerdeki masuralara malç çekilmiştir. Daha sonra 04/11/2004 tarihinde her karaktere ait 4 masurada çöken bitkiler sayılmış, karakterler arasında yüzde çöken bitki olarak bir farkın bulunup bulunmadığı incelenmiştir. Hasatın başlamasıyla birlikte (05/04/2005) deneme alanındaki karakterlerden pazarlanabilir çilek meyveleri ayrı ayrı hasat edilerek tartılmış ve hasat sonuna kadar (22/06/2005) ağırlıkları kaydedilmiştir. Hasat sonunda dekara alınan meyve ağırlıkları hesaplanarak verim değerleri elde edilmiştir. Hasat bitimi ile beraber çöken bitkiler tekrar sayılarak değerlendirilmiştir. Her karaktere ait çöken yüzde bitki oranları arasında istatistiki olarak bir fark olup olmadığı araştırılmıştır.

2005-2006 çilek üretim sezonunda ise aynı üreticiye ait farklı bir çilek üretim alanında toprak solarizasyonu uygulanmamış parsellerde tarla denemeleri kurulmuştur. Deneme kurulan arazinin toprak özellikleri Ek 2’de verilmiştir. Deneme, ön testler sonucunda seçilen toplam dört antagonist izolat (6b6, 3tg8, 6k8 ve ka) ile etkinliği daha önceki çalışmalarda başka araştırmacılarca saptanan bir izolat (HRO-C48) ve kontrol parseli dahil 6 karakterden oluşmuştur. Deneme toplam 120 m uzunluğunda, 4.5 m genişliğinde ve dört masuradan oluşan tek bir yüksek tünel çilek parselinde yürütülmüştür. Tesadüf blokları deneme desenine göre oluşturulan denemede her karakter 4 tekerrürlü olarak planlanmıştır. Bakteri uygulaması çilek dikimi sırasında (16/8/2005) çilek fidelerinin sulama suyu içine hazırlanmış 10^9

hücre/ml bakteri süspansiyonunda 15 dakika bekletilmesi ile yapılmıştır (Şekil 3.5). Süspansiyonlarda bakterilerin homojen dağılımının sağlanması için süspansiyona 350 µl/litre oranında tween 80 eklenmiştir. 31/8/2005 tarihinde parsellerdeki masuralara malç çekilmiştir. 19/11/2005 tarihinde her parselde çöken bitkiler sayılmıştır. 23/3/2006 tarihinde aynı şekilde hazırlanan bakteri süspansiyonları her bitkiye 10 ml olacak şekilde kök boğazına içirme şeklinde ikinci bir bakteri uygulaması daha yapılmıştır. Hasatın başlamasıyla birlikte (19/4/2006) deneme alanındaki karakterlerden pazarlanabilir çilek meyveleri her hafta ayrı ayrı hasat edilerek tartılmış ve hasat sonuna kadar (12/06/2006) ağırlıkları kaydedilmiştir. Hasat sonunda dekara alınan meyve ağırlıkları hesaplanarak verim değerleri elde edilmiştir. 28/6/2006 tarihinde çöken bitkiler bir kez daha sayılarak değerlendirilmiş ve her karaktere ait çöken yüzde bitki oranları arasında istatistiki olarak bir fark olup olmadığı araştırılmıştır.



Şekil 3.5. 2005-2006 tarla denemelerinde kök bandırması şeklinde bakteri uygulaması (1: bakteri izolatları, 2: inokulumların artezyen suyu içine hazırlanması, 3: bitki köklerinin inokulum içinde bekletilmesi, 4: çilek fidelerinin dikimi)

Son olarak 2006-2007 çilek üretim sezonunda yine aynı ilçede ve önceki denemelerden farklı bir tarlada üçüncü tarla denemesi kurulmuştur. Tüm parsellere masuralar oluşturulduktan sonra 23/06/2006 - 07/08/2006 tarihleri arasında solarizasyon uygulanmıştır. Deneme kurulan arazinin toprak özellikleri Ek 2’de verilmiştir. Deneme, ön testler sonucunda seçilen toplam üç antagonist izolat (3ss9, 6110, ka) ile etkinliği daha önceki çalışmalarda başka araştırmacılarca saptanan bir izolat (HRO-C48) ve kontrol parseli dahil 5 karakterden oluşmuştur. Deneme toplam 86 m uzunluğunda, 4.5 m genişliğinde ve dört masuradan oluşan tek bir yüksek tünel çilek parselinde yürütülmüştür. Tesadüf blokları deneme desenine göre oluşturulan denemede her karakter 4 tekerrürlü olarak planlanmıştır. Bakteri uygulaması çilek fidelerinin dikiminden hemen önce toprağa açılan fide dikim deliklerine 2 gün boyunca 26°C’de TSB (Tryptik Soya Broth) besiyerinde geliştirilmiş antagonistlerin otomatik şırınga dağıtıcı ile 20 ml olacak şekilde verilmesiyle yapılmıştır (Şekil 3.6). Bakteri uygulamasının hemen ardından fideler bu deliklere şaşırtılmıştır (15/8/2006). 16/9/2006 tarihinde parsellerdeki masuralara malç çekilmiştir. 9/12/2006 tarihinde her karakterdeki çöken bitkiler sayılmış, karakterler arasında yüzde çöken bitki olarak bir farkın bulunup bulunmadığı incelenmiştir. 28/3/2007 tarihinde ka ve 3ss9, 4/4/2007 tarihinde ise HRO-C48 ve 6110 izolatları aynı şekilde TSB besiyerinde geliştirilerek 20 ml olacak şekilde kök boğazına içirme şeklinde verilerek ikinci bir uygulama daha yapılmıştır (Şekil 3.6). Hasatın başlamasıyla birlikte (9/4/2007) deneme alanındaki karakterlerden pazarlanabilir çilek meyveleri ayrı ayrı hasat edilerek tartılmış ve hasat sonuna kadar (12/6/2007) ağırlıkları not edilmiştir. Hasat sonunda dekara alınan meyve ağırlıkları hesaplanarak verim değerleri elde edilmiştir. Çöken bitkiler 29/5/2007 tarihinde bir kez daha sayılmış ve karakterler arasında bu yönden bir farkın olup olmadığı incelenmiştir.



Şekil 3.6. 2006-2007 tarla denemelerinde bakteri uygulaması (üst: deneme alanının parsellenmiş genel görünümü, sol alt: dikiminden hemen önce fide dikim deliklerine bakteri uygulaması, sağ alt: vejetasyon döneminde bakteri uygulaması)

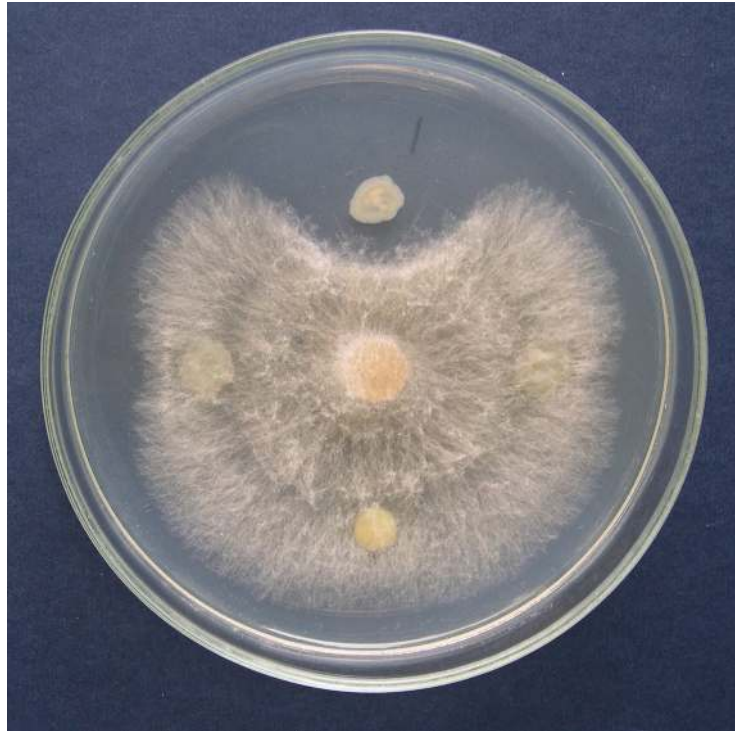
3.2.8. İstatistiki Analizler

Denemelerde elde edilen veriler JMP In istatistik programı (SAS enstitüsü, Cary, NC Macintosh 5.1 versiyonu) ile değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. BAKTERİLERİN İZOLASYONU

2003 - 2004 yılları arasında Aydın ili Sultanhisar ilçesinde üretimi yapılan çilek ve aynı yörede yetiştirilen karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana, turp, bakla ile yabancı otlardan yabancı turp, darıcan ve çoban çantası bitkilerinin kök örneklerinden yapılan izolasyon çalışmalarında besiyerinde gelişen farklı koloni morfolojisine sahip bakteriler izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Bu şekilde elde edilen 362 adet bakterinin *R. solani* ve *P. cactorum*'a olan antagonist etkileri yapılan ikili kültür ön testleri ile değerlendirilmiştir (Şekil 4.1). Bu bakterilere ait; izole edildikleri tarih, izole edildikleri bitki, her bitkiden elde edilen toplam izolat sayısı, bunlar içerisindeki KingB besiyerinde UV ışık altında floresans veren izolatların sayıları ve *in-vitro* ön değerlendirme ile *R. solani* ve/veya *P. cactorum*'a etkili görülen izolatlar Çizelge 4.1'te verilmiştir.



Şekil 4.1. Dört farklı bakteri izolatının PDA besiyerinde ikili kültür ön testlerinde *R. solani* R3/2 izolatına karşı engelleme zonu (üst 3mb1, sol 3mb2, alt 3mb3, sağ 3mb4)

Çizelge 4.1. Çalışmada izole edilen bakterilerin izole edildikleri tarih, orijin bitki, toplam izolat sayısı, KingB besiyerinde floresans veren izolat sayısı ve *in-vitro* ön değerlendirme ile seçilen *R. solani* ile *P. cactorum*'a etkili izolatlar

İzolasyon tarihi	Örnek alınan Bitki	İzole edilen toplam bakteri	KingB'de floresans veren izolat sayısı	<i>In-vitro</i> 'da etkili bakteri izolatları
18/2/2003	Çoban Çantası	10	2	ccb, ccg
	Çilek	12	5	ka, ke
	Çilek	6	3	mbe, mbh, mbj
	Çilek	7	2	msssc
	Çilek	10	4	ssb, ssj
14/4/2003	Çilek	18	8	3k12, 3k9
	Çilek	14	8	3mb1, 3mb11, 3mb12, 3mb7
	Çilek	12	7	3msss1, 3msss12, 3msss5
	Çilek	12	6	3ss3, 3ss8, 3ss9
	Çilek	14	8	3tg13, 3tg8
12/11/2003	Çilek	15	9	3tgss1, 3tgss13, 3tgss14, 3tgss15, 3tgss2, 3tgss9
	Brokoli	17	4	4b12, 4b4, 4b6, 4b7
	Çilek	15	2	4c15, 4c8
	Karnabahar	15	4	4k1, 4k15, 4k2, 4k7, 4k8
	Kırmızı Lahana	13	1	4kl11, 4kl7
	Lahana	14	1	4l14
26/4/2004	Yabani Turp	13	3	4yt11, 4yt3, 4yt7
	Brokoli	15	8	6b1, 6b10, 6b11, 6b13, 6b15, 6b2, 6b3, 6b6, 6b8, 6b9
	Bakla	12	4	6ba1, 6ba11, 6ba2, 6ba3, 6ba5, 6ba6, 6ba8
	Çoban Çantası	17	4	6c1, 6c17, 6c6, 6c7
26/4/2004	Darıcan	6	4	6d1en, 6d2a, 6d3en, 6d5en
	Karnabahar	15	7	6k13, 6k14, 6k2, 6k3, 6k4, 6k5, 6k6, 6k7, 6k8, 6k9
	Lahana	15	5	6l10, 6l14, 6l15, 6l3, 6l4
23/8/2004	Turp	15	4	6t10, 6t13, 6t14, 6t15, 6t2/2, 6t3
	Çilek	18	7	7ec11
	Çilek	12	3	7yc11, 7yc3, 7yc6, 7yc8, 7yc9
15/9/2004	Çilek	20	7	8c3, 8c9
	TOPLAM	362	130	101

Çizelge 4.1 incelendiğinde elde edilen toplam 362 adet bakteriden 130 (%36) tanesinin KingB besiyerinde UV ışık altında floresan verdiği saptanmıştır. Ayrıca 101 bakterinin ön eleme testlerine göre *R. solani* ve/veya *P. cactorum*'a antagonistik etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

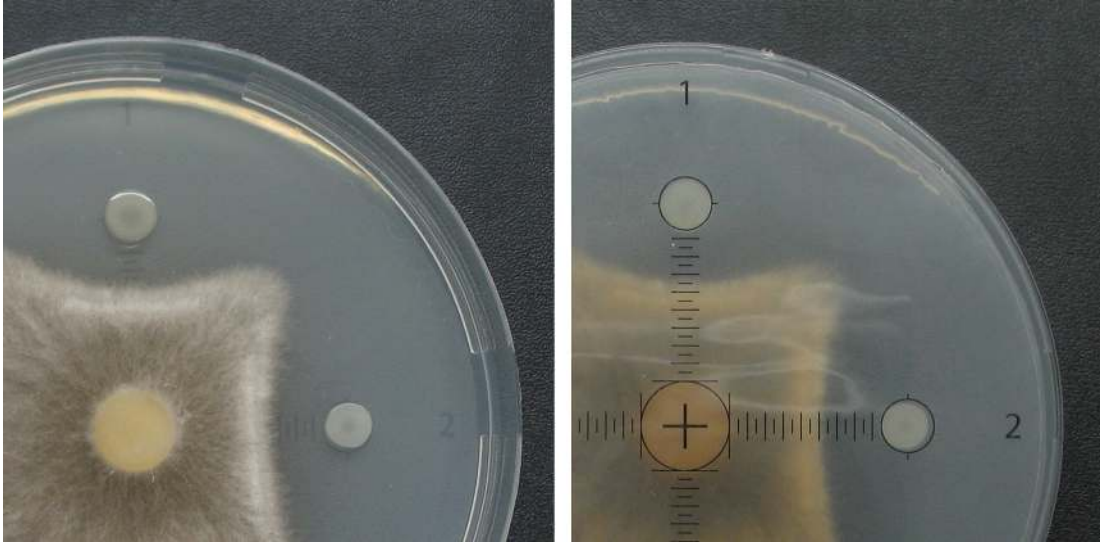
4.2. BAKTERİLERİN *IN-VITRO* ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI

Ön testlerden geçirilerek stoklanan 101 adet antagonist adayı bakteri izolatlarının *R. solani* ve *P. cactorum*'a karşı antifungal etkilerinin ne oranda olduğunun saptanması amacıyla yapılan *in-vitro*'da ikili kültür testlerinin (Şekil 4.2) sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir (Ek 3).

Çizelge 4.2 verileri dikkate alınarak antagonist izolatların her iki fungusa olan etkilerini beraber değerlendirmek amacıyla bilgisayar yardımıyla yapılan cluster analizinde izolatlar 12 kümeye ayrılmıştır (Çizelge 4.2). Elde edilen her bir kümeye ait %95 oranındaki güven sınırları Şekil 4.3'te gösterilen elipslerin alanlarını kapsamaktadır.

Şekil 4.3 incelendiğinde; *P. cactorum* % engelleme ekseninde en sağda yer alan 5, 11 ve 12 no'lu kümelerin, *R. solani* % engelleme ekseninde en üstte yer alan 2, 11 ve 12 no'lu kümelerin en etkili izolatları içerdiği gözlenirken, her iki patojen açısından cluster analizi değerlendirildiğinde en etkili antagonistlerin 2, 5, 11 ve 12 no'lu kümelerde yer aldığı görülmüştür (Çizelge 4.2).

Buna göre *R. solani*'ye en yüksek *in-vitro* etki gösterenlerden 6b2 (%74), 6b6 (%73.3), 4c15 (%68.3), 4k1 (%67) ve mbe (%66.3) 2 no'lu kümeyi, *P. cactorum*'a en yüksek *in-vitro* etki gösterenlerden 6ba3 (%84) ve 6ba6 (%83.3) 12 no'lu kümeyi oluşturmaktadırlar. Oniki no'lu kümedeki bu izolatlar aynı zamanda *R. solani*'ye karşı da sırasıyla %57.3 ve %53.3 oranında yüksek *in-vitro* etki göstermişlerdir. Ayrıca her iki patojene etki dikkate alındığında 11. kümede yer alan 4kl11, 7ec11, 3msss12 nolu izolatlar sırasıyla *R. solani*'ye %58, %55.3, %50 oranında, *P. cactorum*'a ise sırasıyla %58.7, %60, %60 oranında etki göstermişlerdir. Beş no'lu kümede yer alan 6ba2 *R. solani*'ye bu kümede en yüksek etki (%50)'yi gösterirken *P. cactorum*'a %72 oranında etki göstermiştir. Yine bu kümede yer alan 4yt11, 4b7, 3tg8 izolatları *P. cactorum*'a sırasıyla %78.7, %78.3, %75.3 oranında, *R. solani*'ye ise sırasıyla %41.7, %34.3, %44.7 oranında etki göstermiştir.



Şekil 4.2. PDA besiyerinde yürütülen ikili kültür testlerinde 6b8 bakterisinin R3/2 *R. solani* izolatını engellemesi (sol: petri kabı üst görünüm, sağ: petri kabı alt görünüm)

Her iki fungal izolata da etkili antagonistlerin yer aldığı 2, 5, 11 ve 12 nolu kümelerde toplam 24 bakteri bulunmakta ve bunlar toplam izole edilen 362 bakterinin %6.6'sını oluşturmaktadır. Bu dört kümede yer alan en etkili antagonistlerin izole edildikleri orijin bitkilere göre değerlendirilmesi yapıldığında ise baklardan izole edilen bakterilerin %25 (3/12)'i, brokoliden izole edilenlerin %9 (3/32)'u, çilekten izole edilenlerin %8 (14/185)'i, karnabahardan izole edilenlerin %3 (1/30)'ü, kırmızı lahanadan izole edilenlerin %8 (1/13)'i, turptan izole edilenlerin %7 (1/15)'si ve yabani turptan izole edilenlerin %8 (1/13)'i *in-vitro*'da ikili kültür testleri ile etkili bulunmuştur.

Çizelge 4.2. İkili kültür testleri sonucunda antagonist izolatların *R. solani*'yi ve *P. cactorum*'u engelleme oranları (%) ve etkilerine göre yer aldıkları kümeler

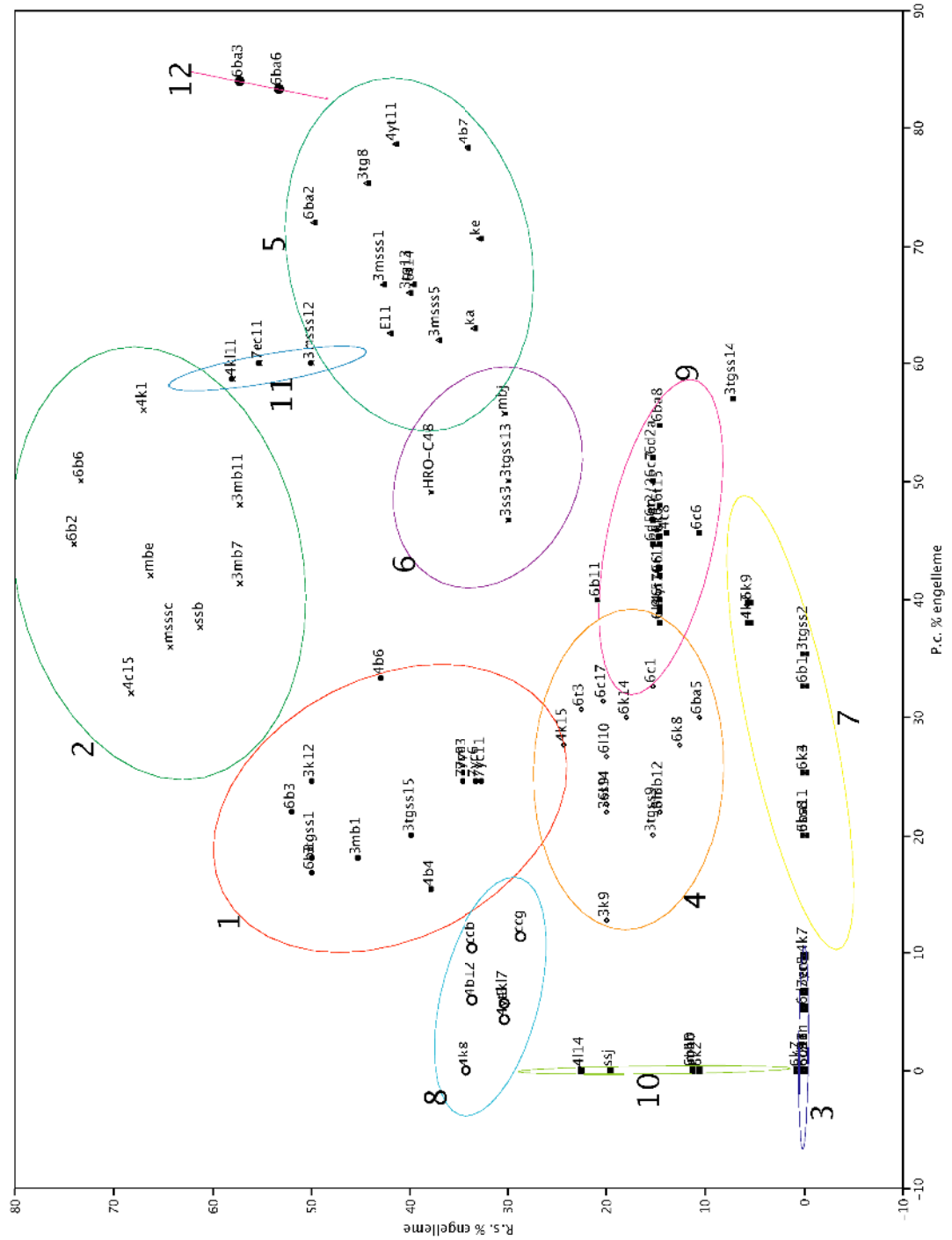
İzolat	Orijin Bitki	<i>R.s.</i> ort. % engelleme	<i>P.c.</i> ort. % engelleme	Küme
3k12	Çilek	50.0	24.7	1
3mb1	Çilek	45.3	18.0	
3tgss1	Çilek	50.0	18.0	
3tgss15	Çilek	40.0	20.0	
4b4	Brokoli	38.0	15.3	
4b6	Brokoli	43.0	33.3	
6b3	Brokoli	52.0	22.0	
6b8	Brokoli	50.0	16.7	
7yc11	Çilek	32.7	24.7	
7yc3	Çilek	34.7	25.3	
7yc6	Çilek	33.3	24.7	
7yc9	Çilek	34.7	24.7	
3mb11	Çilek	57.3	48.0	2
3mb7	Çilek	57.3	41.3	
4c15	Çilek	68.3	32.0	
4k1	Karnabahar	67.0	56.0	
6b2	Brokoli	74.0	44.7	
6b6	Brokoli	73.3	50.0	
mbe	Çilek	66.3	42.0	
msssc	Çilek	64.3	36.0	
ssb	Çilek	61.3	37.7	3
4k7	Karnabahar	0.0	9.7	
6b13	Brokoli	0.0	0.0	
6b15	Brokoli	0.0	0.0	
6b9	Brokoli	0.0	0.0	
6ba1	Bakla	0.0	0.0	
6d1en	Darıcan	0.0	0.0	
6d3en	Darıcan	0.0	5.3	
6k7	Karnabahar	0.7	0.0	
7yc8	Çilek	0.0	6.7	
8c3	Çilek	0.0	0.0	
8c9	Çilek	0.0	0.0	

Çizelge 4.2'nin devamı...

3k9	Çilek	20.0	12.7	4
3mb12	Çilek	14.7	22.0	
3ss9	Çilek	20.0	22.0	
3tgss9	Çilek	15.3	20.0	
4k15	Karnabahar	24.3	27.7	
6ba5	Bakla	10.7	30.0	
6c1	Çoban çantası	15.3	32.7	
6c17	Çoban çantası	20.3	31.3	
6k14	Karnabahar	18.0	30.0	
6k8	Karnabahar	12.7	27.7	
6l10	Lahana	20.0	26.7	
6l14	Lahana	20.0	22.7	
6l3	Lahana	14.7	22.0	
6t3	Turp	22.7	30.7	
3msss1	Çilek	43.0	66.7	5
3msss5	Çilek	37.3	62.0	
3tg13	Çilek	40.3	66.0	
3tg8	Çilek	44.7	75.3	
4b7	Brokoli	34.3	78.3	
4yt11	Yabani Turp	41.7	78.7	
6ba2	Bakla	50.0	72.0	
6t14	Turp	40.0	66.7	
E11	Kolza	42.3	62.7	
ka	Çilek	33.7	63.0	
ke	Çilek	33.0	70.7	6
3ss3	Çilek	30.0	46.7	
3tgss13	Çilek	30.0	50.0	
HRO-C48	Kolza	38.0	49.0	
mbj	Çilek	30.3	55.7	7
3ss8	Çilek	0.0	20.0	
3tgss2	Çilek	0.0	35.3	
4k2	Karnabahar	5.7	38.0	
6b1	Brokoli	0.0	32.7	
6ba11	Bakla	0.0	20.0	
6k3	Karnabahar	0.0	25.3	
6k4	Karnabahar	0.0	25.3	
6k9	Karnabahar	5.7	39.7	

Çizelge 4.2'nin devamı...

4b12	Brokoli	33.7	6.0	8
4k8	Karnabahar	34.3	0.0	
4kl7	Kırmızı Lahana	30.3	5.7	
4yt3	Yabani Turp	30.3	4.3	
ccb	Çoban çantası	33.7	10.3	
ccg	Çoban çantası	28.7	11.3	
3tgss14	Çilek	7.3	57.0	9
4c8	Çilek	14.0	45.7	
4yt7	Yabani Turp	14.7	39.3	
6b11	Brokoli	21.0	40.0	
6ba8	Bakla	14.7	54.7	
6c6	Çoban çantası	10.7	45.7	
6c7	Çoban çantası	15.3	50.0	
6d2a	Darıcan	15.3	52.0	
6d5en	Darıcan	15.3	44.7	
6k13	Karnabahar	14.7	44.7	
6k5	Karnabahar	14.7	39.0	
6k6	Karnabahar	14.7	45.3	
6l15	Lahana	14.7	42.7	
6l4	Lahana	14.7	38.0	
6t10	Turp	14.7	40.0	
6t13	Turp	14.7	42.0	
6t15	Turp	14.7	48.0	
6t2/2	Turp	15.3	46.7	
4l14	Lahana	22.7	0.0	10
6b10	Brokoli	11.3	0.0	
6k2	Karnabahar	10.7	0.0	
mbh	Çilek	11.3	0.3	
ssj	Çilek	19.7	0.0	
3msss12	Çilek	50.0	60.0	11
4kl11	Kırmızı Lahana	58.0	58.7	
7ec11	Çilek	55.3	60.0	
6ba3	Bakla	57.3	84.0	12
6ba6	Bakla	53.3	83.3	



Şekil 4.3. Bakteriye izolatların her iki fungusa olan etkilerinin değerlendirildiği küme analizi sonucunda oluşan kümeler ($P < 0.05$)

4.3. BAKTERİLERİN ÖN ELEME TESTLERİ

Antifungal etkisi saptanan 101 bakteri izolatının tütünde aşırı duyarlılık testleri, gram boyama testi sonuçları ve 37°C’de gelişebilme testi sonuçları Çizelge 4.3’te verilmiştir. Bunlara ek olarak izolatların KingB besiyerinde UV ışık altında floresan verme yetenekleri de aynı çizelgede gösterilmiştir.



Şekil 4.4. 4c15 bakterisi ile inokule edilmiş White Burley tütün yapraklarında aşırı duyarlılık belirtisi

Çizelge 4.3 incelendiğinde 101 izolatın 6 tanesi ve pozitif kontrol olarak kullanılan bitki patojeni *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* (Küt 18) 72 saat içinde tütün yapraklarında aşırı duyarlılık belirtisi (Şekil 4.4) göstermiş ve pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir. Mevcut antagonistler içinden 6k2, 6k7, ccb, msssc ve ssj izolatları gram boyama sonucunda pozitif sonuç vermiştir. Tüm izolatlar 25 °C’de çok iyi gelişirken, 18 tanesi 37°C’de gelişmemiş, 15 tanesi azda olsa bir gelişim göstermiş, 68 tanesi ise çok iyi bir şekilde gelişmiştir. Ayrıca 101 izolatın 71 tanesinin KB besiyerinde UV ışık altında floresans verdiği görülmüştür.

Çizelge 4.3. 101 antagonist bakteri izolatının KB besiyerinde UV ışık altında floresans verme, tütünde aşırı duyarlılık oluşturma, 37°C’de gelişme durumu ve gram boyama testi sonuçları

İzolat	KB de Floresans verme	Tütün HR	37°Cde gelişme	Gram Boyama
3k12	+	-	+	-
3k9	+	-	+	-
3mb1	+	-	+	-
3mb11	+	-	+	-
3mb12	+	-	+	-
3mb7	+	-	+	-
3msss1	+	-	+	-
3msss12	+	-	+	-
3msss5	+	-	+	-
3ss3	-	-	+	-
3ss8	-	-	+	-
3ss9	+	-	+	-
3tg13	+	-	+	-
3tg8	-	-	+	-
3tgss1	+	-	+	-
3tgss13	+	-	+	-
3tgss14	+	-	-	-
3tgss15	+	-	+	-
3tgss2	-	-	+	-
3tgss9	+	-	+	-
4b12	-	-	+	-
4b4	-	-	+	-
4b6	+	-	+	-
4b7	+	-	+	-
4c15	+	+	+	-
4c8	+	-	+	-
4k1	+	-	+	-
4k15	-	-	+	-
4k2	+	+	+	-
4k7	-	-	-	-
4k8	-	-	+	-
4kl11	+	+	+	-
4kl7	-	-	+	-
4l14	-	-	+	-
4yt11	+	-	+	-
4yt3	-	+	-	-
4yt7	-	-	+	-

İzolat	KB de Floresans verme	Tütün HR	37°Cde gelişme	Gram Boyama
6ba5	+	-	+	-
6ba6	+	-	±	-
6ba8	+	-	-	-
6c1	+	-	±	-
6c17	+	-	-	-
6c6	+	-	±	-
6c7	+	-	-	-
6d1en	+	-	-	-
6d2a	+	-	±	-
6d3en	+	-	-	-+
6d5en	+	-	+	-
6k13	+	-	±	-
6k14	+	-	+	-
6k2	-	-	+	+
6k3	-	-	+	-
6k4	+	-	+	-
6k5	+	-	±	-
6k6	+	-	-	-
6k7	-	-	-	+
6k8	+	-	+	-
6k9	+	+	+	-
6l10	+	-	+	-
6l14	+	-	+	-
6l15	+	-	±	-
6l3	+	-	+	-
6l4	+	-	±	-
6t10	+	-	-	-
6t13	+	-	-	-
6t14	-	-	±	-
6t15	+	-	+	-
6t2/2	-	-	±	-
6t3	+	-	-	-
7ec11	+	-	+	-
7yc11	+	-	-	-
7yc3	+	-	-	-
7yc6	-	-	-	-
7yc8	-	-	+	-

Çizelge 4.3'ün devamı...

İzolat	KB de Floresans verme	Tütün HR	37°Cde gelişme	Gram Boyama	İzolat	KB de Floresans verme	Tütün HR	37°Cde gelişme	Gram Boyama
6b1	+	-	±	-	7yc9	-	-	-	-
6b10	-	-	±	-	8c3	+	-	-	-
6b11	+	-	+	-	8c9	+	-	±	-
6b13	-	-	+	-	ccb	-	-	+	+
6b15	+	-	+	-	cgc	-	-	±	-
6b2	+	-	+	-	ka	+	-	+	-
6b3	+	-	+	-	ke	+	-	+	-
6b6	+	-	+	-	mbe	+	-	+	-
6b8	+	-	+	-	mbh	-	-	±	-
6b9	-	-	+	-	mbj	+	-	+	-
6ba1	-	-	+	-	msssc	-	-	+	+
6ba11	+	-	+	-	ssb	+	-	+	-
6ba2	+	-	+	-	ssj	-	-	+	+
6ba3	+	-	+	-	küt 18	nt	+	nt	nt

+: pozitif sonuç, -: negatif sonuç, ±: zayıf gelişme
küt 18: *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*
nt: Testlenmedi

Yapılan ikili kültür, diğer testler ve bakterilerin izole edildiği orijin bitkiler dikkate alınarak 101 bakteri izolatından 24 tanesi (3k9, 3mb12, 3mss12, 3mss5, 3ss9, 3tg13, 3tg8, 4b7, 4k1, 6b2, 6b6, 6ba2, 6ba3, 6ba6, 6k4, 6k8, 6l10, 6l14, 6t14, 7ec11, ka, ke, mbe ve mbj) seçilmiş ve çalışmaların geri kalanı bu bakteriler üzerinde yürütülmüştür.

4.4. ENZİM AKTİVİTELERİNİN SAPTANMASI

Seçilen 24 adet antagonist izolatın yanında etkinliği bilinen iki biyolojik savaş ajanı *Serratia plymuthica* (HRO-C48) ve *Pseudomonas fluorescens* (E11) kontrol olarak kullanılmış ve etki mekanizmalarına yönelik testler toplam 26 bakteri üzerinde araştırılmıştır. Bu amaçla antagonist bakteri izolatlarının kitinaz, proteaz, pektinaz, selüloz, DNaz, fosfataz enzim aktiviteleri ile inorganik fosfatı çözebilme yeteneklerine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Antagonist adayı bakterilerin kitiniaz, proteaz, pektinaz, selülaaz, DNaz, fosfataz ve fosfatı çözebilme testleri sonuçları

izolat	Kitinaz ¹	Proteaz ²	Pektinaz ¹	Selülaaz ¹	DNaz ³	Fosfataz ⁴	İnorganik fosfatı çözebilme (mm çap)
3k9	-	+	-	-	-	-	9
3mb12	-	-	-	-	-	-	9
3msss12	-	+++	-	-	-	-	0
3msss5	-	-	-	-	-	-	11
3ss9	-	+	-	-	-	-	9
3tg13	-	-	-	-	-	-	13
3tg8	-	-	-	-	-	-	12
4b7	-	+++	-	-	-	++	9
4k1	-	-	-	-	-	-	13
6b2	-	-	-	-	-	+	13
6b6	-	-	-	-	-	+	12
6ba2	-	++	-	-	-	-	0
6ba3	-	+	-	-	-	-	10
6ba6	-	++	-	-	-	-	8
6k4	-	-	-	-	-	-	0
6k8	-	-	-	-	-	-	10
6l10	-	++	-	-	±	-	11
6l14	-	++	-	-	±	-	8
6t14	-	-	-	-	±	-	9
7ec11	-	+++	-	-	-	-	0
ka	-	-	-	-	-	-	11
ke	-	+	-	-	-	-	12
mbe	-	+	-	-	-	-	14
mbj	-	+	-	-	-	-	11
HRO-C48	+	+	-	+	+	+++	0
E11	-	-	-	-	-	-	13
ECC-133	nt	nt	+	nt	nt	nt	nt

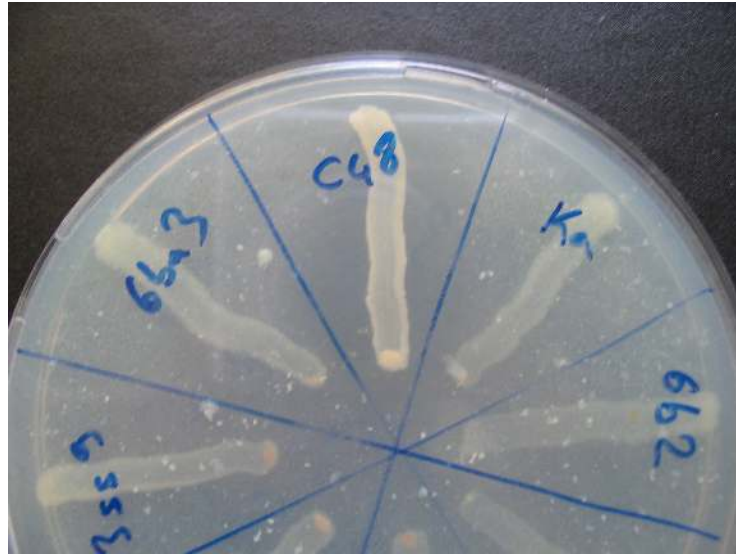
¹ +: pozitif sonuç, -: negatif sonuç

² Açık zonun çapı 5mm'ye kadar olanlar +, 5-10 mm olanlar ++, 10 mm'den büyük olanlar +++

³ +: pozitif sonuç, ±: zayıf pozitif, -: negatif sonuç

⁴ Oluşan kırmızı rengin şiddetine göre; kırmızı ise +++, açık kırmızı ise ++, hafif pembemsi ise +
nt: Testlenmedi

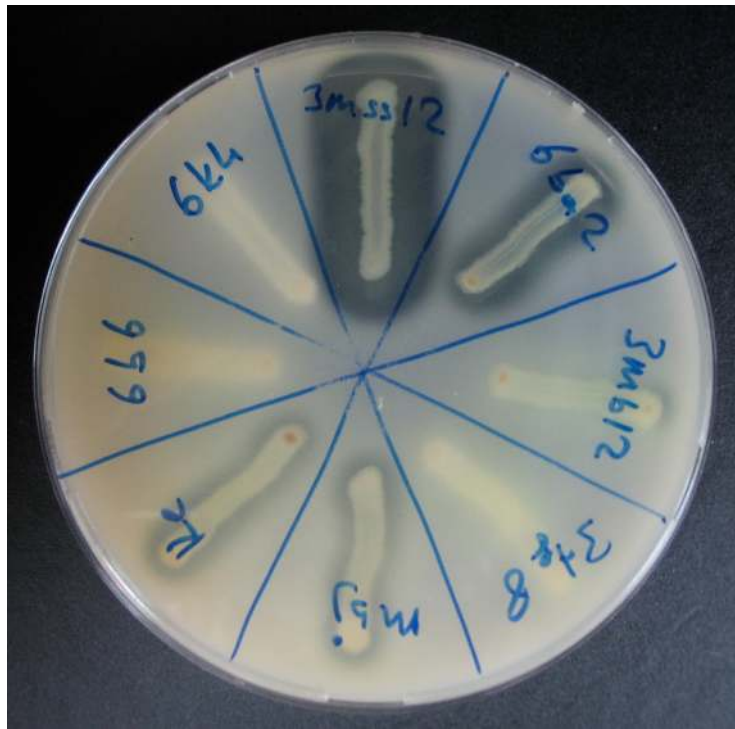
Çizelge 4.4 incelendiğinde sadece HRO-C48 kitinaz (Şekil 4.5) ve selülaz (Şekil 4.6) üretmiştir. 3k9, 3msss12, 3ss9, 4b7, 6ba2, 6ba3, 6ba6, 6l10, 6l14, 7ec11, ke, mbe, mbj ve HRO-C48 izolatları değişik miktarlarda proteaz (Şekil 4.7) üretirken pozitif kontrol olarak kullanılan ECC-133 hariç hiç bir izolat pektinaz (Şekil 4.8) üretmemiştir. Bunun yanında HRO-C48 izolatı DNaz (Şekil 4.9) pozitif sonuç verirken 6l10, 6l14 ve 6t14 izolatları ise zayıf DNaz aktivitesi göstermiştir. 3k9, 3mb12, 3msss5, 3ss9, 3tg13, 3tg8, 4b7, 4k1, 6b2, 6b6, 6ba3, ba6, 6k8, 6l10, 6l14, 6t14, ka, ke, mbe, mbj ve E11 izolatları inorganik fosfatı çözebilme (Şekil 4.10) kabiliyetinde bulunurken, 4b7, 6b2, 6b6 ve HRO-C48 izolatları fosfataz (Şekil 4.11) testi pozitif sonuç vermiştir.



Şekil 4.5. Kitin Agar besiyerinde kitinaz aktivitesi testi (soldan sağa 3ss9 -, 6ba3 -, HRO-C48 +, ka -, 6b2 - sonuç)



Şekil 4.6. Selülaz aktivitesi testi (soldan sağa 3ss9 -, 6ba3 -, HRO-C48 +, 6k4 -, 6b2 - sonuç)



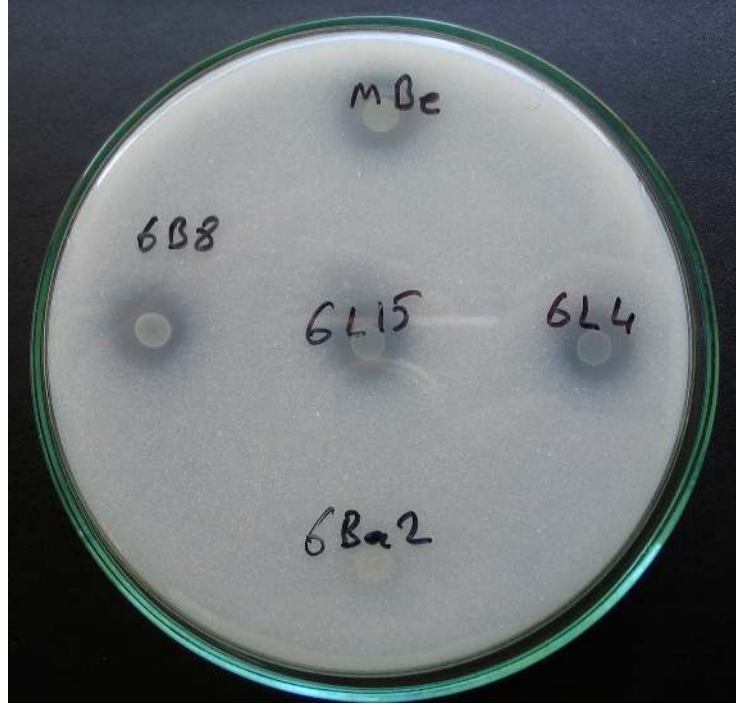
Şekil 4.7. Skim Milk Agar besiyerinde proteaz aktivitesi testi (saat yönünde 3mss12 +++, 6ba2 ++, 3mb12, -, 3tg8 -, mbj +, ke +, 6b6 -, 6k4 - sonuç)



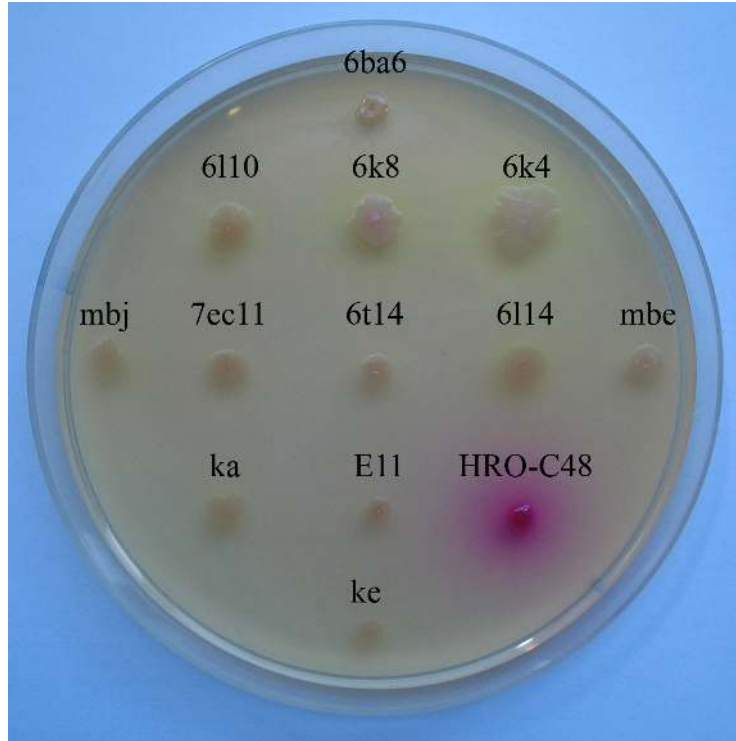
Şekil 4.8. Pektat Agar besiyerinde pektinaz aktivitesi testi (üst resim Ecc 133 +, alt resim mbe - sonuç)



Şekil 4.9. DNaz Agar besiyerinde DNaz aktivitesi testi (üst ve alt HRO-C48 +, sol ve sağ 4c15 - sonuç)



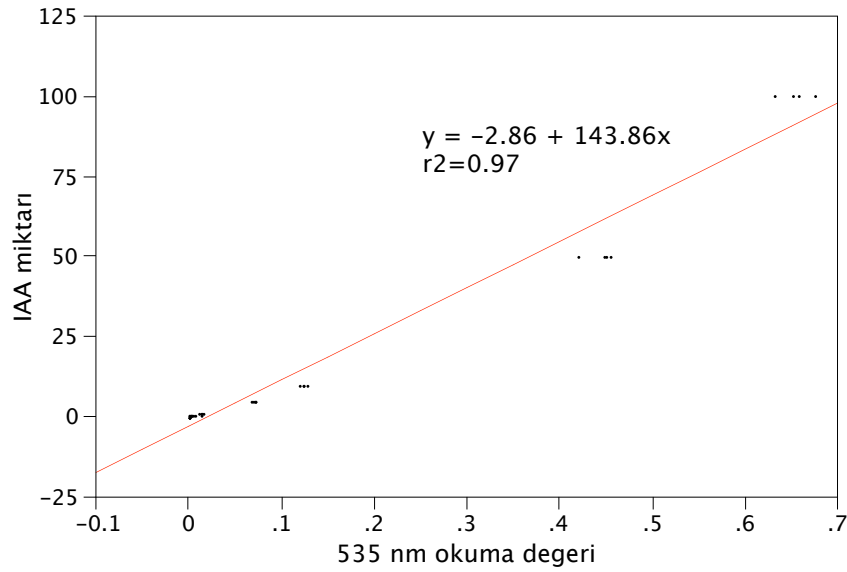
Şekil 4.10. İnorganik fosfatı çözebilme testi (mbe, 6b8, 6l15 ve 6l14 +; 6ba2 - sonuç)



Şekil 4.11. Fosfataz testi (HRO C48 +, diğer izolatlar - sonuç)

4.5. SEKONDER METABOLİT ÜRETİMİ

Bakteri izolatlarının IAA üretimine yönelik testlerinde örneklerin hazırlandığı besiyerinin uygunluğuna yönelik değerlendirmede tüm izolatların söz konusu ortamda geliştiği gözlenmiş ve spektrofotometrede 600 nm absorbans değerleri 1.024-1.451 arasında değişmiştir. IAA oluşturma miktarını belirlemeye yönelik hazırlanan standart çözeltilerin (0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 µg/ml IAA) spektrofotometrede 535 nm’de okunan absorbans değerleri (Ek 4)’ne göre çizilen grafik Şekil 4.12’de verilmiş olup standart doğru denklemi $y = -2.86 + 143.86x$, korelasyon katsayısı $r^2=0.97$ olarak hesaplanmıştır. Her izolat için 535 nm’de okunan (Ek 5) ve bu denkleme göre hesaplanan IAA miktarları ile sekonder metabolit üretimine yönelik yapılan diğer testlerin [hidrojen siyanid (HCN), yüzey aktif madde (biosurfactant), 2,4-diacetylphloroglucinol ve siderofor] sonuçları Çizelge 4.5’te verilmiştir.



Şekil 4.12. IAA miktarlarının hesaplanmasında kullanılan doğru formülü ve korelasyon katsayısı

Çizelge 4.5. Antagonist adayı bakterilerin HCN, indol asetik asit, yüzey aktif madde, 2,4-DAPG ve siderofor üretimi testleri sonuçları

izolat	IAA üretimi (µg/ml)	HCN ¹	Yüzey aktif madde (mm çap)	2-4 DAPG ²	Siderophore (mm çap)
3k9	0	++++	20	+	12
3mb12	0	++	0	+	16
3msss12	0	+	0	-	0
3msss5	0	+++	0	+	15
3ss9	0	+++	21	+	15
3tg13	0	-	0	+	12
3tg8	0	+	14	+	16
4b7	0	++++	0	+	5
4k1	0	+	0	-	6
6b2	0	-	0	-	0
6b6	0	++	0	-	0
6ba2	0	+++	22	+	22
6ba3	0	++	14	+	25
6ba6	0	++	16	+	23
6k4	62.4	-	0	-	0
6k8	1.9	-	0	-	0
6l10	0	++++	23	+	15
6l14	0	++++	19	+	18
6t14	0	+	14	+	23
7ec11	0	++	0	-	5
ka	0	-	0	+	15
ke	0	+++	11	+	14
mbe	0	++	0	-	0
mbj	0	++++	14	+	17
HRO-C48	0	-	0	na	0
E11	0	+	17	+	16
ITM-519	95.6	nt	nt	nt	nt

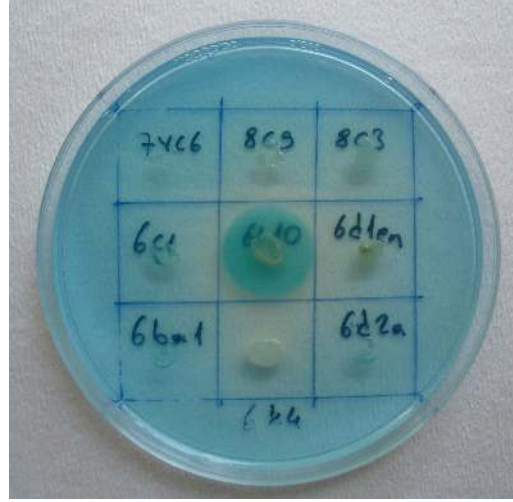
¹Elde edilen kahverenginin tonuna göre en koyu renk ++++ ve en açık + olmak üzere pozitif sonuç dört sınıfa ayrılmıştır.

² Yürütülen jelde 629 bp büyüklüğünde bant oluşumu +, na: uygulanabilir değil
nt: Testlenmedi

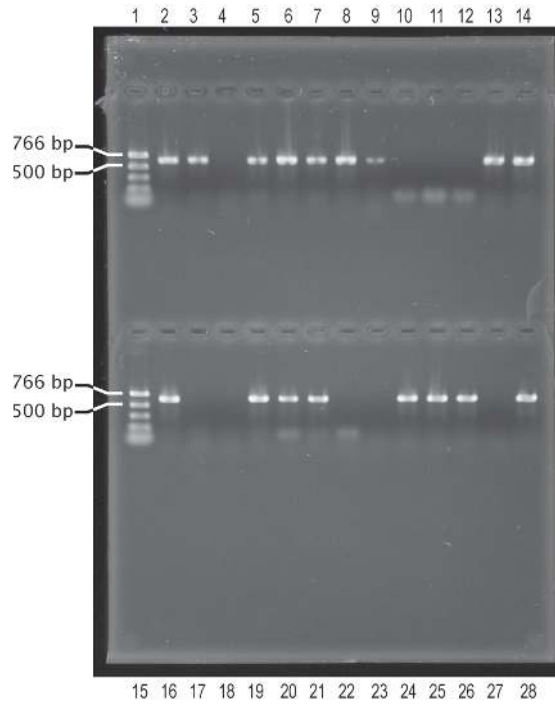
Çizelge 4.5 incelendiğinde testlenen 26 izolattan 6k4 ve 6k8 izolatları sırasıyla 62.4 ve 1.9 µg/ml oranında IAA oluştururken testte pozitif kontrol olarak kullanılan *P. savastanoi* (ITM-519) aynı besiyerinde 95.6 µg/ml oranında IAA oluşturmuştur. HCN üretimi dikkate alındığında 3k9, 4b7, 6l10, 6l14 ve mbj izolatları başta olmak üzere 3mb12, 3msss12, 3msss5, 3ss9, 3tg8, 4k1, 6b6, 6ba2, 6ba3, 6ba6, 6t14, 7ec11, ke, mbe ve E11 izolatlarının farklı düzeylerde HCN oluşturduğu görülmüştür (Şekil 4.13). Yüzey aktif madde üretimi bakımından ise 6l10, 6ba2 ve 3ss9 izolatları başta olmak üzere 3k9, 3tg8, 6ba3, 6ba6, 6l14, 6t14, ke, mbj ve E11'in değişik oranlarda bu metaboliti ürettiği saptanmıştır (Şekil 4.14). 3k9, 3mb12, 3msss5, 3ss9, 3tg13, 3tg8, 4b7, 6ba2, 6ba3, 6ba6, 6l10, 6l14, 6t14, ka, ke mbj ve E11 izolatlarının PCR testleri sonucunda phlD genine özgü primerler ile 629 bp büyüklüğünde bant verdiği görülmüş ve 2,4-diacetylphloroglucinol üretimi pozitif olarak bulunmuştur (Şekil 4.15). 6ba3, 6ba6, 6ba2 izolatları başta olmak üzere 3k9, 3mb12, 3msss5, 3ss9, 3tg13, 3tg8, 4b7, 4k1, 6l10, 6l14, 6t14, 7ec11, ka, ke, mbj ve E11 izolatlarının değişen oranlarda siderofor ürettiği saptanmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.13. HCN test sıvı besiyerinde gelişen bakteri izolatlarının oluşturduğu HCN nedeniyle pikrik asit emdirilmiş kağıt şeritlerde meydana getirdiği renk değişimi (ka -, 3tg8 +, 6b6 ++, 3ss9 +++ ve 3k9 ++++)



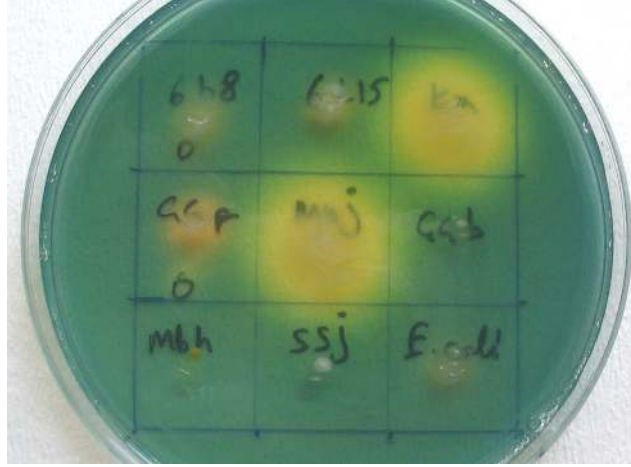
Şekil 4.14. Deterjan içeren mineral besiyerinde yüzey aktif madde üreten izolatların oluşturduğu zon (6110 +, diğerleri - sonuç)



Şekil 4.15. İzolatların B2BF ve BPR4 primerleri ile amplifikasyonu sonucunda elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezde ethidium bromide ile boyandıktan sonraki görünümü

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
M*	3k9 +	3mb12 +	3msss12 -	3msss5 +	3ss9 +	3tg13 +	3tg8 +	4b7 +	4k1 -	6b2 -	6b6 -	6ba2 +	6ba3 +
15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
M*	6ba6 +	6k4 -	6k8 -	6l10 +	6l14 +	6t14 +	7ec11 -	SU -	E11 +	ka +	ke +	mbe -	mbj +

* DNA moleküler ağırlık işaretleyici (PCR Marker, New England Lab)



Şekil 4.16. CAS Blue Agar besiyerinde siderofor üreten izolatların oluşturduğu turuncu-sarı zon (ka, mbj ve ccg +; diğerleri - sonuç)

4.6. ANTAGONİST BAKTERİLERİN TANILANMASI

Yağ asitleri (FAME) analizi sonucunda tez kapsamında elde edilen ve değerlendirmeye alınan 24 bakterinin tümü *Pseudomonas* genusunda yer alırken 6b2, 6b6, 6ba6 *Pseudomonas fluorescens* biotype A olarak; ka, 3k9, 3mb12, 3msss5, 3ss9, 3tg13, 6l10, 6l14, ke, mbe, mbj *Pseudomonas fluorescens* biotype F olarak; 3msss12, 4b7, 4k1, 6k4, 6k8, 7ec11 *Pseudomonas putida* biotype A olarak tanılanmıştır. Bu izolatlardan bir tanesi (4b7) 0.3'ün altında benzerlik indeksi (SIM index) göstermiş ve kesin olmayan bir sonuç vermiştir. İzolatlardan dört tanesi (3tg8, 6ba2, 6ba3, 6t14) ise sadece *Pseudomonas* genusunda oldukları saptanabilmiştir. Diğer izolatların tümü 0.3 ve üzerinde SIM indeks değeri vermiş ve Çizelge 4.6'da belirtilen türler oldukları saptanmıştır.

Çizelge 4.6. Yağ asitleri analiz sonuçları

İzolat	SIM indeks	Tür
6ba6	0.673	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype A
6b6	0.520	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype A
6b2	0.471	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype A
6l14	0.583	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
3ss9	0.581	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
ke	0.576	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
3tg13	0.565	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
mbj	0.560	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
ka	0.557	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
3msss5	0.552	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
6l10	0.529	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
mbe	0.525	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
3k9	0.459	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
3mb12	0.381	<i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype F
6k8	0.474	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A
6k4	0.469	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A
7ec11	0.423	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A
4k1	0.404	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A
3msss12	0.344	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A
4b7	0.256	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A
6t14		<i>Pseudomonas</i> sp.
3tg8		<i>Pseudomonas</i> sp.
6ba2		<i>Pseudomonas</i> sp.
6ba3		<i>Pseudomonas</i> sp.

4.7. IN-VIVO TESTLER

4.7.1. Sakı Koşullarında Yürütülen Testler

4.7.1.1. Fungal İzolatların Patojenisite Testleri

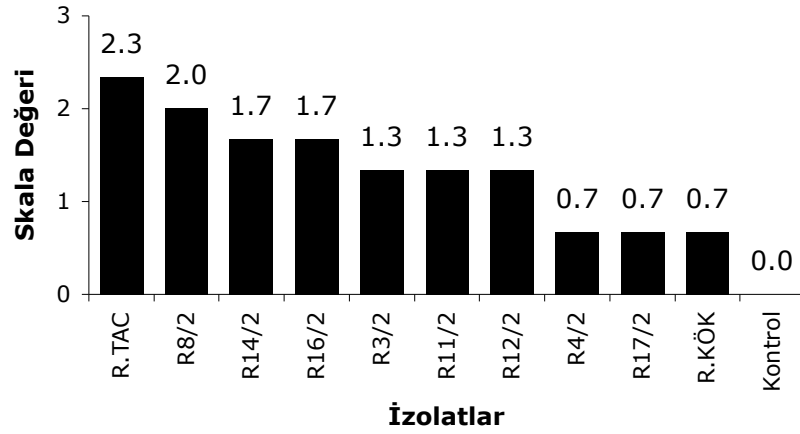
Mevcut 10 adet *R. solani* ve 11 adet *P. cactorum* fungal izolatın iklim odasında yetiştirilen çilek bitkileri üzerinde yapılan patojenisite testlerinin sonuçları Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. On *Rhizoctonia solani* izolatının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ve bitkilerin ağırlığındaki yüzde değişim

İzolat	Skala değeri				Ağırlık yüzde değişim			
	I	II	III	Ort ¹	I	II	III	Ort ¹
R.TAC	3	3	1	2.33	-6.25	-30.88	42.19	1.69 A
R8/2	3	2	1	2.00	-13.00	6.44	-5.19	-3.92 A
R14/2	1	3	1	1.67	0.31	-29.24	51.67	7.58 A
R16/2	1	3	1	1.67	46.18	-5.28	94.72	45.21 AB
R3/2	2	0	3	1.33	31.05	54.80	-5.67	26.73 AB
R11/2	1	2	1	1.33	87.50	8.01	30.53	42.01 AB
R12/2	1	2	1	1.33	58.74	31.42	41.33	43.83 AB
R4/2	1	0	1	0.67	21.75	50.85	52.11	41.57 AB
R17/2	2	0	0	0.67	11.30	58.18	51.22	40.23 AB
R.KÖK	2	0	0	0.67	42.26	113.78	82.19	79.41 BC
Kontrol	0	0	0	0.00	126.10	141.15	102.88	123.38 C

¹Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur (LSD, P<0.05) (Ek 6)

Çizelge 4.7 incelendiğinde tüm *R. solani* izolatlarının ağırlıklardaki yüzde değişimleri yönünden kontrolden farklı bir grupta yer aldığı görülmektedir. Böylece tüm izolatların patojen olduğu belirlenirken skala değerleri (Şekil 4.17) ortalamasına göre sırasıyla R.TAC ve R8/2 izolatları en virulent izolatlar olarak saptanmıştır. *R. solani* ile inokule edilen bitkilerin ağırlıklarındaki değişim oranları incelendiğinde ise en virulent izolatların R8/2, R.TAC, R14/2 ve R3/2 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.7). Skala değerleri ile fide ağırlığı değişim oranları arasında korelasyon analizi yapıldığında her iki değer arasında negatif yönde önemli derecede bir ilişki saptanmıştır ($r^2=-0.86$). *R. solani* izolatları ile yürütülen denemede bitkilerin görünümü Şekil 4.18’de verilmiştir.



Şekil 4.17. *R. solani* izolatlarının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ortalamaları



Şekil 4.18. İklim odasında yürütülen patojenisite testlerinde 10 adet *R. solani* izolatı ile inokule edilmiş saksılarda inokulasyondan 5 hafta sonra çilek bitkilerinin görünümü (En solda inokule edilmemiş kontrol, onu takiben soldan sağa R.TAC, 16/2, 8/2, 14/2, R.kök, 4/2, 3/2, 11/2, 17/2 ve 12/2 izolatları)

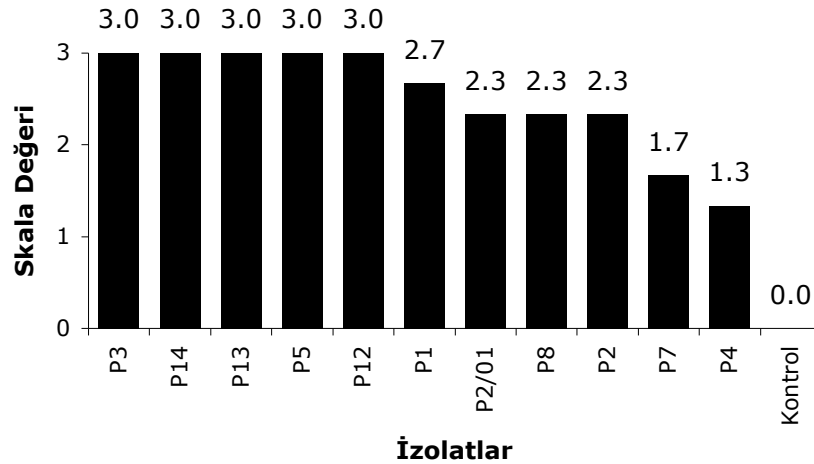
Bu çalışmalara paralel olarak 11 adet *P. cactorum* izolatı ile yürütülen patojenisite testi sonuçları Çizelge 4.8 verilmiştir.

Çizelge 4.8. Onbir *Phytophthora cactorum* izolatının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ve bitkilerin ağırlığındaki yüzde değişim

İzolat	Skala değeri				Ağırlık yüzde değişim			
	I	II	III	Ort ¹	I	II	III	Ort ¹
P3	3	3	3	3.00 A	-20.69	-37.22	-32.24	-30.05 A
P14	3	3	3	3.00 A	-18.76	-10.99	-22.14	-17.30 AB
P13	3	3	3	3.00 A	-36.18	1.49	-3.11	-12.60 ABC
P5	3	3	3	3.00 A	-25.00	-30.36	17.50	-12.62 ABC
P12	3	3	3	3.00 A	18.50	1.48	1.24	7.07 CD
P1	3	3	2	2.67 AB	-14.67	8.14	-1.23	-2.59 BCD
P2/01	1	3	3	2.33 AB	-23.22	-1.74	-13.59	-12.85 ABC
P8	3	3	1	2.33 AB	-11.10	0.14	4.00	-2.32 BCD
P2	3	3	1	2.33 AB	9.19	3.40	36.74	16.44 D
P7	3	2	0	1.67 AB	-19.75	-16.49	-21.70	-19.31 AB
P4	2	0	2	1.33 B	-15.56	-17.93	-6.44	-13.31 ABC
Kontrol	0	0	0	0.00 C	126.10	141.15	102.88	123.38 E

* Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur (LSD, P<0.05) (Ek 7)

Çizelge 4.8’de *P. cactorum* izolatlarının hastalık oluşturma yetenekleri incelendiğinde; ortalama skala değerleri (Şekil 4.19) açısından P3, P14, P13, P5 ve P12 izolatlarının en virulent izolatlar olduğu saptanmıştır. Yaş ağırlıklarındaki yüzde değişim oranları dikkate alındığında ise en virulent izolatlar P3, P7, P14, P4, P2/01, P5 ve P13 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.19. *P. cactorum* izolatlarının patojenisite testinde inokulasyondan 5 hafta sonraki skala değerleri ortalamaları

Denemede *P. cactorum* izolatlarının ortalama skala değerleri ile fide ağırlıklarındaki ortalama yzde değişim miktarları arasında ise negatif yznde istatistiki olarak znemli bir korelasyon bulunmuştur ($r^2=-0.76$). *P. cactorum* izolatları ile yzrztlen denemede bitkilerin gzrznmz Şekil 4.20’de verilmiştir.



Şekil 4.20. İklim odasında yzrztlen patojenisite testlerinde 11 adet *P. cactorum* izolatı ile inokule edilmiş saksılarda inokulasyondan 5 hafta sonra zilek bitkilerinin gzrznmz (Soldan sağa P7, P3, P2, P4, P2/01, P1, P8, P13, P12, P5 ve P14 izolatları ve en sağda hastalık inokule edilmemiş toprakta gelişen zilek bitkileri)

Her iki hastalığa ait patojenisite testleri sonuğlarına gze elde edilen skala değerleri ile bitkilerin ağırlığındaki yzde değişim oranları arasında istatistiki olarak znemli bir korelasyon saptanması nedeniyle daha sonra yapılan saksı denemelerinde sadece skala kullanılarak hastalık şiddeti zlzmleri yapılmıştır.

4.7.1.2. Antagonist Bakterilerin *R. solani* ve *P. cactorum*'a Etkileri

In-vitro testler sonucunda seçilen 24 antagonist bakteri izolatu ve 2 referans izolat (HRO-C48, E11)'nin *R. solani* ve *P. cactorum*'a *in-vivo* etkileri Şekil 4.21, Çizelge 4.9'da verilmiştir. Bakteri uygulamalarının *R. solani*'ye etkileri incelendiğinde sırasıyla 3ss9, 6l10, 7ec11 ve mbe izolatlarının %57 oranında hastalığı engelleyerek en yüksek etkiyi oluşturdukları görülmüştür. Denemeye alınan diğer izolatlardan 16 tanesi 2 ve üzeri hastalık skala değeri ile sadece patojen uygulanan kontrol ile aynı grupta yer aldığı görülmüştür.

Uygulamaların *P. cactorum*'a olan etkileri değerlendirildiğinde ise en yüksek etki %50 oranla 3ss9 ve 6l10 izolatlarından elde edilmiştir. 6b2, 6ba6, 6k4 ve 3msss5 uygulamaları pozitif kontrolle aynı hastalık oranına sahipken (%44), bazı bakteri uygulamalarının (E11, 3msss12, 6b6, 6l14, 3tg8, 6k8, 6t14, ke, 4k1, mbe, 6ba2, 3tg13, 3mb12, 7ec11, 3k9, 6ba3, mbj ve 4b7) %56 ile %89 arasında değişen hastalık oranları ile pozitif kontrolden daha fazla hastalık oranına sahip olduğu dikkati çekmiştir.

Her iki hastalığı da kontrol altına alma açısından veriler incelendiğinde; 3ss9 ve 6l10 kodlu bakteriyel antagonist uygulaması yapılan bitkilerin hastalıklı kontrollerden daha iyi bir gelişim gösterdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.9).



Şekil 4.21. İklim odasında *in-vivo* antagonistik etkinin saptanması amacıyla yürütülen denemelerde R8/2 *R. solani*, P5 *P. cactorum* izolatu ile inokule edilmiş topraklardaki beş haftalık çilek bitkilerinin görünümü

Çizelge 4.9. Kontrollü koşullarında antagonistik etkinin saptanması denemesinde *R. solani* ve *P.cactorum* son sayım skala değerleri ortalamaları, yüzde hastalık ve yüzde etki değerleri

<i>R. solani</i>					<i>P. cactorum</i>				
İzolot	Skala Ort ¹		Yüzde Hast. ²	Yüzde Etki ²	İzolot	Skala Ort ¹		Yüzde Hast. ²	Yüzde Etki ²
kontrol (hastaliksız)	0.00	A	0		kontrol (hastaliksız)	0.00	A	0	
3ss9	1.00	B	33	57	3ss9	0.67	AB	22	50
6l10	1.00	B	33	57	6l10	0.67	AB	22	50
7ec11	1.00	BC	33	57	HRO-C48	1.00	BC	33	25
mbe	1.00	BC	33	57	ka	1.00	BCD	33	25
ka	1.33	BCD	44	43	6b2	1.33	BCDE	44	0
E11	1.33	BCD	44	43	6ba6	1.33	BCDE	44	0
6k4	1.67	BCD	56	29	6k4	1.33	BCDE	44	0
3msss5	1.67	BCD	56	29	3msss5	1.33	BCDE	44	0
3tg13	1.67	BCD	56	29	kontrol (+)	1.33	BCDE	44	0
3mb12	1.67	BCD	56	29	E11	1.67	CDEF	56	0
HRO-C48	2.00	CD	67	14	3msss12	1.67	CDEF	56	0
4k1	2.00	CD	67	14	6b6	1.67	CDEF	56	0
6ba6	2.00	CD	67	14	6l14	1.67	CDEF	56	0
6k8	2.00	CD	67	14	3tg8	1.67	CDEF	56	0
4b7	2.00	CD	67	14	6k8	1.67	CDEF	56	0
6t14	2.00	CD	67	14	6t14	1.67	CDEF	56	0
6ba3	2.00	CD	67	14	ke	2.00	DEF	67	0
ke	2.33	D	78	0	4k1	2.00	DEF	67	0
6b2	2.33	D	78	0	mbe	2.00	DEF	67	0
3msss12	2.33	D	78	0	6ba2	2.00	DEF	67	0
6b6	2.33	D	78	0	3tg13	2.00	DEF	67	0
mbj	2.33	D	78	0	3mb12	2.00	DEF	67	0
6ba2	2.33	D	78	0	7ec11	2.33	EF	78	0
6l14	2.33	D	78	0	3k9	2.33	EF	78	0
3tg8	2.33	D	78	0	6ba3	2.33	EF	78	0
kontrol (+)	2.33	D	78	0	mbj	2.67	F	89	0
3k9	2.33	D	78	0	4b7	2.67	F	89	0

¹ Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur (LSD, P<0.05) (Ek 8).

² Yüzde hastalık değerleri Towsend-Heuberger, yüzde etki Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

4.7.1.3. Antagonist Bakterilerin Çilek Bitkisi Gelişimine Etkisi

Bakterilerin sağlıklı bitkilerin gelişimine olan etkilerini saptamak amacıyla yürütülen denemelerde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir. Çizelge 4.10 incelendiğinde sırasıyla 3k9, 6ba3, HRO-C48, 3tg8, 3ss9 ve 6k8 izolatlarının bitki gelişimini %76'nın üzerinde arttırdığı saptanmıştır. 6k4, 6b6, 6t14, 4k1, 3tg13, mbe, 6b2 ve 3mb12 izolatları bitki gelişimini %50'nin üzerinde teşvik etmiştir (Şekil 4.22, 4.23).



Şekil 4.22. İklim odası koşullarında bakterilerin bitki gelişimine olan etkilerinin saptandığı denemede antagonist bakteri ile inokule edilmiş çilek bitkilerinin inokulasyondan beş hafta sonraki görünümü



Şekil 4.23. Bakterilerin çilek bitkisi gelişimine olan etkisine yönelik denemelerde sağda bakteri (6ba3) uygulanan ve solda hiç uygulama yapılmayan çilek bitkilerinin görünümü

Çizelge 4.10. İklim odası koşullarında antagonist adayı bakterilerin çilek bitkisinin gelişimine etkisi

İzolat	Ağırlıkta yüzde artış ¹	İzolat	Ağırlıkta yüzde artış ¹
3k9	159.92	mbj	46.94
6ba3	158.60	6l14	44.78
HRO-C48	129.81	ka	42.14
3tg8	121.96	3msss5	40.47
3ss9	78.84	7ec11	39.06
6k8	76.12	ke	38.73
6k4	72.20	6ba2	35.92
6b6	65.00	3msss12	34.85
6t14	63.86	6ba6	34.35
4k1	63.69	E11	33.08
3tg13	59.71	kontrol	31.62
mbe	57.28	6l10	28.62
6b2	56.14	4b7	14.19
3mb12	54.78		

¹Üç tekerrürün ortalamasıdır ve karakterler arasında fark yoktur (Anova, P>0.05) Ek 9

4.7.2. Tarla Denemeleri

2004-2005 çilek üretim sezonunda yürütülen tarla ön denemelerinde 4/11/2004 tarihinde her karakterin her sırasına bakılarak çöken (ölü) bitkiler sayılmış ve sayıları kayıt edilmiştir. Aynı şekilde hasat bitimi ile beraber 22/6/2005 tarihinde ölü bitkiler tekrar sayılarak değerlendirilmiştir. Her iki tarihte yapılan sayımlarda karakterlere ait çöken bitki oranları arasında istatistiki olarak fark bulunmamıştır (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. 2004-2005 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları

Uygulama	Çöken bitki oranları %	
	04/11/2004 ¹	22/06/2005 ¹
Kontrol	16.05	9.98
4k1	14.78	28.75
HRO-C48	14.43	22.38
Karnabahar	12.60	19.43

¹ Dört tekerrürün ortalamasıdır ve karakterler arasında fark yoktur (Anova, P>0.05) (Ek 10)

2004-2005 tarla ön denemelerinde 5/4/2005 tarihinde çilek bitkilerinin olgunlaşmasıyla beraber hasata başlanmış ve hasat 22/6/2005 tarihine kadar sürmüştür (Şekil 4.24). Hasat dönemi boyunca her hafta hasat edilen çilek bitkilerine ait verim değerleri Çizelge 4.12’te verilmiştir.



Şekil 4.24. 2004-2005 çilek üretim sezonu hasat döneminden görüntüler (sol: ön bitki olarak karnabahar yetiştirilmiş parselde bitkilerin genel görünümü, sağ: hasat işlemi)

Çizelge 4.12. 2004-2005 çilek üretim sezonunda 5/4/2005 - 22/6/2005 tarihleri arasında karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri (kg/da)

Uygulama	05/04	12/04	19/04	26/04	03/05	10/05	17/05	24/05	31/05	08/06	14/06	22/06	Top.
HRO-C48	2	101	318	983	1129	665	382	414	244	158	127	120	4643
4K1	6	200	483	1049	1148	535	402	434	241	163	116	116	4893
Karnabahar	5	133	677	1181	1042	601	460	413	223	186	131	145	5197
Kontrol	0	8	181	891	1585	908	453	321	199	207	159	208	5120

Çizelge 4.12 incelendiğinde ön bitki olarak karnabar ekilen ve hasat artıkları toprağa karıştırılan parsellerde en yüksek verim (5197 kg/da) alınmıştır, bunu sırasıyla uygulama yapılmamış kontrol (5120 kg/da) ve 4k1 uygulaması (4893 kg/da) izlemiştir. HRO-C48 uygulanan parsellerde ise en düşük pazarlanabilir çilek verimi (4643 kg/da) elde edilmiştir.

2005-2006 çilek üretim sezonunda yürütülen tarla denemelerinde ise 19/11/2005 ve hasat bitimi ile beraber 28/6/2005 tarihinde çöken bitkilerin sayım sonuçlarıyla ilgili değerlendirmeler Çizelge 4.13 ve Şekil 4.25’te verilmiştir. Çizelge 4.13’te görüldüğü

gibi 2005-2006 çilek üretim sezonunda yapılan uygulamaların çöken çilek bitkilerine etkisi olmamıştır.

Çizelge 4.13. 2005-2006 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları

Uygulama	Çöken bitki oranları (%)	
	19/11/2005 ¹	28/06/2006 ¹
3tg8	5.75	4.08
6b6	3.00	9.23
6k8	6.60	7.95
ka	4.38	12.45
Kontrol	6.25	5.13
HRO-C48	5.88	6.88

¹ Dört tekerrürün ortalamasıdır ve karakterler arasında fark yoktur (Anova, $P>0.05$) (Ek 11)



Şekil 4.25. 2005-2006 çilek üretim sezonunda çöken bitkilere ait bir görünüm

19/4/2006 tarihinde çilek bitkilerinin olgunlaşmasıyla beraber hasata başlanmış ve hasat 12/6/2006 tarihine kadar sürmüştür (Şekil 4.26). Hasat dönemi boyunca her hafta hasat edilen çilek bitkilerine ait verim değerleri Çizelge 4.14’te verilmiştir.



Şekil 4.26. 2005-2006 çilek üretim sezonu hasat döneminde deneme alanının genel görünümü, hasat ve tartım işlemi

Çizelge 4.14. 2005-2006 çilek üretim sezonunda 19/4/2006 - 12/6/2006 tarihleri arasında karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri (kg/da)

Uygulama	19/04	26/04	03/05	10/05	17/05	24/05	30/05	06/06	12/06	Top. ¹
3tg8	178	944	855	477	316	120	83	190	164	3327
6b6	203	1011	832	472	339	130	90	175	171	3423
6k8	174	805	816	505	333	124	66	147	156	3126
ka	165	955	857	473	327	121	73	172	154	3297
Kontrol	252	958	871	450	299	83	68	154	169	3304
HRO-C48	188	928	779	460	302	94	82	185	155	3173

¹ Dört tekrerrün ortalamasıdır ve karakterler arasında fark yoktur (Anova, P>0.05) (Ek 12)

Hasat bitiminde elde edilen toplam verim değerleri sırasıyla 6b6'da 3423 kg/da, 3tg8'de 3327 kg/da, kontrolde 3304 kg/da, ka'da 3297 kg/da, HRO-C48'de 3173 kg/da ve 6k8'de 3126 kg/da olarak hesaplanmıştır. Hasat sonunda toplam verim açısından karakterler arasında istatistiki açıdan bir farka rastlanmamıştır.

Aynı şekilde 2006-2007 yılları arasında bu sefer toprak solarizasyonu uygulanmış olan tarlada yürütülen denemelerde önceki senelerde kurulan denemelerde olduğu gibi saptanan çöken bitkilerin oranları ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.15'te özetlenmiştir. Bu denemelerde fide dikiminden yaklaşık 3 ay sonra yapılan sayımlarda (9/12/2006) çöken bitkiler arasında istatistiki açıdan bir fark bulunmamıştır. Ancak hasat sonuna doğru yapılan ikinci sayım (29/5/2007) değerlendirildiğinde ka ve 3ss9 izolatlarının uygulandığı parsellerde istatistiki olarak önemli oranda daha az bitkinin çöktüğü gözlenmiştir. İstatistiki olarak aynı grupta

yer alan kontrol, 6110 ve HRO-C48’de en yüksek çökme oranları saptanmıştır (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. 2006-2007 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları

Uygulama	Çöken Bitki Oranları (%)	
	09/12/2006	29/05/2007 ¹
Kontrol	4.58	22.25 A
6110	1.95	16.33 AB
HRO-C48	0.90	15.25 AB
3ss9	0.90	12.10 B
ka	0.63	10.40 B

¹ Dört tekerrürün ortalamasıdır, aynı harfle gösterilen karakterler arasında fark yoktur (LSD, P<0.05) (Ek 13)

Bu denemede elde edilen verim değerleri sırasıyla ka’da 4282 kg/da, 3ss9’da 4170 kg/da, HRO-C48’de 4103 kg/da, 6110’da 4029 kg/da ve kontrol’de 3928 kg/da, olarak bulunmuştur. Karakterler arasında verim değerleri açısından istatistiki açıdan farka rastlanmamıştır (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. 2006-2007 çilek üretim sezonunda 9/4/2007 - 12/6/2007 tarihleri arasında karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri (kg/da)

Uygulama	09/04	17/04	24/04	01/05	08/05	15/05	22/05	29/05	05/06	12/06	Top. ¹
ka	178	1035	882	937	493	223	130	174	161	69	4282
3ss9	153	952	862	959	495	214	140	187	157	51	4170
HRO-C48	160	1006	865	931	483	185	125	159	138	51	4103
6110	149	999	839	880	451	188	123	172	168	60	4029
Kontrol	183	1024	841	890	418	150	107	145	125	45	3928

¹ Dört tekerrürün ortalamasıdır ve karakterler arasında fark yoktur (Anova, P>0.05) (Ek 14)

Yürütülen tarla denemelerinde kök bölgesindeki ortalama sıcaklıklar 2005-2006 üretim sezonunda 14.89°C (min 3.71°C, mak 28.88°C), 2006-2007 üretim sezonunda ise 20.20°C (min 6.06°C, mak 30.06°C) olarak saptanmıştır (Ek 15).

5. TARTIŞMA

Bu çalışma Aydın ili çilek üretim alanlarında verim kayıplarına yol açan en önemli toprak kaynaklı fungal etmenlerden *R. solani* ile *P. cactorum*'un neden olduğu hastalıkları antagonist bakteriler ile kontrol edebilmek ve bu bakterilerin etki mekanizmalarını saptamak amacıyla ele alınmıştır.

Bitkilerin ürettiği kök salgılarının yoğunlaştığı rizosfer olarak adlandırılan kökler ve yakın çevresi bakteri popülasyonunun en yoğun olduğu, biyolojik savaş ajanları için önemli bir rezervuar niteliğindedir (Sorensen, 1997). Krechel *et al.* (2002) patatesten izole ettikleri bakterilerin *R. solani*'ye antagonist olanların %8 oranla en çok rizosferde olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte kök bölgesindeki rizobakter türlerinin popülasyonunun bitki türleri ya da çeşitleri açısından farklılık gösterdiği de bilinmektedir (Smalla *et al.*, 2001). Berg *et al.* (2002) çilek rizosferinde bulunan antagonistik bakterilerin bu bitki için tipik olduğunu, kolza ve patates bitkilerindeki rizobakter popülasyonundan önemli derecede farklılık gösterdiğini belirtmiştir. Berg *et al.* (2006) *V. dahlia*'e karşı antagonistik etkiye sahip 101 *Pseudomonas* izolatının 54'ünü çilek, 34'ünü kolza ve 13'ünü topraktan izole ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmalarımız sırasında çilek bitkileri ile Cruciferae familyası sebzeleri karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana, turp bitkilerinin, ayrıca bakla bitkileri ile yabani turp, darıcan ve çoban çantası yabancı otlarının kök bölgesinden toplam 362 adet bakteri izole edilmiştir. *In-vitro*'da yapılan ikili kültür ön değerlendirme testleri ile bunlar içinden 101 adet antagonist etki gösteren bakteri izolatu seçilmiştir. Bu isolatların *in-vitro* engelleme oranları cluster analizi ile incelendiğinde (Çizelge 4.2) en etkili isolatların dört grup içinde toplandığı görülmüştür. Bu gruplar içindeki isolatlar dikkate alınarak antagonistlerin izole edildikleri bitkilere göre oranları değerlendirildiğinde ise bakladan izole edilen bakterilerin %25 (3/12)'i, brokoliden izole edilenlerin %9 (3/32)'u, çilekten izole edilenlerin %8 (14/185)'i, karnabahardan izole edilenlerin %3 (1/30)'ü, kırmızı lahanadan izole edilenlerin %8 (1/13)'i, turptan izole edilenlerin %7 (1/15)'si ve yabani turptan izole edilenlerin %8 (1/13)'i etkili antagonist olarak bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda çilek bitkilerinin kökünden izole edilen bakterilerin büyük bir kısmının (%9.5) antifungal aktivite gösterdiği

bildirilmiştir (Berg, 2007). Çalışmamızda 3mb11, 3mb7, 4c15, 4k1, 6b2, 6b6, mbe, msssc, ssb, 3msss1, 3msss5, 3tg13, 3tg8, 4b7, 4yt11, 6ba2, 6t14, E11, ka, ke, 3msss12, 4kl11, 7ec11, 6ba3 ve 6ba6 izolatlarının her iki patojene de *in-vitro*'da etki gösterdiği saptanmıştır. Benzer şekilde antagonist bakterilerin farklı fungal patojenlere etkileri olduğu bilinmektedir (Berg *et al.*, 2000a; Berg *et al.*, 2001; Krechel *et al.*, 2002).

Çalışmamızda seçilen 24 antagonist bakteri izolatu ile etki mekanizmaları ve *in-vivo* denemeler yürütülmüştür. Grosch *et al.* (2006) değişik çevrelerden izole ettikleri 434 adet bakteri izolatının *Rhizoctonia solani*'ye antifungal etkisini patates ve marul bitkilerinde araştırmaları sırasında, çalışmamızdakine benzer olarak yaptıkları ikili kültür testleri ve bazı enzim aktiviteleri testlerini göz önünde bulundurarak en etkili 18 izolatu bunların içinden seçtiklerini bildirmişlerdir. Berg (1996) yaptığı çalışmada kolza bitkilerinin kökünden izole ettiği 2045 bakteri izolatını *in-vitro*'da *V. dahliae*'ya karşı denemiş, 333 tanesinin etkili olduğunu bildirmiş ve bunlar içinden seçtiği 30 tanesi ile çalışmalarına devam etmiştir. Diğer bir çalışmada Berg *et al.* (2000a) çilek rizosferinden izole ettikleri 600 bakteri izolatının *in-vitro*'da *V. dahliae*'ya karşı antifungal etkilerini araştırmışlar ve bunlar içinden güçlü antifungal aktivite gösteren ve farklı morfolojik karakterdeki 20 izolatu seçerek çalışmalarını bu izolatlar üzerinde yürütmüşlerdir.

Çalışmamızda seçilen 24 izolatın enzim aktivitelerine yönelik olarak kitinaz, proteaz, pektinaz, selüloz, DNaz, fosfotaz enzim aktiviteleri ile inorganik fosfatı çözebilme yetenekleri de belirlenmiştir.

Bilindiği gibi bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen kitinaz; kitini endolitik ya da ekzolitik bir mekanizmayla parçalamaktadır (Fuchs *et al.*, 1986). Kitinaz aktivitesine sahip bakteriler bitki patojeni funguslarla biyolojik mücadelede başarı ile kullanılmaktadırlar (Berg *et al.*, 1999). Örneğin *Serratia* türleri sıklıkla bitkilerden izole edilebilen, antifungal etki gösteren ve en önemlisi etkin kitinaz aktivitesine sahip olan, üzerinde çok çalışılmış bakteriyel biyolojik ajanlarından (Reid ve Ogrydziak, 1981; Fuchs *et al.*, 1986; Berg *et al.*, 1999; Berg *et al.*, 2000b; Kurze *et al.*, 2001; Ramirez *et al.*, 2004). Alstrom (2001) kolza bitkisinin köklerinden izole

edilen bakterilerin *Verticillium dahliae*'ye olan etkilerini inceledikleri çalışmada; izole ettiği 16 bakteriden 8 tanesinin kitinaz ürettiğini bildirmiştir. Bu çalışma sonuçları incelendiğinde kitinaz aktivitesi gösteren izolatların hepsinin Enterobacteriaceae grubunda yer aldığı görülmektedir. Çalışmamızda kitinaz aktivitesine yönelik yapılan testlerde pozitif kontrol olarak kullandığımız *Serratia pulymutica* HRO-C48 izolatı hariç hiçbir bakteri izolatının kitinaz üretmediği saptanmıştır. Çalışmamızda testlenen 24 bakterinin tümünün yapılan yağ asitleri analizi sonucunda *Pseudomonas* genusunda yer aldığı bulunmuştur. Benzer şekilde pek çok araştırmada *Pseudomonas* genusunda yer alan ve kitinaz üretebilen hiç bir izolata rastlanmadığı bilinmektedir (Berg, 1996; Berg *et al.*, 2000a; 2001; Krechel *et al.* 2002). Ancak son yıllarda yapılan bir araştırmada Costa *et al.* (2007) çilek ve kolza bitkilerinin köklerinden izole ettiği 101 *Pseudomonas* izolatından 5 tanesinin kitinaz ürettiğini bildirmişlerdir.

Enzim aktivitelerinin belirlenmesine yönelik testlerde 13 izolat proteaz aktivitesi göstermiştir (Çizelge 4.4). Afsharmanesh *et al.* (2005)'nin yaptıkları bir çalışmada soya fasülyesi, fasülye, biber, hıyar ile şeker pancarından izole edilen ve toprak kaynaklı fungal hastalıklara karşı antagonist etkileri bilinen 48 floresans *Pseudomonas*'tan 38 tanesinin proteaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Buna benzer olarak Krechel *et al.* (2002) patates bitkilerinden izole ettikleri ve fungal antagonistik etki gösteren 33 bakteri izolatından 25 tanesinin proteaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Berg *et al.* (2001) *Verticillium dahliae*'nin konukçusu olduğu bitkilerdeki potansiyel biyokontrol ajanı olabilecek kök bakterilerini değerlendirdikleri çalışmalarında izole ettikleri 60 bakteriden 54 tanesinin proteaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmalarımızda seçilen 24 antagonist bakterinin hiç birisi pektinaz ve selüloz aktivitesi göstermemiştir. Aynı şekilde Krechel *et al.* (2002)'nin yaptıkları çalışmada 33 izolattan hiç birinin pektinaz üretmediği ve 12 tanesinin selüloz ürettiği saptanmıştır. Ancak literatürde belirtilen 33 bakteriden 16 tanesinin *Pseudomonas* genusunda yer aldığı ve bunlar içinden sadece bir tanesinin selüloz üretebildiği dikkati çekmektedir.

Bazı bakteriler inorganik fosforu çözebilme kabiliyetindedir. Bu bakteriler toprakta bol miktarda bulunmakta ve kök bölgesinden kolaylıkla izole edilebilmektedirler (De Freitas *et al.*, 1997). Fosfor bitkiler için oldukça önemli besin maddelerinden bir tanesidir. Fosfor da dahil olmak üzere toprakta bulunan ve bitki için gerekli olan birçok besin maddesi çözünemeyen formdadır. Gübre olarak toprağa uygulanan inorganik fosfor toprak özelliklerine bağlı olarak immobil hale gelebilmekte ve bitkiler için kullanışsız duruma dönüşmektedir. Özellikle alkali topraklarda kalsiyum, asidik topraklarda ise demir ve alüminyum tarafından bağlanmaktadır. Tohum ya da toprağa uygulanan fosfat çözebilen bakterilerin topraktaki bağlanmış fosforu çözebildiği ve verim artışına neden olduğu bilinmektedir (Nautiyal, 1999). De Freitas *et al.* (1997) çeşitli bitkilerden izole ettiği 111 adet bakteriden 9 tanesinin inorganik fosforu çözmesinin yanı sıra bitki gelişimi teşvik eden rizobakterler olduğunu bildirmişlerdir. En etkili fosfat çözen bakteriler ise yapılan yağ asitleri analizi sonucunda *Bacillus brevis*, *B. megaterium*, *B. polymyxa*, *B. sphaericus*, *B. thuringiensis* ve *Xanthomonas maltophilia* olarak saptanmıştır. Rodriguez ve Fraga (1999) fosfat çözen bakterilerin bitkilerin fosfor alımını arttırdığını ve *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Rhizobium* genusunda bulunan bakterilerin en güçlü fosfat çözebilen bakteriler olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda hepsi *Pseudomonas* genusunda bulunan izolatların 20 tanesi değişen oranlarda inorganik fosfatı çözme yeteneğinde bulunurken, 3 izolatın ise organik fosfatı çözebilen fosfataz aktivitesine sahip olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda bakterilere ait enzim aktivetelerinin yanı sıra oluşturdıkları ikincil metabolitler de incelenmiş bu amaçla indol asetik asit (IAA), hidrojen siyanid (HCN), yüzey aktif madde (biosurfactant), 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) üretimi ve siderefor oluşturma yetenekleri saptanmıştır.

Bilindiği gibi bitkilerde filosferde ve rizosferde bulunan pek çok bakteri IAA sentezleyebilmektedir. Bunlardan en çok bilineni bir bitki patojeni olan ve ur oluşturan *Pseudomonas savastanoi*'dir. Bitki patojeni bakterilerde IAA sentezi indoleacetamide yoluyla olurken biyolojik savaşta kullanılan yararlı bakterilerde bunun indolepyruvic asit yoluyla olduğu bilinmektedir (Patten ve Glick, 1996; 2002). Çalışmalarımızda testlenen 24 izolattan 6k8 ve 6k4 izolatlarının *Pseudomonas putida*

biotype A olduğu ve sırasıyla 1.9 µg/ml ve 62.4µg/ml oranında IAA ürettiği saptanmıştır. Hafeez *et al.* (2006), Brezilya, Endonezya, Moğolistan, Pakistan gibi bir çok değişik coğrafi bölgeden 17 kök bakterisi izole etmişler, bu bakteriler içinde en yüksek değerde IAA üreten (42.1µg/ml) 8N-4 izolatının buğdaylarda biyokütle ve kök uzunluğunda artışa neden olduğunu saptamışlardır. Vikram *et al.* (2007), ağır killi topraklarda yetiştirilen ürünlerden izole ettikleri 30 bakterinin bitki gelişimini arttırıcı etkilerini incelemişler ve bu izolatların 1.1-28.8 µg/ml arasında değişen miktarlarda IAA ürettiğini saptamışlardır. Xie Hong *et al.* (1996) bitki gelişimini arttıran bir bakteri olan *Pseudomonas putida* GR12-2 izolatının 2 µg/ml, bu izolatın yedi mutantının ise 4-8µg/ml arasında IAA ürettiğini bildirmişlerdir.

Hidrojen siyanid çok uçucu ve 300 ppm oranında havada bulunması durumunda yetişkin bir insanı çok kısa sürede öldürebilecek düzeyde oldukça zehirli kimyasal bir bileşiktir¹. Mikroorganizmalar tarafından doğrudan glycine ve cyanogenic glycosidlerden üretilmektedir (Knowles, 1976). Nielsen *et al.* (1998) birçok bitkinin kök bölgesinde bulunan floresan *Pseudomonas*'ların ürettikleri ikincil bir metabolit olan HCN'nin fungusları baskı altında tutan bir ürün olduğuna değinmişlerdir. Keel *et al.* (1989) *Pseudomonas fluorescens* CHA0 izolatının tütün siyah kök çürüklüğü (*Thielaviopsis basicola*) hastalığını baskı altına alma yeteneğinin HCN üretiminden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Çalışmalarımız sırasında testlenen 24 izolattan 19'unun HCN oluşturduğu saptanmıştır. Berg *et al.* (2000a) yaptıkları çalışmada çilek köklerinden izole ettikleri ve *R. solani* ve *P. cactorum*'a karşı antifungal etki gösteren *Pseudomonas* cinsi bakterilerin HCN ürettiğini bildirmişlerdir. HCN üreten bakteriler patojenleri baskı altına almalarının yanısıra kültür bitkilerinde verim kaybına da yol açabilmektedirler. Örneğin Bakker ve Schippers (1987) patateslerde verim düşüklüğünün mikrobiyal bir metabolit olan hidrojen siyanidten kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında patates rizosferinden izole ettikleri *Pseudomonas*'ların %50'sinin *in-vitro*'da siyanid ürettiğini, 5µM HCN'nin *in-vitro*'da patates köklerinde sitokrom oksidaz ile ilgili olarak %40'a varan oranda solunumu engellediğini, *in-vitro*'da siyanid üretiminin

1. http://en.wikipedia.org/wiki/Hydrogen_cyanide [erişim tarihi Ekim, 2007]

ortamdaki Fe^{+3} konsantrasyonuna bağılı olarak değiştiiğini ve topraktaki siderofor üreten bakterilerin siyanid üreten bakterilerle Fe^{3+} rekabetine girdiğini bildirmişlerdir.

Biyolojik savaşta kullanılan ve çeşitli hastalıklara karşı etkili bulunan floresan *Pseudomonas*'lar phenazin türevleri, pyoluteorin, pyrrolnitrin, oomycin A, viscosinamide ve 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) gibi birçok antibiyotik üretmektedirler (De La Fuente *et al.*, 2006). *Pseudomonas*'ların ürettikleri 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) antibiyotiği birçok bitki patojeni fungusu durdurabilmekte, böylece kök ve fide hastalıkları kontrol altına alınabilmektedir (McSpadden Gardener *et al.*, 2001; Landa *et al.* 2002; Landa *et al.*, 2003). Floresan *Pseudomonas*'lar tarafından üretilen phenazine-1 carboxylic asit ve 2,4 DAPG antibiyotikleri toprak kaynaklı fungal patojenlere karşı biyolojik savaşta en belirleyici faktörler olduğu bildirilmiştir (Raaijmakers *et al.*, 1997). 2,4-DAPG üreten *Pseudomonas*'lar bir çok bitkinin kök bölgesinden izole edilebilmektedir. Bu bakterilerin bitki gelişimine olan olumlu etkileri ve kök hastalıklarını engelleyebilme yetenekleri günümüzde son yıllarda önem kazanan araştırma konularından biri olmuştur (McSpadden Gardener *et al.*, 2001). 2,4-DAPG'nin bitki patojeni funguslara karşı olan etki mekanizması henüz tam olarak ortaya konamamakla birlikte *Pythium* türlerinin zoospor membranlarını erittiği bilinmektedir (De Souza *et al.*, 2003). Costa *et al.* (2007) çilek ve kolza bitkilerinin köklerinden izole ettiği 101 *Pseudomonas* izolatından 75 tanesinin 2,4-DAPG üretiminden sorumlu olan *PhlD* genine sahip olduğunu saptamışlardır. Çalışmalarımızda 16 floresan *Pseudomonas* izolatının *PhlD* genine sahip olduğu yapılan PCR testleri ile tespit edilmiştir. Son yıllarda yetiştiricilik tekniklerinin 2-4,DAPG üreten floresan *Pseudomonas*'ların doğal popülasyonlarının rizosferdeki kolonizasyonu ve bitki sağlığı üzerine etkileri ile ilgili yapılan bir araştırmada; yetiştiricilik tekniklerinin 2-4,DAPG üreten *Pseudomonas*'ların rizosfer popülasyonlarını değiştirdiği ancak rotasyon, toprak işleme ve tohum ilaçlaması gibi kök hastalıklarının şiddetini azaltan uygulamaların DAPG üreten floresan *Pseudomonas*'ların kök kolonizasyonu artışı ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (Rotenberg *et al.*, 2006).

Biyolojik savaşta etkili kriterlerden bir tanesi de antagonist bakterilerin siderofor oluşturmalarıdır. Kök bölgesindeki diğer fungus ve bakteri popülasyonlarında önemli ölçüde azalmalara neden olan faktörlerden biri olan siderofor üretimi, sınırlı demir iyonları için mikroorganizmaların rekabete girmesinde önemli rol oynamaktadır. Örneğin *Pseudomonas* cinsi topraktaki demir için sideroforları sayesinde bitki patojenleri ile rekabete girerek hastalıkları baskı altına alabilen en önemli bakteri türlerini barındırmaktadır (De Weger *et al.*, 1986). Bakterilerin ürettikleri sideroforlar sayesinde toprakta bulunan demir ayıklanarak kendileri için gerekli olan alınabilir besin elementi haline dönüştürülür (Neilands, 1995; Milagres *et al.*, 1999). Daha sonra bakterilerin hücre duvarlarında bulunan reseptörler sayesinde tanınıp yakalanarak tekrar hücre içine alınırlar (Lamont *et al.*, 2002). Siderofor oluşumu açısından izolatlarımız değerlendirildiğinde 18 izolatın siderofor ürettiği tespit edilmiştir. Berg *et al.* (2000a) yaptıkları çalışmada izole ettikleri tüm *Pseudomonas* cinsi bakterilerin siderofor ürettiğini bildirmişlerdir. Buna benzer olarak Krechel *et al.* (2002) da yaptıkları çalışmada izole ettikleri 33 bakteriden 30 *Pseudomonas* izolatının siderofor ürettiğini saptamışlardır. De Weger *et al.* (1986) ise kök bölgesinde kolonize olan ve bitki gelişimini arttırıcı etkisi bulunan 30 floresan *Pseudomonas*'ın siderofor üretimini incelemişler ve tüm izolatların siderofor ürettiğini saptamışlardır. Bu üretimin ortamdaki sınırlı miktardaki demir (Fe^{3+}) ile bir ilişkisinin olduğunu ortaya koyan ve antagonistik etkinin büyük oranda bundan kaynaklandığına değinen yazarlar elde ettikleri iki adet siderofor üretmeyen mutantın da antagonistik aktivitesinin büyük oranda düştüğünü belirtmişlerdir.

Çalışmalarımızda değerlendirdiğimiz 24 izolatın *Pseudomonas* genusunda yer aldığı düşünüldüğünde, enzim aktivitesi testleri ile sekonder metabolit üretim testleri sonuçlarının diğer araştırmacıların çalışmaları ile bir paralellik gösterdiği görülmektedir.

Çilek bitkisinden izole edilen bakteri türlerinin düşük düzeyde bir çeşitlilik gösterdiği ve çilekte kök bölgesinden izole edilen antagonist bakterilerin yaklaşık %90'ı *Pseudomonas* genusunda yer aldığı ve izole edilen türlerin ise *P. putida* A/B, *P. fluorescens*, *P. syringae* ve *P. corrugata* olduğu bilinmektedir (Berg, 2007). Berg *et al.* (2006) ayrıca çeşitli çevrelerden izole ettikleri 6000 bakteriden 590 tanesini

antagonist etkili bulmuşlar ve bunların %75'ini *Pseudomonas*'ların oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmalarımızda etkili bulunan tüm antagonist bakterilerin yer aldığı *Pseudomonas* genusu sahip oldukları; 1) bir çok eksudat bileşiğini besin olarak kullanabilmeleri, 2) toprakta ve kök sistemlerine kolaylıkla adapte olup buralarda bol miktarda bulunabilmeleri, 3) diğer kök bakterilerine göre daha yüksek oranda gelişme gösterebilmeleri, 4) patojenlere karşı birçok etki mekanizmasına sahip olmaları, 5) laboratuvar koşullarında kolaylıkla geliştirilebilmeleri, 6) tohuma bakteri uygulamaları ile ilerleyen dönemlerde de kök bölgesinde aktivite gösterebilmeleri ve 7) üzerlerinde genetik uygulamaların rahat yapılabilmesi gibi özellikleri sayesinde tarımda biyolojik savaş ajanı olarak kullanılmaya elverişli oldukları bildirilmiştir (Thomas *et al.*, 2003). *Pseudomonas*'ların yukarıda sayılanların yanında bitki gelişimini teşvik edici etkileri de bulunmaktadır. PGPR uygulamaları virüslerin, bakterilerin ve fungusların neden olduğu çok sayıda hastalığa karşı bitkide sistemik uyarılmış dayanıklılık oluşumunu da teşvik edebildiği bildirilmiştir (Barka *et al.*, 2002).

Çalışmamızda izole edilen antagonist bakteriler etki mekanizmalarına yönelik test sonuçları açısından değerlendirildiğinde genellikle belirli bir ikincil metabolit veya enzim aktivitesine sahip izolatların diğerlerine de sahip olduğu dikkati çekmektedir. Bu amaçla Çizelge 4.4 ve 4.5'deki veriler dikkate alınarak yapılan korelasyon analizinde (Ek 16) siderofor ile 2-4,DAPG, yüzey aktif madde ve HCN üretme arasında önemli düzeyde pozitif bir korelasyon ($r=0.87$, $r=0.72$, $r=0.39$), 2-4,DAPG ile yüzey aktif madde ve HCN üretimi arasında pozitif korelasyon ($r=0.64$, $r=0.51$), yüzey aktif madde ile HCN oluşturma, HCN ile proteaz aktivitesi arasında pozitif korelasyon ($r=0.56$, $r=0.52$), buna karşın inorganik fosforu çözebilme ile proteaz aktivitesi arasında negatif yönde önemli bir korelasyon ($r=0.52$) olduğu görülmüştür.

Etki mekanizmaları belirlenen antagonist bakterilerin iklim odası koşullarında *R. solani* ve *P. cactorum*'a olan *in-vitro* etkilerinin saptanmasına yönelik çalışmalarda 3ss9, 6l10, 7ec11 ve mbe izolatlarının *R. solani*'yi %57 oranında kontrol altına aldığı saptanmıştır. 3ss9 ve 6l10 izolatlarının proteaz, inorganik fosfatı çözebilme, HCN,

yüzey aktif madde, 2-4,DAPG ve siderofor üretebilme yeteneğinde olduğu, 7ec11 izolatının proteaz, HCN ve siderofor oluşturduğu, mbe izolatının proteaz, inorganik fosfatı çözebilme, HCN açısından pozitif karakterde olduğu belirlenmiştir. İzolatlar *P. cactorum*'u kontrol altına alma açısından değerlendirildiğinde %50 engelleme oranıyla 3ss9 ve 6l10 izolatlarının en etkili olduğu gözlenmiştir. Söz konusu olan bu iki izolat her iki hastalığa karşı en yüksek etkiyi göstermiştir. Bu iki izolata ait etki mekanizmasına yönelik test sonuçları değerlendirildiğinde aynı etki mekanizmalarına sahip olduğu dikkati çekmektedir. Seçilen 24 bakteri izolatının ikili kültür testlerinde *R. solani* ve *P. cactorum*'u engelleme açısından aralarında pozitif yönde bir korelasyon ($r=0.55$, $p<0.05$; Çizelge 4.2) saptanırken, *in-vivo* testlerde bunun %90 ihtimalle önemli olduğu ($r=0.38$, $p<0.1$) görülmüştür. Buna karşın söz konusu izolatların *R. solani* ve *P. cactorum* için ikili kültür testlerinde engelleme oranları ile *in-vivo*'da etkinlikleri arasında önemli bir korelasyon saptanmamıştır. (*R. solani* için $r=0.15$, $p=0.48$; *P. cactorum* için $r=0.32$, $p=0.11$). Fravel (1988) *in-vitro* antibiyosis ile biyokontrol arasında uyumsuzluğa dair bir çok bulgunun mevcut olduğunu bildirmiştir. Örneğin Utkhede ve Gaunce (1983) elmalarda *P. cactorum*'u bakterilerle kontrol altına almak için yaptıkları çalışmada *in-vitro* ikili kültür testleri ile serada elma fidanlarının aynı bakteriler ile korunması arasında bir ilişkinin bulunmadığını bildirirken, Papavizas ve Lewis (1983) aynı şekilde *in-vitro* antibiyosis verilerini hastalık baskılama ile karşılaştırdığında aralarında herhangi bir korelasyonun olmadığını bildirmiştir. *In-vivo* koşullarda bitki hastalıkları ile biyolojik savaşında etkin bir sonuç almak etkili bir antagonistin yanı sıra pH, sıcaklık, nem, toprak tekstürü, inorganik ve organik madde içeriği gibi bir çok abiyotik faktöre de bağlıdır (Landa *et al.*, 2004). Özellikle antibiyosise dayalı olan ikili kültür testlerinde kullanılan besiyerinin de önemli olduğu bilinmektedir. Örneğin Nielsen *et al.* (1998) *Pseudomonas*'ların 2,4-DAPG üretimini sadece glukozca zengin ortamlarda gözlediklerini, Shanahan *et al.* (1992) ise farklı tip karbon kaynaklarını denedikleri çalışmada DAPG üretiminin sukroz, fruktoz ve mannitol'un varlığında glukoz ve sorbozdan daha iyi olduğunu belirtmişlerdir. Fravel (1988) antibiyotik üretiminin özellikle besin gibi çevre faktörlerinden büyük ölçüde

etkilendiğini ve antibiyotik üretiminin enzim ile ilişkili olduğu durumlarda bunun enzim substratının yokluğunda *in-vitro* testler ile saptanamayacağını belirtmiştir.

In-vivo denemelerimizde *in-vitro*'da etkili bulunmuş olan bazı bakteri izolatlarının beklenenin aksine hastalık şiddetini arttırdığı gözlenmiştir. Çizelge 4.9'da antagonist bakterilerin *P. cactorum*'a *in-vivo* etkileri incelendiğinde 3mssss12, 6b6, 6l14, 3tg8, 6k8, 6t14, ke, 4k1, mbe, 6ba2, 3tg13, 3mb12, 7ec11, 3k9, 6ba3, mbj ve 4b7 izolat uygulamalarının %56 ile %89 arasında değişen oranlarda pozitif kontrolden (hastalık oranı %44) daha yüksek hastalık şiddeti oluşturduğu görülmektedir. Benzer şekilde Vestberg *et al.* (2004)'nın *Glomus mosseae* (BEG29), *Bacillus subtilis* (M3), *Trichoderma harzianum* (DB11), *Pseudomonas fluorescens* (C7r12) ve *Gliocladium catenulatum* (Gliomix®) uygulamalarının çilekte bitki gelişimi, *P. cactorum* ve *P. fragaria* hastalıklarına karşı etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında uygulamaların hastalığı kontrol edemediğini, hatta bazı mikroorganizmaların hastalık şiddetini arttırdığını bildirmişlerdir. Buna benzer olarak Berg *et al.* (2001) sera koşullarında çileklerde yaptıkları denemelerde *Verticillium solgunluğu* *P. putida* (E2)'nin %11, *P. chloraphis* (P15)'in ise %6 oranında azalttığını ancak *S. plymuthica* (R12) uygulamasının hastalık oranını istatistiki olarak arttırdığını bildirmiştir.

Bakterilerin çilek bitkisinin gelişimine olan etkilerinin araştırıldığı *in-vivo* denemelerimizde 3k9, 6ba3, 3tg8, 3ss9 ve 6k8 izolatlarının bitki gelişimini %76'nın üzerinde arttırdığı saptanmıştır (Çizelge 4.10). Bu izolatlardan 3k9, 6ba3, 3tg8, 3ss9 izolatlarının proteaz (3tg8 hariç), inorganik fosfatı çözme, HCN, yüzey aktif madde, 2-4,DAPG, siderofor üretebilme yeteneğinde olduğu, 6k8 izolatının ise IAA (1.9µg/ml) ürettiği ve inorganik fosfatı çözebildiği belirlenmiştir.

Kurze *et al.* (2001) *Serratia plymuthica* (HRO-C48) ile yaptıkları denemelerde bu izolatın kontrollü koşullarda tohumdan yetiştirdikleri çilek bitkiciklerinin gelişimini arttırırken, sera denemelerinde *P. cactorum*'u engellediğini bulmuşlardır. Çalışmamızda referans olarak kullandığımız bu izolatın etkisinin hastalıksız kontrole yakın olduğu ve *P. cactorum*'u engelleme yönünden 26 izolat içinden skala değeri ortalamasına göre en etkili üçüncü izolat olduğu dikkati çekmektedir (Çizelge 4.9).

Buna benzer olarak bitki gelişimine teşvik yönünden HRO-C48 izolatu en etkili üçüncü izolat olarak saptanmıştır (Çizelge 4.10).

2004-2007 yılları arasında biri ön deneme olmak üzere 3 sene üst üste yapılan tarla denemeleri değerlendirildiğinde; 2006-2007 hasat sonuna doğru yapılan sayım sonuçları dışında (Çizelge 4.15) uygulamalar arasında ölen bitkiler açısından istatistiki olarak önemli bir farklılığa rastlanmamıştır. Nitekim pazarlanabilir çilek verimi açısından tarla denemelerimiz değerlendirildiğinde sadece 2006-2007 yılında solarizasyon uygulanmış bir alanda yürüttüğümüz denemelerde istatistiki anlamda önemli olmamakla birlikte tüm uygulamaların kontrole göre daha yüksek verim değerlerine sahip olduğu dikkati çekmektedir (Çizelge 4.16). Bunun bir nedeni de bu yıl itibariyle değiştirilen antagonist bakteri uygulama şeklinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çilek bitkilerinde kök hastalıklarına karşı pek çok üretici fideleri fungusit solüsyonuna daldırarak dikim yapmaktadır (Berg, 2007). Bu yaklaşım dikim öncesi yaprak ve kökleri traşlanarak dikilen frigo fideler açısından düşünüldüğünde yeni köklerin oluşmasıyla birlikte biyokontrol ajanı için ideal bir uygulamadır. Ancak bu uygulamada biyokontrol ajanının kök faaliyetlerinin başlamasına değin kolonizasyonu ve topraktaki diğer mikroorganizmalar ile rekabeti için besin maddelerine de gereksinimi vardır. Çilek fideleri ile yürütmüş olduğumuz *in-vivo* denemelerdeki gözlemlerimiz tamamen traşlanmış çilek fidelerinin dikimden sonra besleyici köklerini oluşturması için en az 3 haftalık bir süreye ihtiyaç duyduğunu göstermiştir. Bu nedenle çileklerde biyokontrol çalışmalarında antagonist bakterilerin besiyeri içeren bir süspansiyon içinde fide dikim yerlerine uygulanması ve uygulama sıklığının artırılmasının daha uygun olacağı kanısını uyandırmıştır. Gamliel ve Katan (1993) domates bitkilerinde floresan *Pseudomonas*'ların solarizasyon uygulanmamış topraklarda solarizasyon yapılmış olanlara göre bitki gelişimini arttırdığını bildirmiştir. Aynı araştırmacıların konuyla ilgili diğer araştırmalarında solarize edilmiş topraklarda yetiştirilen bitkilerin kök bölgesindeki ekzudatların solarize edilmeyen toprakta yetiştirilenlere göre farklılık göstererek düşük miktarda şeker, yüksek miktarda amino asit ve amino bileşikleri içerdiğine değinmiştir. Araştırmacılar solarize edilmiş topraklardaki verim artışının söz konusu şekerlerin bitkinin üst kısımlarına taşınması nedeniyle olduğunu ve solarize edilmiş topraklarda

kök ekzudatlarındaki düşük şeker içeriğine rağmen solarize edilmemiş topraklara göre rekabetin az olması nedeniyle floresan *Pseudomonas*'ların süratle kolonize olarak hastalıkları baskı altına aldıklarını ifade etmişlerdir (Gamliel ve Katan, 1992a; 1992b).

Her üç denemede de bu çalışma kapsamında izole ettiğimiz bakteriyel antagonistlerin dışında başka araştırmacılar tarafından etkinliği saptanan ticari bir preparat olan *Serratia plymuthica* HRO-C48 izolatu da kullanılmıştır. Bu bakteri uygulaması beklenildiği gibi tarla koşullarında pazarlanabilir çilek veriminde bir artışa neden olmamıştır. Berg *et al.* (1999) çileklerde *Verticillium* ile bulaşık bir tarlada çilek fidelerini bu izolatu süspansiyonuna daldırılarak yürüttükleri denemesinde HRO-C48 izolatu hastalığı ortalama %24.2 kontrol ettiği ve bunun bir sonucu olarak verimi kontrole göre ortalama %296 arttırdığını ifade etmişlerdir. Aynı araştırmacılar bu uygulamanın *Phytophthora* kök çürüklüğünü kontrole göre %45-60 arasında engellediğini bildirmiştir. Ancak Kurze *et al.* (2001) çileklerde yürütülen bu tarla denemelerinin abiyotik ve biyotik koşullardan önemli oranda etkilendiğini ifade etmişlerdir.

İklim odasında yürütülen denemelerimizde; gerek hastalıkları engelleme gerekse bitki gelişimine teşvik açısından bakteri izolatları ile olumlu sonuçlar alınırken, tarla denemelerinde paralel sonuçlar alınamamıştır. İklim odasında yürütülen çalışmalar ile tarla denemelerinde aynı çeşit çilek fideleri kullanıldığından bu farkın çeşit reaksiyonundan ziyade çevre faktörlerinden ya da söz konusu hastalıkların dışında başka hastalık(lar)dan kaynaklanmış olabileceği akla gelmektedir. Nitekim bölgemiz çilek alanlarında son yıllarda yapılan çalışmalar çilek bitkilerindeki ölümlerin yeni bir toprak kaynaklı patojen olan *Macrophomina phaseolina*'dan kaynaklandığını göstermiştir (Benlioğlu, 2007, sözlü görüşme).

Porras *et al.* (2007) çilek bitkisinde *P. cactorum*'un neden olduğu Derimsi Meyve Çürüklüğü hastalığını kontrol altına almak için *Trichoderma* uygulamalarını solarizasyon ile tek başına ve kombinasyonlu olarak denemişler ve solarizasyon ile biyolojik savaş kombinasyonunun pazarlanabilir çilek verimini arttırırken *P. cactorum* popülasyonunu azalttığını bildirmişlerdir. Ancak çalışmada toprak

solarizasyonun tek başına *P. cactorum*'un populasyonunu düşürdüğü bildirilirken etmeni tamamıyla elimine edemediğine değinilmiş ve biyolojik savaş ile kombinasyonlu uygulamadan çok daha iyi sonuç alındığı belirtmişlerdir. Yürüten ve arkadaşları (1986) solarizasyon uygulaması ile toprakta *Aktinomiset* ve *Bacillus* türlerinde bir artış gözlediklerini bildirmişlerdir. Berg (2007) tek bir antagonistin uygulanmasından ziyade 2 veya daha fazla antagonist uygulamasının hastalıkları baskılamada daha etkin olabileceğine değinmiş ve birbirlerine sinerjistik etki gösterebilecekleri gibi çevre koşulları gibi nedenlerden dolayı birinin inaktifleşmesi durumunda diğerinin aktif konuma gelebileceğini belirtmiştir. Subbarao *et al.* (2007) çilek bitkisinin brokoli ve brüksel lahanası bitkileri ile rotasyonlu yetiştirilmesi durumunda çileklerde *Verticillium* solgunluğunun önemli düzeyde azaldığını saptamışlardır. Tüm bu konular değerlendirildiğinde biyolojik savaş uygulamalarının tek başlarına bir alternatif olarak düşünülmesinden ziyade entegre mücadelede kullanılacak bir adım olduğu göz önünde bulundurulmalıdır.

Çilek bitkilerinde özellikle besleyici köklerin 10-30 cm derinlikte olduğu bilinmektedir (Berg, 2007). Tarla çalışmalarımızda deneme alanlarındaki 10 cm derinliğindeki toprak sıcaklıkları üretim sezonu boyunca kaydedilmiş ve bu sıcaklıkların günlük ortalamasının 15-20 °C arasında değiştiği, gün içindeki maksimum sıcaklıkların 30 °C'nin üzerine çıkmadığı görülmüştür (Ek 15). Çalışmamızda yapılan laboratuvar testlerinde arazi denemelerinde kullanılan bakterilerin 37 °C'de gelişebildikleri saptanmıştır. Landa *et al.* (2004) nohut üzerinde yaptıkları çalışmada floresan *Pseudomonas*'ların 20 °C'de sürgün kuru ağırlığında, 25 ve 30 °C'de kök kuru ağırlığında önemli düzeyde ağırlık artışına neden olduklarına ve tüm izolatların kök ile gövde dokusu içinde 20, 25 ve 30 °C'lerde kolonize olabildiklerine değinmişlerdir. Schmidt *et al.* (2004) şeker pancarında sorun olan *Pythium*'a karşı etkili bir floresan *Pseudomonas*'ın 3-12, 10-20, 3-25, 15-25 ve 25-35°C'ler arasında topraktaki canlılıklarını inceledikleri çalışmalarında antagonistin 25-35°C'de topraktaki populasyonunda önemli düzeyde bir azalma olduğunu belirtirlerken diğer dört sıcaklıkta ise populasyon yoğunluğunda herhangi bir farka rastlamamışlardır. Sıcaklığın etkisine ek olarak Ownley *et al.* (2003) biyolojik savaşta rol oynayan phenazine-1-carboxylate üreten *Pseudomonas*'ların

aktivitesinin topraktaki amonyum azotu, kum oranı, toprak pH'sı, sodyum ve çinko ile pozitif yönde bir korelasyona sahip olduğuna değinmişlerdir. Bilindiği üzere pH özellikle bakterilerin gelişimi için oldukça önemlidir.

Son iki yıl tarla denemelerimizin yapıldığı alanlardaki toprakların analizleri incelendiğinde toprak pH'sının 8 civarında olduğu görülmüştür. Pal ve McSpadden Gardener (2006) kök bölgesindeki demirin pH'ya bağlı olarak çok sınırlı olduğunu, pH 7.4'te suda çözünemez formda ve konsantrasyonu 10^{-18} M gibi düşük bir düzeyde bulunduğunu bildirirken bu konsantrasyonun mikroorganizma gelişimi için oldukça düşük olduğunu belirtmişlerdir. Ownley *et al.* (1992) yaptıkları çalışmada kullandıkları floresan *Pseudomonas*'ın (NRRL B-15132) buğdaylarda *Gaeumonommyces graminis var tritici*'nin neden olduğu zor olum hastalığına olan etkilerini incelemişler ve *in-vitro* testlerde en iyi engellemeyi pH 6.0-6.6 arasında, orta düzeydeki engellemeyi pH 6.8-8.0 arasında ve en düşük engellemeyi ise pH 4.9-5.8 arasında tespit etmişlerdir. Araştırmacılar pH değerleri 5.17-8.53 arasında değişen on farklı yerde yaptıkları tarla denemelerinde pH'nın azalması ile birlikte zor olum hastalığının floresan *Pseudomonas*'lar tarafından baskılanmasında da bir azalma olduğunu bildirmişlerdir (Ownley *et al.*, 1992).

6. SONUÇ

Çileklerde *Rhizoctonia solani* ve *Phytophthora cactorum*'a karşı bakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırıldığı çalışmalarımızda çeşitli bitkilerin rizosferinden izole edilen 362 bakteri izolatından *in-vitro* ikili kültür, diğer testler ve izole edildikleri orijin bitkiler dikkate alınarak 24 tanesi seçilmiştir. Ancak seçilen bu isolatlar ile yürütülen *in-vitro* ikili kültür testleri ile *in-vivo* etkinlikler arasında bir korelasyon olmadığı görülmüştür. Etkili bir antagonist bulunması için özellikle *in-vivo* testlerin yapılması gerektiği ortaya çıkmaktadır. Ancak çilek gibi yetiştirilmesi zor olan ve çok sayıda izolatin *in-vivo*'da testlenmesi için yer ve zaman gerektiği durumlarda etki mekanizmalarının tespitine yönelik basit *in-vitro* testler yapılabilir. Araştırma sonuçlarımız *in-vivo*'da etkili antagonistlerimizin özellikle inorganik fosfor çözebilme, HCN oluşumu, 2-4,DAPG üretimi ve siderofor oluşumu gibi özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. Bu testler çalışmalarımızda çok sayıda izolatin testlenmesini sağlayacak şekilde petri kaplarında yapılmıştır. Bu nedenle iyi bir antagonist seçimi için ön test olarak kullanılabilir. Ancak yeni biyokontrol mekanizmalarının saptandığı günümüzde çok sayıda izolatla daha kapsamlı testlerin yapılmasıyla etkin antagonistlerin seçimi için uygun modeller oluşturulması gerekmektedir.

Araştırmalarımızda bu iki hastalığın kontrolüne yönelik yaptığımız *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarda ümitvar sonuçlar alınmıştır. Çilek yetiştiriciliğinde tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de toprak dezenfeksiyonu yapılmaksızın üretim ekonomik olmaktan oldukça uzaktır. En önemli toprak dezenfektanlarından biri olan ve yaygın olarak yararlanılan metil bromürün kullanımının 2008 yılı itibariyle tamamen sonlandırılacak olması çilek kök hastalıkları ile mücadelede alternatif yöntemlerin uygulamaya konmasını gündeme getirmiştir. Aydın ili Sultanhisar ilçesinde yürütülen daha önceki çalışmalarda solarizasyon uygulamalarının bu yöre için uygun bir alternatif olduğu saptanmış ve bu yöntem yöre çiftçileri tarafından benimsenerek giderek yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Özünde topraktaki mikrobiyal populasyon artışının da önemli bir yeri olduğu bilinen solarizasyon uygulamaları biyokontrol ajanlarının kullanımı için uyumlu bir alternatif olarak dikkati

çekmektedir. Hem izole edilen antagonist bakterilerin etki mekanizmalarının saptandığı, hem de bunların farklı karakterdeki iki fungal patojene olan etkilerinin *in-vitro* ve *in-vivo*'da araştırıldığı bu çalışma ülkemizde bir ilktir. Çalışmamız bu konuda çalışanlara önemli bir kaynak niteliğindedir. Ancak bu araştırmaların devamı ile;

- Solarizasyon, kısa süreli solarizasyon, metam sodium ve benzeri fumigantların azaltılmış dozları ile yapılan uygulamaların ardından antagonist bakteri uygulamalarının yapılması,
- Topraktaki antagonist bakteri gelişimini teşvik edecek ve hastalık etmenlerini baskılayacak organik madde ilavesi ile birlikte antagonist bakteri uygulamalarının yapılması,
- Antagonist bakterilerin tarla koşullarında yürütülen denemelerde araziye uygulanması için geliştirilebilecekleri ekonomik ve uygun besiyerlerinin saptanması. Ayrıca damlama sulama sistemi ile bakterilerin bitkilere ulaştırılması gibi kolay uygulama şekillerinin denenmesi ve uygulama sıklıklarının çoğaltılması gibi yöntemler ile etkinliğin arttırılmaya çalışılması,
- Yeni bir patojen olarak bölgede ortaya çıkan *Macrophomina phaseolina*'ye etkin biyokontrol ajanlarının saptanması,
- Birden fazla biyokontrol ajanının birlikte kullanılması ile farklı patojenlerin kontrol edilmesi, ayrıca antagonistlerin birbirlerine olan sinerjistik etkilerinin araştırılması,
- Bakteri uygulamalarının fungusit uygulamaları ile beraber denenmesi,
- Çilek üretim sezonundan önce bazı bitkilerin ön bitki olarak yetiştirilip hasat artıklarının toprağa karıştırılması ile çilek dikimi sırasında antagonist bakteri uygulamalarının birlikte değerlendirilmesi,
- Uygulanan antagonist bakterilerin çilek rizosferinde fideden itibaren popülasyonunun izlenmesi

gibi pek çok çalışmanın da yapılması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

- Afsharmanesh, A., Ahmadzadeh, M., Sharifi-Tehrani, A., Javan-Nikkhah, M., and Ghazanfari, K. 2005. Contribution of pHIA and some metabolites of fluorescent pseudomonads to antifungal activity. **Communicationns in Agricultural and Applied Biological Sciences**, **70**(3):151-155.
- Alstrom, S. 2001. Characteristics of bacteria from oilseed rape in relation to their biocontrol activity against *Verticillium dahliae*. **Journal-of-Phytopathology**, **149**: 2, 57-64; 19 ref.
- Anandhakumar, J., and Zeller, W. 2004a. Studies on efficacy and mode of action of rhizosphere bacteria against *Phytophthora* spp. in strawberry. **In Proceeding 'Management of Plant Disease and Arthropod Pets by BCAs and their integration in Agricultural System'**. Elad, Y., I. Pertot and A. Enkegaard (eds), , Trentino, Italy, 9-13 June 2004.
- Anandhakumar, J., and Zeller, W. 2004b. Investigation on the biocontrol of *Phytophthora* diseases on strawberry based on antagonism. **11th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing**. Proceedings of the conference, Weinsberg, Germany, 3-5 February 2004: 240-243 2002.
- Andro, T., Chambost, J.P., Kotoujansky, A., Cattano, J., Bertheau, Y., Barras, F., Van Gijsegem, F., and Coleno, A. 1984. Mutants of *Erwinia chrysantemi* defective in secretion of pectinase and cellulase. **J. Bacterial**. **160**:119-1203.
- Anonymous, 2003. Tarımsal Yapı ve Üretim. T.C. Başbakanlık DİE Yayınları Ankara.
- Anonymous, 2005. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Aydın Tarım İl Müdürlüğü Kayıtları.
- Anonymous, 2007. Food and Agriculture Organization of The United Nations. [<http://faostat.fao.org>] Erişim tarihi 12/6/2007.
- Aybak, H.Ç. 2000. Çilek yetiştiriciliği. Hasat yayınları, 118s.

- Bakker, A.W., and Schippers, B. 1987. Microbial cyanide production in the Rhizosphere in relation to potato yield Reduction and Pseudomonas spp-mediated Plant growth-stimulation. **Soil Biol. Biochem.** **19**(4): 451-457.
- Barka, E.A., Gognies, S., Nowak, J., Audran, J.C., and Belardi A. 2002. Inhibitory effect of endophyte bacteria on Botrytis cinerea and its influence to promote the grapevine growth. **Biological Control** **24**: 135-142.
- Benlioğlu, S., Boz, Ö., Yıldız, A., Kaşkavalcı, G., and Benlioğlu, K. 2002. Soil solarization options in Aydın strawberry without methyl bromide. **Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions**, November 6-8, 2002 Orlando, Florida, USA.
- Benlioğlu, S., Yıldız, A., and Döken, T. 2004. Studies to Determine the Causal Agents of Soilborne Fungal Diseases of Strawberries in Aydın and to Control them by Soil Disinfestation. **J. Phytopathology** **152** (18), 509-513
- Benlioğlu, S., Boz, Ö., Yıldız, A., Kaşkavalcı, G., and Benlioğlu, K. 2005. Alternative soil solarization Treatments for the Control of Soil-borne Diseases and Weed of Strawberry in the Western Anatolia of Turkey. **J. Phytopathology** **153**: 423-430.
- Benlioğlu, S. 2007. Sözlü görüşme. Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Aydın. Eposta seherbenlioglu@yahoo.com
- Beraha, L. 1968. A Rapid Method for the Preparation of A Semi-Solid Agar Medium for Detection of Pectolytic Enzyme Activity in Erwinia Carotovora. **Plant Disease Reporter**, Vol. 52, No 2, February 1968.
- Berg, G. 1996. Rhizobacteria of oilseed rape antagonistic to Verticillium dahliae var. Longisporum STRAK. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, **103**(1),20-30.
- Berg, G., Frankowski, J., and Bahl, H. 1999. Biocontrol of Verticillium wilt in oilseed rape by chitinolytic Serratia plymuthica. **Proceeding of the 10th international rapeseed congress**. Canberra, Australia.

- Berg, G., Kurze, S., Buchner, A., Wellington, E.M. and Smalla, K. 2000a. Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonistic to verticillium wilt. **Canadian-Journal-of-Microbiology**. **46**(12): 1128-1137.
- Berg, G., Frankowski, J., and Bahl, H. 2000b. Interactions between *Serratia plymuthica* and the soil borne pathogen *Verticillium longisporum*. In *Advances in Verticillium Research and Disease Management*. Tjamos, E. C., C. Rowe, J.B. Heale, D.R. Fravel (eds). St Paul, MN, USA: **American Phytopathological Society Press**, 269-273.
- Berg, G., Fritze, A., Roskot, N. and Smalla, K. 2001. Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb. **Journal of Applied Microbiology** **91**(6):963-971.
- Berg, G., Roskot, N., Steidle, A., Eberl, L., Zock, A., and Smalla K. 2002. Plant-dependent genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different *Verticillium* host plant. **Applied and Environmental microbiology**, July 2002, p3328-3338.
- Berg, G., Opelt, K., Schmidt, S., Zachow, C., Lottmann, J., and Götz, M. 2006. Therhizosphere effect on bacteria antagonistic towards the pathogenic fungus *Verticillium* differs depending on plant species and site. **FEMS Microbiol Ecol** **56**: 520-261.
- Berg, G. 2007. Biological Control of Fungal Soilborne Pathogens in Strawberries, In: *Biological Control of Plant Diseases*. Chincholkar S.B., Mukerji K.G. (eds), **Haworth Food & Agricultural Products Press**, pp. 1-15, New York.
- Campbell, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. **Cambridge University Press**, New York., 218 p, ISBN: 0-521-34088-8.
- Costa, R., Gomes, N.C.M, Krogerrecklenfort, E., Opelt, K., Berg, G., and Smalla, K. 2007. *Pseudomonas* community structure and antagonistic potential in the rhizosphere: insights gained by combining phylogenetic and functional gene-based analyses. **Environmental Microbiology** **9**(9), 2260-2273.

- Cox, C.D. 1994. Deferration of laboratory media and assays for ferric and ferrous ions. **Methods Enzymol.** **235**: 315-372.
- De La Fuente, L., Bajsa, N., Bagnasco, P., Quagliotto, L., Thomashow, L., and Arias, A. 2000. Antibiotic production by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* isolated from forage legume rhizosphere. **Proceedings of the 5th International PGPR Workshop**. Córdoba, Argentina.
- De La Fuente, L., Landa, B.B., and Weller, D.M. 2006. Host crop affects rhizosphere colonization and competitiveness of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens*. **Phytopathology** **96**:751-762.
- De los Santos, B., Barrau, C., and Romero, F. 2003. Strawberry fungal disease. **Food, Agriculture & Environment** Vol. 1 (3&4): 129-132.
- D'Ercole, N. 1993. Biological control of strawberry root rot through non-pathogenic isolate of *Rhizoctonia fragaria* Hussain and McKeen. II International Strawberry Symposium, Vol 1, USA.
- De Freitas, J.R., Banerjee, M.R., and Germida, J.J. 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.). **Biol Fertil Soils** **24**:358-364.
- De Souza, J.T., Arnould, C., Deulvot, C., Lemanceau, P., Gianinazzi-Pearson, V., and Raaijmakers, J.M. 2003. Effect of 2,4-diacetylphloro-glucinol on *Pythium*: Cellular responses and variation in sensitivity among propagules and species. **Phytopathology** **93**: 966-975.
- De Weger, L.A., Van Boxtel, R., Van Der Burg, B., Gruters, R.A., Geels, F.P., and Schippers, B. 1986. Ben LugtenbergSiderophores and outer membrane proteins of antagonistic, plant growth-stimulating, root colonizing *Pseudomonas* spp. **Journal of Bacteriology** Feb, 585-594.
- Donohoe, H., Mattner, S., and Brett, R. 2001. Status of methyl bromide phase-out in the temperate australian strawberry industry. Abstract 44 in: **Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions** 5-9 November, 2001.

- Dworkin, M., and Foster, J. 1958. Experiment with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. **J. Bacteriol** **75**: 592-601.
- Eikemo, H., Stensvand, A., and Tronsmo, A.M. 2000. Evaluation of methods of screening starwberry cultivars for resistance to crown rot caused by *Phytophthora cactorum*. **Ann. appl. Biol.** **137**: 237-244.
- Eikemo, H., Stensvand, A., and Tronsmo, A.M. 2003. Induced resistance as a possible means to control diseases of strawberry caused by *Phytophthora* spp. **Plant Dis.** **87**: 345-350.
- Farr, D.F., Bills, G.F., Chamuris, G.P., and Rossman, A.Y. 1989. *Fungi on Plants and Plant Products in the United States*. **APS Press**. St. Paul, Minnesota. 1252 pp.
- Ferguson, L.M., Fernandez, G.E., and Brannen, P.M. 2001. Alternative soil treatments for strawberry in the southeastern United States. Abstract 42 in: **Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions** 5-9 November, 2001.
- Fravel, D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. **Annu. Rev. Phytopathol.** **26**: 75–91.
- Fritsch, J. 1998. Strawberry crops in France: Different methods to apply methyl bromide and metam sodium in open fields. Abstract 14 in: **Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emission Reductions** December 7-9, 1998.
- Fuchs, R.L., McPherson, S.A., and Drahos, D.J. 1986. Cloning of *Serratia marcescens* gene encoding chitinase. **Applied and Environmental Microbiology** **51**(3): 504-509.
- Gamliel, A., and Katan, J. 1992a. Chemotaxis of fluorescent *Pseudomonads* towards seed exudates and germinating seeds in solarized soil. **Phytopathology** **82**:328-332.
- Gamliel, A., and Katan, J. 1992b. Influence of seed and root exudates on fluorescent *Pseudomonads* and fungi in solarized soil. **Phytopathology** **82**:320-327.

- Gamliel, A., and Katan, J. 1993. Suppression of major and minor pathogens by fluorescent *Pseudomonads* in solarized and nonsolarized soils. **Phytopathology** **83**: 68-75.
- Gordon, S.A., and Weber, R.P. 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. **Plant Physiology** **26**: 192-195.
- Gordon, T.R., Kirkpatrick, S.C., Hansen, J. and Shaw, D.V. 2006. Response of strawberry genotypes to inoculation with isolates of *Verticillium dahliae* differing in host origine. **Plant Pathology** **55**: 766-769.
- Grinstein, A, Kritzman, G., Hetzroni, A., Gamliel, A., Mor, M., and Katan, J. 1995. The border effect of soil solarization. **Crop protection**, **14**(4): 315-320.
- Grosch, R., Faltin, F., Lottmann, J., Kofoet, A., and Berg, G. 2006. Endophytes as source of efficient biological agents. **Bulletin OILB/SROP** **29** (2) : 31-36.
- Gulati M.K., Koch, E., Zeller, W., Lyr H. (ed.), Russell, P.E. (ed.), Dehne, H.W. (ed.), and Sisler, H.D., 1999. Isolation and identification of antifungal metabolites produced by fluorescent *Pseudomonas*, antagonist of red core disease of strawberry. Modern fungicides and antifungal compounds **II**. **12th International Reinhardsbrunn Symposium**, Friedrichroda, Thuringia, Germany, 24th-29th May 1998. 437-444; 12 ref.
- Gullino, M.L., Minuto, M., Camponogara, A., Minuto, G., Garibaldi, A., and Di Va., P.R.A. 2002. Soil disinfestation in Italy. Abstract 12 in: **Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions** 6-8 November, 2002.
- Güncü, M. 1989. Güney Anadolu Bölgesinde kültür bitkilerinde zarar yapan *Phytophthora* türlerinin saptanması, bunların morfolojik ve biyokimyasal yöntemlere göre tanımlanması. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara, 141pp.
- Gürer, M. ve Coşkun, H. 1993. Occurence of Strawberry Desiases in Turkey. **6th International Congress of Plant Pathology**, 28 July-6 August, 1993.

- Hafeez, F.Y., Yasmin, S., Ariani, D., Rahman, M., Zafar, Y., and Malik, K.A. 2006. Plant growth-promoting bacteria as biofertilizer. **Agro. Sustain. Dev.** **26**:143-150.
- Hancock, J.F. 1999. Strawberries. CAB International, Wallingford, UK., 237p.
- Hessenmuller, A., and Zeller, W., 1996. Biological control of soil-borne Phytophthora species in strawberry with bacterial antagonists. I. Antagonistic effect and colonization of rhizoplane. **Zeitschrift-fur-Pflanzenkrankheiten-und-Pflanzenschutz** **103**: (6) 602-609.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., and Williams, S.T. eds., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth edition. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Irzykowska, L., Irzykowski, W., Jarosz, A., and Golebniak, B. 2005. Association of Phytophthora citricola with leather rot disease of strawberry. **J. Phytopathology** **153**: 680-685.
- Jeffries, C.D., Holtmann, D.F., and Guse, D.G. 1957. Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acid. **J. Bact.**, **73**: 590-591.
- Kapkın, A. 1978. İzmir ili çileklerinde tarla döneminde ve hasat sonrasında görülen fungal etmenlerin saptanması ve bunların patojenisiteleri üzerinde araştırmalar. E.Ü. Ziraat Fak., Bitki Koruma Böl., Uzmanlık Tezi, 144 pp.
- Karman, M. 1971. Bitki koruma araştırmalarında genel bilgiler, denemelerin kuruluşu ve değerlendirilme esasları. T.C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, 279s.
- Katan, J, Greengberger, A., Laon, H., and Grinstein, A. 1976. Solar heating by polyethylene mulching for the control of diseases caused by soilborne pathogens. **Phytopathology** **66**:683-688.
- Keel, C., Voisard, C., Berling, C.H., Kahr, G., and Defago, G. 1989. Iron sufficiency, a prerequisite for suppression of tobacco black root rot by Pseudomonas fluorescens strain CHAO under gnotobiotic conditions. **Phytopathology** **79**:584-589.

- King, E.O., Ward, M.K., and Raney, D.E. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. **J. Lab. Clin. Med.** 44:301-307.
- Klement, Z. 1963. Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic pseudomonas. **Nature**, **199**: 299-300p.
- Klement, Z. 1968. Pathogenicity factors in regard to relationships of phytopathogenic bacteria. **Phytopathology**, **58**: 1218-1222.
- Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D.C. 1990. Methods in Phytobacteriology. Akademiai Kiado, Budapest, 568p.
- Kloepper, J.W., Rodríguez-Kábana, R., Zehnder, G.W., Murphy, J., Sikora, E., and Fernández, C. 1999. Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. **Australasian Plant Pathology** **28**:27-33.
- Knowles, C.J., 1976. Microorganisms and cyanide. **Bacteriological reviews** **40**, 652-680.
- Koch, E., Kempf, H.J., and Hessenmüller, A. 1998. Characterization of the biocontrol activity and evaluation of potential plant growth- promoting properties of selected rhizobacteria. **Journal of Plant Disease and Protection**, **105**(6), 567-580p.
- Krechel, A., Faupel, A., Hallmann, J., Ulrich, A., and Berg, G. 2002. Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. **Can. J. Microbiol.** **48**: 772-786p.
- Kurze, S., Bahl, H., Dahl, R., and Berg, G. 2001. Biological control of fungal strawberry disease by *Serratia plymuthica* HRA-C48. **Plant Dis.** 85:529-534.
- Lamont, I.L., Beare, P.A., Ochsner, U., Vasil, A.I., and Vasil, M.L. 2002. Siderophore-mediated signaling regulates virulence factor production in *Pseudomonas aeruginosa*. **Proceedings of the National Academy of Science USA**. 2002 May 14;99(10):7072-7077.

- Landa, B.B., Mavrodi, O.V., Raaijmakers, J.M., McSpadden Gardener, B.B., Thomashow, L.S., and Weller, D.M. 2002. Differential ability of genotypes of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* strains to colonize the root of pea plants. **Applied and Environmental Microbiology**, July 2002, p. 3226-3237.
- Landa, B.B., Mavrodi, D.M., Thomashow, L.S., and Weller, D.M. 2003. Interactions Between Strains of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas fluorescens* in the Rhizosphere of Wheat. **Phytopathology** **93**:982-994.
- Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A., and Jiménez-Díaz, R.M. 2004. Influence of temperature on plant–rhizobacteria interactions related to biocontrol potential for suppression of fusarium wilt of chickpea. **Plant Pathology** **53**, 341–352
- Leben, S.D., Wadi, J.A., and Easton, G.D. 1987. Effect of *Pseudomonas fluorescens* on potato plant growth and control of *Verticillium dahliae*. **Phytopathology** **77**:1592-1595.
- Lopez-Aranda, J.M., Romero, F., and Montes, F. 2001. Chemical and non-chemical alternatives to MB fumigation of soil for strawberry, 2000-2001 results. Abstract 40 in: **Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions** 5-9 November, 2001.
- Maas, J.L. 1998. Compendium of Strawberry Diseases, second edition. APS press Minnesota USA, 98p.
- Manici, L.M., Caputo, F., and Baruzzi, G. 2005. Additional experiences to elucidate the microbial component of soil suppressiveness towards strawberry black root rot complex. **Annals of Applied Biology** **146**: 421-431.
- Martin, F.N. 2000. *Rhizoctonia* spp. Recovered from strawberry roots in central coastal California. **Phytopathology** **90**:345-353.
- Martin, F.N., and Bull, C.T. 2002. Biological approaches for control of root pathogens of strawberry. **Phytopathology** **92**:1356-1362.

- Martin, F.N. 2003. Development of alternative strategies for management of soil borne pathogens currently controlled with methyl bromide. **Annual Review of Phytopathology** **41**:325-350.
- McFarland, J. 1907. The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. **J. A. Med. Assoc.** **49**:1176-1178.
- McSpadden Gardener, B.B., Mavrodi, D.V., Thomashow, L.S., and Weller, D.M. 2001. A rapid polymerase chain reaction-based assay characterizing rhizosphere population of 2,4-Diacetylphloroglucinol-producing bacteria. **Phytopathology** **91**:44-54.
- Midi, 2006. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids. Microbial Identification System, Technical operating manual. MIDI, Inc., 115 Barksdale Prof. Center, Newark, Delaware.
- Milagres, A.M.F., Machuca, A., and Napoleao, D. 1999. Detection of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome Azurol S (CAS) agar plate assay. **J. Microbiol. Meth.** **37**: 1–6.
- Nautiyal, C.S. 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. **FEMS Microbiology Letters** **170** : 265-270.
- Neilands, J.B. 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. **J. Biol. Chem.** **270**(45): 26723-26726.
- Nielsen, M.N., Sorensen, J., Fels, J., and Pederson, H.C. 1998. Secondary metabolite and endochitinase dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, 3563-3569.
- Ownley, B.H., Weller, D.M., and Thomashow, L.S. 1992. Influence of in situ and in vitro pH on suppression of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by *Pseudomonas fluorescens* 2-79. **Phytopathology** **82**: 178-184.

- Ownley, B.H., Duffy, B.K., and Weller, D.M. 2003. Identification and Manipulation of Soil Properties To Improve the Biological Control Performance of Phenazine-Producing *Pseudomonas fluorescens*. **Applied and Environmental Microbiology** Vol. 69 No. 6 p. 3333–3343.
- Pal, K.K., and McSpadden Gardener, B. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Pala, H. 1987. Çileklerde kök çürüklüğü etmeni ve antagonistlerinin saptanması, hastalık çıkışı üzerine toprak sterilizasyonunun etkisinin araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, Adana, 120 pp.
- Papavizas, G.C., and Lewis, J.A. 1983. Physiological and biocontrol characteristic of stable mutants of *Trichoderma viride* resistant to MBC fungicides. **Phytopathology** 73:407-411.
- Patten, C.L., and Glick, B.R. 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Can. J. Microbiol.** 42(3): 207-220.
- Patten, C.L., and Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System. **Applied and Environmental Microbiology**, 3795-3801.
- Penrose, D.M., and Glick, B.R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. **Physiologia Plantarum**, 118:10-15.
- Pinkerton, J.N., Ivors, K.L., Reeser, P.W., Bristow, P.R., and Windom, G.E. 2002. The use of soil solarization for the management of soilborne plant pathogens in strawberry and red raspberry production. **Plant Disease** 86: 645-651.
- Porras, M., Barrau, C., Arroyo, F.T., Santos, B., Blanco, C. and Romero, F. 2007. Reduction of *Phytophthora cactorum* in Strawberry Fields by *Trichoderma* spp. and Soil Solarization. **Plant Dis.** 91:142-146.
- Raaijmakers, J.M., Weller, D.M., and Thomashow, L.S. 1997. Frequency of antibiotic-producing *Pseudomonas* spp. in natural environments. **Appl. Environ. Microbiol.** 63:881–887.

- Ramirez, M.G., Avelizapa, L.I.R., Avelizapa, N.G.R., and Camarillo, R.C. 2004. Colloidal chitin stained with Remazol Brilliant Blue, a useful substrate to select chitinolytic microorganisms and to evaluate chitinases. **Journal of Microbiological Methods** **56**: 213-219.
- Reid, J.D., and Ogrydziaka, D.M. 1981. Chitinase-Overproducing Mutant of *Serratia marcescens*. **Applied And Environmental Microbiology**, **41**(3): 664-669.
- Rodriguez, H. and Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. **Biotechnology Advances** Volume 17, Issues 4-5, October 1999, Pages 319-339.
- Rotenberg, D., Joshi, R., Benitez, M.S., Gutierrez Chapin, L., Camp, A., Zumpetta, C., Osborne, A., Dick, W.A, and McSpadden Gardener, B.B. 2006. Farm Management Effects on Rhizosphere Colonization by Native Populations of 2,4-Diacetylphloroglucinol-Producing *Pseudomonas* spp. and Their Contributions to Crop Health. **Phytopathology** Volume **97**, Number 6, Pages 756-766.
- Schmidt, C. S., Agostini, F., Leifert, C., Killham, K., and Mullins, C. E. 2004. Influence of soil temperature and matric potential on sugar beet seedling colonization and suppression of *Pythium* damping-off by the antagonistic bacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. **Phytopathology** **94**:351-363.
- Schwyn, B., and Neilands, J.B. 1987. Universal Chemical Assay for the Detection and Determination of Siderophores. **Analytical Biochemistry** **160**: 47-56.
- Shanahan, P., O'sullivan, D.J., Simpson, P., Glennon, J.D., and O'Gara, F. 1992. Isolation of 2,4-Diacetylphloroglucinol from a Fluorescent *Pseudomonad* and Investigation of Physiological Parameters Influencing Its Production. **Appl Environ Microbiol.** **58**(1): 353–358
- Siciliano, S.E., and Germida, J.J. 1999. Taxonomic diversity of bacteria associated with the roots of field-grown transgenic *Brassica napus* cv. Quest, compared to the non- transgenic *B. napus* cv. Excel and *B. rapa* cv. Parkland. **FEMS Microbiology Ecology** **29**: 263-272.

- Siegmund, I., and Wagner, F. 1991. New method for detecting rhamnolipid excreted by *Pseudomonas* species during growth on mineral agar. **Biotechnol. Tech.** **5** (4), 265 – 268.
- Smalla, K., Wieland, G., Buchner, A., Zock, A., Parzy, J., Roskot, N., Heuer, H., and Berg, G. 2001. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis. Plant dependent enrichment and seasonal shifts. **Applied and Environmental Microbiology** **67**: 4742-4751.
- Sorensen, J. 1997. The rhizosphere as a habitat for soil microorganisms. In *Modern Soil Microbiology*, eds., J.D. Van Elsas, J.T. Trevors, and E.M.H. Wellington. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 21-45.
- Subbarao, K.V., Kabir, Z., Martin, F.N., and Koike, S.T. 2007. Management of soilborne diseases in strawberry using vegetable rotations. **Plant Dis.** **91**:964-972.
- Thomas, F.C., Woeng, C.A., Bloemberg, G.V., and Lugtenberg, B.J.J. 2003. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. **New Phytologist** **157**: 503-523.
- Utkhede, R.S., and Gaunce, A.P. 1983. Inhibition of *Phytophthora cactorum* by a bacterial antagonist. **Can. J. Bot.** **61**:3343-3348.
- Vestberg, M., Kukkonen, S., Saari, K., Parikka, P., Huttunen, J., Tainio, L., Devos, N., Weekers, F., Kevers, C., Thonart, P., Lemoine, M.C., Cordiwe, C., Alabouvette, C., and Gianinazzi, S. 2004. Microbial inoculation for improving the growth and health of micropropagated strawberry. **Applied Soil Ecology** **27**: 243-258.
- Vikram, A., Hamzehzarghani, H., Alagawadi, A.R., Krishnaraj, P.U., and Chandrashekar, B.S. 2007. Production of Plant Growth Promoting Substances by Phosphate Solubilizing Bacteria isolated from vertisols. **Journal of Plant Sciences** **2**(3): 326-333.

- Xie Hong, Pasternak, J.J., and Glick, B.R. 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. **Curr Microbiol** **32**:67–71.
- Yürüten, H., Çınar, A., ve Çınar, Ö. 1986. Çilek kök çürüklüğüne neden olan etmenin ve etkili antagonistlerinin saptanması, hastalık çıkışı üzerine toprak solarizasyonunun etkisinin araştırılması. Türkiye 1. Biyolojik Mücadele Kongresi, ADANA, 447-455.

EKLER**Ek 1: Biyolojik Materyal Transfer Belgesi****UNIVERSITÄT ROSTOCK****FB Biowissenschaften**

Institut für Molekulare Physiologie und Biotechnologie
Mikrobiologie
PD Dr. Gabriele Berg

**Transfer of biological material**

Between

Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Dept.,

Address

Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü,
09100, Aydın / TURKEY

From:

PD Dr. Gabriele Berg

University of Rostock, Department of Life Science, Microbiology, Albert-Einstein-Str.
3, D-18051 Rostock, Germany

The University of Rostock give the following biological material

Strains:

- » *Serratia plymuthica* HRO-C48 and
- » *Pseudomonas fluorescens* E11

for scientific research to the above mentioned person.

Because the strain has a potential value, I will need your assurance that the strain will not be used in any commercial activity. Also, please do not distribute the strain to anyone else without my written permission.

I trust that you will find the above understandings to be acceptable for you and will acknowledge your acceptance to them by signing, dating, and returning one duplicate copy of this letter agreement to me.

Date: March 9, 2004

Accepted

Umit Ozyilmaz
Research Assistant

Prof. Kemal Benlioglu
Supervisor

Ek 2: Tarla denemelerinin kurulduğu arazilerin toprak özellikleri

2005-2006 yılları arasında kurulan tarla denemesine ait toprak analiz sonuçları

Saturasyon (%)	Bünye	Toplam Tuz (%)	pH	CaCO ₃ (%)	Org. Mad. (%)
35.3	Tınlı	0.014	8.11	0.57	1.04

P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Na (ppm)	Mg (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
23	302	1549	67	346	84	0.32	1.6

2006-2007 yılları arasında kurulan tarla denemesine ait toprak analiz sonuçları

Saturasyon (%)	Bünye	Toplam Tuz (%)	pH	CaCO ₃ (%)	Org. Mad. (%)
39.2	Tınlı	0.0065	8.18	2.55	0.89

P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Na (ppm)	Mg (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Mn (ppm)
5	352	2087	81	281	30.16	1.16	102.40

Ek 3: İkili kültür testleri sonucunda antagonist izolatların *R. solani*'yi ve *P. cactorum*'u engelleme oranları (%)

	<i>R. solani</i> % engelleme				<i>P. cactorum</i> % engelleme			
	I	II	III	Ort	I	II	III	Ort
3k12	50	52	48	50	24	26	24	25
3k9	20	24	16	20	10	14	14	13
3mb1	44	46	46	45	20	20	14	18
3mb11	57	57	58	57	51	45	48	48
3mb12	20	12	12	15	22	22	22	22
3mb7	57	57	58	57	42	41	41	41
3msss1	42	42	45	43	65	67	68	67
3msss12	50	50	50	50	58	60	62	60
3msss5	38	38	36	37	61	63	62	62
3ss3	30	30	30	30	50	44	46	47
3ss8	0	0	0	0	22	22	16	20
3ss9	20	20	20	20	24	18	24	22
3tg13	38	42	41	40	65	67	66	66
3tg8	42	47	45	45	78	75	73	75
3tgss1	52	48	50	50	20	18	16	18
3tgss13	32	28	30	30	44	54	52	50
3tgss14	7	7	8	7	57	58	56	57
3tgss15	40	38	42	40	20	20	20	20
3tgss2	0	0	0	0	34	38	34	35
3tgss9	14	16	16	15	24	18	18	20
4b12	33	33	35	34	2	9	7	6
4b4	38	38	38	38	13	17	16	15
4b6	42	42	45	43	30	33	37	33
4b7	33	33	37	34	78	77	80	78
4c15	69	69	67	68	30	33	33	32
4c8	14	14	14	14	47	45	45	46
4k1	67	67	67	67	56	55	57	56
4k15	24	24	25	24	26	29	28	28
4k2	5	5	7	6	42	36	36	38
4k7	0	0	0	0	11	9	9	10
4k8	33	33	37	34	0	0	0	0
4kl11	57	57	60	58	60	59	57	59
4kl7	29	29	33	30	7	5	5	6
4l14	24	21	23	23	0	0	0	0
4yt11	42	42	41	42	78	79	79	79
4yt3	29	29	33	30	2	9	2	4

4yt7	14	14	16	15	38	41	39	39
6b1	0	0	0	0	32	32	34	33
6b10	10	10	14	11	0	0	0	0
6b11	20	20	23	21	39	42	39	40
6b13	0	0	0	0	0	0	0	0
6b15	0	0	0	0	0	0	0	0
6b2	73	73	76	74	43	46	45	45
6b3	52	52	52	52	26	18	22	22
6b6	73	73	74	73	48	50	52	50
6b8	46	52	52	50	16	14	20	17
6b9	0	0	0	0	0	0	0	0
6ba1	0	0	0	0	0	0	0	0
6ba11	0	0	0	0	16	20	24	20
6ba2	50	50	50	50	72	72	72	72
6ba3	57	57	58	57	82	86	84	84
6ba5	11	11	10	11	26	33	31	30
6ba6	52	52	56	53	82	86	82	83
6ba8	14	14	16	15	54	58	52	55
6c1	16	14	16	15	34	30	34	33
6c17	20	20	21	20	30	33	31	31
6c6	10	10	12	11	47	45	45	46
6c7	18	16	12	15	52	50	48	50
6d1en	0	0	0	0	0	0	0	0
6d2a	12	16	18	15	48	56	52	52
6d3en	0	0	0	0	0	4	12	5
6d5en	18	18	10	15	44	46	44	45
6k13	16	16	12	15	44	44	46	45
6k14	18	20	16	18	26	32	32	30
6k2	10	10	12	11	0	0	0	0
6k3	0	0	0	0	20	28	28	25
6k4	0	0	0	0	28	28	20	25
6k5	14	14	16	15	42	36	39	39
6k6	14	14	16	15	44	46	46	45
6k7	2	0	0	1	0	0	0	0
6k8	10	14	14	13	29	27	27	28
6k9	5	5	7	6	42	36	41	40
6l10	22	22	16	20	28	28	24	27
6l14	24	20	16	20	24	24	20	23
6l15	16	14	14	15	40	42	46	43
6l3	14	16	14	15	18	24	24	22

6l4	16	14	14	15	42	36	36	38
6t10	16	14	14	15	44	42	34	40
6t13	18	12	14	15	40	44	42	42
6t14	38	42	40	40	66	66	68	67
6t15	18	16	10	15	48	50	46	48
6t2/2	16	16	14	15	40	52	48	47
6t3	20	22	26	23	30	30	32	31
7ec11	56	56	54	55	58	60	62	60
7yc11	34	34	30	33	20	28	26	25
7yc3	38	28	38	35	24	22	30	25
7yc6	36	36	28	33	22	22	30	25
7yc8	0	0	0	0	16	4	0	7
7yc9	34	36	34	35	24	24	26	25
8c3	0	0	0	0	0	0	0	0
8c9	0	0	0	0	0	0	0	0
HRO-C48	38	38	38	38	48	50	49	49
E11	42	42	43	42	61	63	64	63
ccb	33	33	35	34	11	9	11	10
ccg	29	29	28	29	16	9	9	11
ka	33	33	35	34	64	64	61	63
ke	33	33	33	33	69	73	70	71
mbe	67	67	65	66	42	41	43	42
mbh	11	11	12	11	0	0	1	0
mbj	29	29	33	30	51	59	57	56
msssc	64	64	65	64	35	38	35	36
ssb	62	62	60	61	38	36	39	38
ssj	20	20	19	20	0	0	0	0

Ek 4: IAA üretim miktarlarının hesaplanmasında yararlanılan doğrunun oluşturulmasında kullanılan IAA miktarları ve spektrofotometrede 535 nm okuma değerleri

Tekerrür	100µg/mL	50µg/mL	10µg/mL	5µg/mL	1µg/mL	0.5µg/mL	0.1µg/mL	0µg/mL
I	0.652	0.456	0.128	0.072	0.013	0.004	0.008	0
II	0.676	0.448	0.125	0.072	0.012	0.002	0.002	0
III	0.659	0.421	0.12	0.067	0.017	0.003	0.005	0
IV	0.632	0.45	0.125	0.069	0.013	0.014	0.003	0
Ortalama	0.65475	0.44375	0.1245	0.07	0.01375	0.00575	0.0045	0

Ek 5: IAA üretiminin saptanmasına yönelik 535 nm okuma değerleri ve ortalamaları

İzolat	535 nm okuma değeri			
	I	II	III	Ort
ITM519	0.688	0.693	0.672	0.684
6k4	0.460	0.432	0.468	0.453
6k8	0.034	0.032	0.033	0.033
6t14	0.016	0.011	0.016	0.014
6b6	0.014	0.013	0.013	0.013
3msss12	0.016	0.011	0.010	0.012
ka	0.014	0.011	0.010	0.012
6b2	0.011	0.002	0.015	0.009
7ec11	0.006	0.010	0.006	0.007
3tg8	0.007	0.008	0.007	0.007
3tg13	0.003	0.009	0.009	0.007
6ba2	0.007	0.007	0.006	0.007
3k9	0.005	0.006	0.008	0.006
6l10	0.006	0.007	0.004	0.006
6ba3	0.007	0.003	0.006	0.005
mbe	0.005	0.004	0.005	0.005
ke	0.004	0.004	0.004	0.004
mbj	0.003	0.005	0.004	0.004
6ba6	0.003	0.004	0.004	0.004
6l14	0.003	0.002	0.006	0.004
3mb12	0.002	0.003	0.002	0.002
3msss5	0.002	0.003	0.001	0.002
3ss9	0.003	0.001	0.001	0.002
E11	-0.001	0.004	-0.001	0.001
4k1	0.002	-0.003	-0.005	-0.002
HRO C48	-0.006	-0.007	-0.007	-0.007
4b7	-0.005	-0.010	-0.010	-0.008

Ek 6: *R. solani* için yapılan patojenisite testinde elde edilen varyans analizi tabloları

Skala değerlerinin transforme edilmiş durumdaki varyans analizi tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
İzolot	10	2.4466848	0.244668	1.7135	0.1404
Hata	22	3.1413333	0.142788		
Genel	32	5.5880182			

CV= 29.88

Elde edilen % ağırlık değişimlerine ait varyans analizi tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
İzolot	10	39514.732	3951.47	3.9357	0.0035
Hata	22	22087.985	1004.00		
Genel	32	61602.717			

CV= 77.85

Ek 7: *P. cactorum* için yapılan patojenisite testinde elde edilen varyans analizi tabloları

Skala değerlerinin transforme edilmiş durumdaki varyans analizi tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
İzolot	11	3.9921417	0.362922	4.0806	0.0019
Hata	24	2.1345333	0.088939		
Genel	35	6.1266750			

CV= 18.38

Elde edilen % ağırlık değişimlerine ait varyans analizi tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
İzolot	11	53225.965	4838.72	24.6667	<.0001
Hata	24	4707.946	196.16		
Genel	35	57933.911			

CV= 701.85

Ek 8: *R. solani* ve *P. cactorum*'a karşı antagonist bakterilerin etkisi denemesinde elde edilen skala değerleri ve ortalamaları

<i>R. solani</i>					<i>P. cactorum</i>				
İzolat	I	II	III	Ort	İzolat	I	II	III	Ort
kontrol (hastalıksız)	0	0	0	0.00	kontrol (hastalıksız)	0	0	0	0.00
3ss9	2	0	1	1.00	3ss9	0	1	1	0.67
6l10	1	0	2	1.00	6l10	1	0	1	0.67
7ec11	1	1	1	1.00	HRO-C48	1	2	0	1.00
mbe	1	1	1	1.00	ka	1	1	1	1.00
ka	1	1	2	1.33	6b2	2	1	1	1.33
E11	2	1	1	1.33	6ba6	1	2	1	1.33
6k4	2	1	2	1.67	6k4	2	1	1	1.33
3msss5	1	3	1	1.67	3msss5	2	1	1	1.33
3tg13	2	2	1	1.67	kontrol (pozitif)	1	2	1	1.33
3mb12	1	2	2	1.67	E11	2	2	1	1.67
HRO-C48	2	2	2	2.00	3msss12	2	2	1	1.67
4k1	2	2	2	2.00	6b6	2	2	1	1.67
6ba6	1	2	3	2.00	6l14	3	1	1	1.67
6k8	2	2	2	2.00	3tg8	2	2	1	1.67
4b7	2	2	2	2.00	6k8	2	1	2	1.67
6t14	3	2	1	2.00	6t14	2	1	2	1.67
6ba3	3	2	1	2.00	ke	2	2	2	2.00
ke	3	2	2	2.33	4k1	2	2	2	2.00
6b2	2	3	2	2.33	mbe	3	2	1	2.00
3msss12	2	3	2	2.33	6ba2	2	2	2	2.00
6b6	2	3	2	2.33	3tg13	1	3	2	2.00
mbj	2	3	2	2.33	3mb12	2	1	3	2.00
6ba2	2	2	3	2.33	7ec11	3	2	2	2.33
6l14	2	2	3	2.33	3k9	2	3	2	2.33
3tg8	1	3	3	2.33	6ba3	3	2	2	2.33
kontrol (pozitif)	2	2	3	2.33	mbj	2	3	3	2.67
3k9	3	2	2	2.33	4b7	3	3	2	2.67

Ek 8'in devamı...

R. solani'ye karşı antagonist bakterilerin etkisi denemesinde transforme edilmiş skala değerlerine ait varyans analizi tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
İzolot	27	4.1866667	0.155062	2.9937	0.0003
Hata	56	2.9005333	0.051795		
Genel	83	7.0872000			

CV=15.27

P. cactorum'a karşı antagonist bakterilerin etkisi denemesinde transforme edilmiş skala değerlerine ait varyans analizi tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
İzolot	27	4.4960988	0.166522	3.2406	0.0001
Hata	56	2.8776000	0.051386		
Genel	83	7.3736988			

CV= 15.83

Ek 9: İklim odası koşullarında antagonist adayı bakterilerin çilek bitkisinin gelişimine etkisi denemesinde ağırlık yüzde değişim oranları

İzolat	I	II	III
ke	12.8	.	64.6
mbj	28.6	68.7	43.6
3tg8	125.2	.	118.7
3mb12	46.2	.	63.4
4k1	91.5	77.9	21.7
6t14	102.3	36.4	52.9
3msss5	4	.	77
7ec11	5.2	13.3	98.8
4b7	.	10.5	17.9
6ba2	32.9	8.1	66.8
6l10	35.9	29.9	20.1
E11	.	34.5	31.6
6ba6	53.4	21.3	28.4
6k8	78.7	.	73.5
3ss9	.	45.5	112.2
3k9	191.9	128	.
ka	56.3	47	23.1
HRO-C48	75.5	249.8	64.2
6ba3	238.2	187.5	50.1
3msss12	22.4	.	47.3
6b2	9.3	115	44.1
6k4	129.2	76.3	11.1
6b6	90	3.7	101.3
mbe	.	48.5	66
3tg13	123.3	49.7	6.1
6l14	49.5	40.1	.
Kontrol	39.6	28.3	27.0

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
İzolat	26	93956.37	3613.71	1.6955	0.0623
Hata	42	89515.27	2131.32		
Genel	68	183471.64			

CV= 74.19

Ek 10: 2004-2005 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları ve varyans analiz tabloları

	Çöken bitki oranları (%) 4/11/2004			
	I	II	III	IV
Karnabahar	16.3	9.3	18.2	6.6
4k1	14.1	12.9	15.8	16.3
Kontrol	16.5	24.4	11.9	11.4
HRO-C48	12.9	15.5	17.6	11.7

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	3	24.3525	8.1175	0.4253	0.7384
Hata	12	229.045	19.0871		
Genel	15	253.3975			

CV= 30.21

	Çöken bitki oranları (%) 22/6/2005			
	I	II	III	IV
Karnabahar	6.5	29.6	31.4	10.2
4k1	12.2	23.5	38.2	41.1
Kontrol	7.7	8.1	15	9.1
HRO-C48	18	28.9	39.4	3.2

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	3	731.8619	243.954	1.6297	0.2346
Hata	12	1796.3325	149.694		
Genel	15	2528.1944			

CV= 60.78

Ek 11: 2005-2006 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları ve varyans analiz tabloları

	Çöken bitki oranları (%) 19/11/2005			
	I	II	III	IV
3tg8	2.3	3.1	13.6	4
6b6	1.5	6	1.5	3
6k8	12.6	4.5	3.8	5.5
ka	3	3	7	4.5
Kontrol	2.3	9.8	6.7	6.2
HRO-C48	3	8.3	7.6	4.6

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	5	37.08333	7.4167	0.6174	0.6886
Blok	3	24.22833	8.0761	0.6723	0.5822
Hata	15	180.18667	12.0124		
Genel	23	241.49833			

CV= 65.29

	Çöken bitki oranları (%) 28/06/2006			
	I	II	III	IV
3tg8	1.5	2.3	3.80	8.7
6b6	1.5	1.5	17.4	16.5
6k8	8.9	3.7	12.2	7
ka	3	13.5	5.5	27.8
Kontrol	3	2.3	9	6.2
HRO-C48	1.5	3.8	4.6	17.6

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	5	181.4433	36.289	1.2171	0.3486
Blok	3	422.5833	140.861	4.7243	0.0163
Hata	15	447.2467	29.816		
Genel	23	1051.2733			

CV= 71.69

Ek 12: 2005-2006 çilek üretim sezonunda karakterlere ait pazarlanabilir çilek verimleri (kg/da)

	Tarihlere göre hasat edilen çilek meyveleri (kg/da)								
Karakter	19/4	26/4	3/5	10/5	17/5	24/5	30/5	6/6	12/6
Kontrol	448.4	719.1	707.0	329.3	231.1	38.2	59.1	108.9	175.1
	179.1	975.6	831.6	492.9	301.8	83.1	52.0	127.1	121.8
	265.8	993.8	904.0	484.9	350.2	112.0	103.1	209.8	198.7
	116.0	1145.3	1040.4	492.0	312.0	98.2	59.1	168.9	180.0
HRO-C48	236.0	818.7	632.0	386.7	256.4	60.9	56.9	112.4	116.4
	211.6	960.9	805.8	508.0	341.3	124.9	115.6	208.0	148.0
	168.0	923.6	809.3	475.1	301.8	99.1	74.2	208.9	184.0
	136.9	1009.3	867.6	469.3	309.8	90.7	81.3	208.9	170.7
6b6	207.6	1044.0	696.0	438.2	336.4	132.4	91.1	165.3	136.4
	196.9	1032.0	907.1	480.9	366.2	121.8	62.2	135.6	124.4
	275.1	902.2	799.6	488.9	312.4	132.4	104.9	199.1	187.6
	132.4	1064.9	923.6	480.4	340.4	134.2	100.4	201.3	235.1
3tg8	208.0	828.4	692.4	466.7	375.6	150.2	90.7	191.1	151.1
	230.2	915.6	879.6	508.4	302.2	113.8	92.4	194.7	174.7
	175.6	1086.7	1006.2	504.4	273.3	86.2	77.3	192.9	163.6
	100.0	944.4	841.3	428.9	312.4	128.4	70.7	183.1	164.9
6k8	199.1	793.3	727.1	452.0	334.7	146.2	86.7	143.1	150.2
	203.1	920.9	867.6	450.2	308.4	126.7	52.9	120.0	122.7
	266.2	955.6	825.8	520.0	333.3	124.9	85.8	207.6	219.6
	27.6	551.6	844.9	599.1	354.7	97.8	37.8	117.3	129.8
ka	191.6	855.1	748.4	439.1	343.6	119.6	42.7	90.2	56.4
	148.0	857.3	828.9	458.2	317.3	125.3	111.6	201.8	172.0
	112.9	1050.2	896.4	441.8	302.2	115.6	74.2	233.8	191.1
	206.2	1056.9	955.6	552.9	345.8	121.8	61.8	162.7	196.9

Hasat sonunda elde edilen toplam çilek verimlerine ait varyans analiz tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	5	233582.2	46716	0.8871	0.5137
Blok	3	828444.5	276148	5.2441	0.0113
Hata	15	789887.8	52659		
Genel	23	1851914.5			

CV= 7.01

Ek 13: 2006-2007 çilek üretim sezonu tarla denemesinde karakterlere ait çöken bitki oranları ve varyans analiz tabloları

	Çöken bitki oranları (%) 9/12/2006			
	I	II	III	IV
3ss9	0	0	1.8	1.8
6l10	6.9	0.9	0	0
HRO-C48	0	0	0.9	2.7
ka	0.9	0.9	0	0.7
Kontrol	16.5	0.9	0	0.9

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	4	42.893	10.7232	0.7676	0.5664
Blok	3	64.374	21.458	1.5361	0.2558
Hata	12	167.631	13.9692		
Genel	19	274.898			

CV= 208.80

	Çöken bitki oranları (%) 29/05/2007			
	I	II	III	IV
3ss9	13.2	6.3	16.5	12.4
6l10	23	10.1	14.7	17.5
HRO-C48	17.8	10.7	19.9	12.6
ka	10.6	8.1	8	14.9
Kontrol	35.9	16.1	21.2	15.8

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	4	334.398	83.5995	4.0383	0.0266
Blok	3	247.2495	82.4165	3.9812	0.0351
Error	12	248.418	20.7015		
C. Total	19	830.0655			

CV= 29.80

Ek 14: 2006-2007 çilek üretim sezonunda karakterlere ait pazarlanabilir kümülatif çilek verimleri (kg/da)

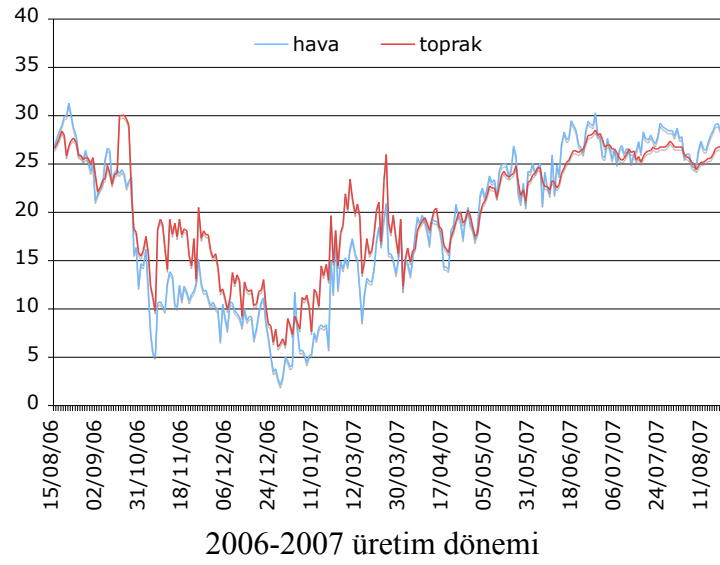
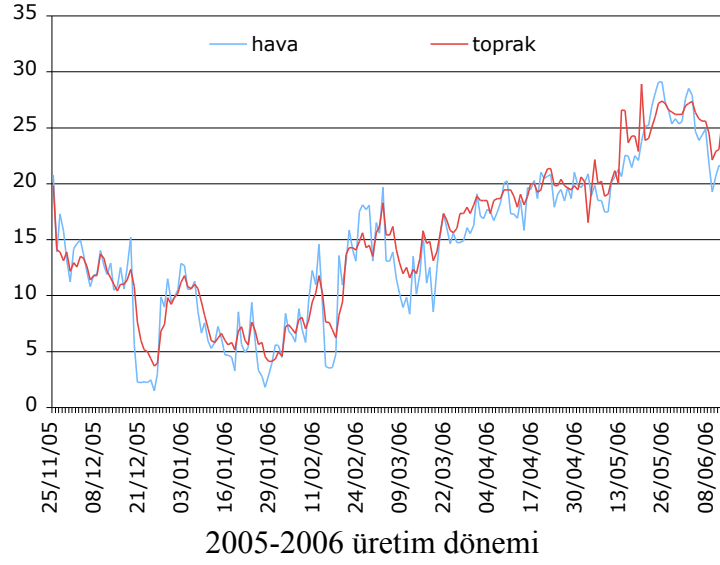
Karakter	Tarihlere göre hasat edilen çilek meyveleri (kg/da)									
	9/4	17/4	24/4	1/5	8/5	15/5	22/5	29/5	5/6	12/6
3ss9	182.1	851.8	837.4	941.3	475.9	203.9	128.8	155.7	160.9	42.5
	162.4	942.3	793.9	998.2	532.7	224.5	148.5	204.9	139.1	49.2
	149.0	974.8	966.6	1057.7	525.5	233.2	159.3	186.7	192.9	62.6
	118.0	1038.5	849.7	836.8	445.8	193.5	123.7	199.2	134.0	49.2
6l10	228.1	1211.7	974.4	911.8	432.9	172.3	86.4	199.1	217.2	80.2
	138.1	1063.8	962.4	1139.4	637.2	221.9	88.4	168.1	232.2	77.6
	91.0	993.4	847.1	912.4	450.5	255.6	191.9	195.0	198.1	79.7
	139.2	727.1	572.0	557.5	282.4	103.5	125.2	124.6	24.9	4.2
HRO-C48	205.8	1068.4	890.1	909.8	476.4	183.7	90.0	139.7	120.5	25.9
	129.3	1042.0	910.2	975.4	554.0	194.5	139.7	197.6	195.5	91.5
	123.7	930.9	861.1	956.3	458.3	184.7	146.9	171.2	152.1	59.5
	179.5	984.1	799.0	883.9	443.2	176.9	124.2	128.3	85.9	25.4
ka	320.7	1320.8	887.0	933.0	453.6	210.0	80.3	171.8	153.2	45.0
	123.7	944.3	852.9	967.7	510.0	235.3	164.5	180.0	168.7	89.5
	114.4	893.6	870.9	880.8	505.4	259.7	159.3	172.8	168.6	71.9
	155.2	979.5	915.9	966.6	503.7	188.9	116.9	173.3	151.6	68.3
Kontrol	183.6	1218.4	1017.8	1043.1	445.8	155.3	75.0	164.5	157.8	70.9
	190.4	1072.1	930.4	1045.8	560.2	181.0	85.3	136.6	173.8	56.7
	135.0	1099.9	955.2	981.7	465.0	175.3	119.5	167.6	149.5	46.1
	222.4	704.9	462.5	488.3	199.7	86.5	149.0	109.7	20.2	7.8

Hasat sonunda elde edilen toplam çilek verimlerine ait varyans analiz tablosu

Kaynak	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F değeri	Prob > F
Uygulama	4	290244.7	72561	0.2928	0.877
Blok	3	3089170	1029723	4.1558	0.031
Hata	12	2973370.1	247781		
Genel	19	6352784.8			

CV= 12.13

Ek 15: 2005-2007 yılları rasında yürütülen tarla denemelerinde vejetasyon dönemindeki hava ve toprak sıcaklıkları (°C)



Ek 16: Etki mekanizmaları ile sekonder metabolitler arasındaki korelasyon

		Korelasyon katsayısı	S. prob. (p)
Siderofor	Yüzek aktif mad.	+ 0.7154	0
Siderofor	2-4,DAPG	+ 0.8725	0
2-4,DAPG	Yüzek aktif mad.	+ 0.6463	0.0004
Yüzek aktif mad.	HCN	+ 0.5622	0.0028
Fosfatı çözebilme	Proteaz	- 0.5186	0.0066
HCN	Proteaz	+ 0.5163	0.0069
2-4,DAPG	HCN	+ 0.5091	0.0079
Siderofor	HCN	+ 0.3866	0.0511

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ümit ÖZYILMAZ
Doğum Yeri ve Tarihi : İstanbul / 19/03/1975

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar

SCI

Diğer

b) Bildiriler

Uluslararası

Ulusal

Özyılmaz, Ü., ve Benlioğlu, K. 2001. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in izolasyonunda kullanılan seçici besiyerleri üzerinde çalışmalar. Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi, Tekirdağ.

Yıldız, A., Özyılmaz, Ü., Benlioğlu, K., ve Benlioğlu, H.S. 2006. Çilek Üretiminde Solarizasyon ve Organik Madde Uygulamaları. III. Organik Tarım Sempozyumu, Yalova.

Benlioğlu, K., Özyılmaz, Ü., ve Öztürk, E. 2007. Deterjan üreten bakterilerin biber kök boğazı yanıklığı (*Phytophthora capsici*)'na etkisi üzerinde araştırmalar. II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta.

Benlioğlu, K., ve Özyılmaz, Ü. 2007. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in moleküler beacon probe ve floresan PCR testi ile saptanması. II. Bitki Koruma Kongresi, Isparta.

c) Katıldığı Projeler

Benlioğlu, K., ve Özyılmaz, Ü. Aydın İlinde Sera Domateslerinde Toprak Kaynaklı Bakteriyel Hastalıkların Saptanması, Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulu, FBE 00002, 30.10.2000-30.03.2001.

Benlioğlu K., ve Özyılmaz, Ü. İndirekt Fluoresan Antikor Boyama Yöntemi (IFAS) ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile Domates Tohumlarında Bakteriyel Kanseri Etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in Saptanması, Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulu, MARL-02003, 6/9/2002-6/3/2005 .

Benlioğlu, K., ve Özyılmaz, Ü. Aydın İlinde Çilek Kök Hastalıklarına Karşı Antagonist Bakterilerle Biyolojik Mücadele, Bilimsel Araştırma Projeleri Kurulu, ZRF-04009, 01/04/2004-1/2/2007 .

Benlioğlu, K., ve Özyılmaz, Ü. Aydın İlinde Çilek Kök Hastalıklarına Karşı Antagonist Bakterilerle Biyolojik Mücadele, TÜBİTAK, TOGTAG-3282, 1/4/2004,1/10/2006.

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi

İLETİŞİM

E-posta Adresi : uozyilmaz@adu.edu.tr

Tarih : 5/11/2007