

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



PATATES'TE *Phytophthora infestans*'IN KONTROLÜNDE
***Beauveria bassiana*'NIN ENDOFİTİK KOLONİZASYONUNUN**
ETKİNLİĞİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BEDRİYE DEMİRER

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mehmet Erhan GÖRE

BOLU, TEMMUZ - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bedriye DEMİNER tarafından hazırlanan “**PATATES’TE *Phytophthora infestans*’IN KONTROLÜNDE *Beauveria bassiana*’NİN ENDOFİTİK KOLONİZASYONUNUN ETKİNLİĞİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 28/07/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Mehmet Erhan GÖRE
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Göksel ÖZER
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Harun BAYRAKTAR
Ankara Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 18/08/2023 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 11 olarak tespit edilmiştir.

.....
BEDRİYE DEMİRER

ÖZET

PATATES'TE *Phytophthora infestans*'IN KONTROLÜNDE *Beauveria bassiana*'NIN ENDOFİTİK KOLONİZASYONUNUN ETKİNLİĞİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BEDRİYE DEMİNER
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MEHMET ERHAN GÖRE)

**BOLU, TEMMUZ - 2023
XIII + 36**

Beauveria bassiana'nın üyesi olduğu entomopatojen funguslar, çoklu fonksiyonel ve ekolojik rollere sahip böceklerin antagonistleri olarak bilinirler ve entegre zararlı yönetim programlarında biyokontrol ajanları olarak artan bir ilgiye sahiptirler. Son yıllarda *B. bassiana*'nın entomopatojenik özelliğinin yanı sıra bazı bitki hastalık etmenlerine karşı endofitik yeteneğiyle önemli oranda kontrol sağladığını rapor eden oldukça çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bununla birlikte, etmenin patojene gözlenen bu etkisi ve konukçu bitkideki olası mekanizması hakkında oldukça sınırlı bir bilgi mevcuttur. Bu çalışma, patatesten geç yanıklığa neden olan *Phytophthora infestans*'ın 13_A2, 34_A1 ve 37_A2 klonal soylarının *B. bassiana*'nın endofitik kolonizasyonu ile kontrol olanaklarını belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Denemelerde *B. bassiana*'nın 4-6 yapraklı bitkilere uygulanmasından üç ve yedi gün sonra *P. infestans*'ın klonal soyları bitkilere inokule edilmiştir. Uygulamalar karşılaştırıldığında *B. bassiana* ile muamele edilmiş bitkilerde hastalık şiddeti özellikle 37_A2 ve 34_A1 klonal soylarında %60'a varan ölçüde azalmıştır. Sonuçlar, *B. bassiana*'nın endofitik kolonizasyonu sonrasında bitkide çeşitli savunma mekanizmalarının aktifleştirildiğini işaret etmektedir. Bu nedenle, *B. bassiana* gibi bir entomopatojenik fungusun aynı zamandan endofit olarak kullanılması, patates üretiminde pestisit uygulamalarını azaltma potansiyeli yanında alternatif ve sürdürülebilir bir bitki koruma stratejisi oluşturma potansiyeli sunmaktadır.

ANAHTAR KELİMELEER: *Beauveria bassiana*, Biyolojik kontrol, Endofit, Patates, *Phytophthora infestans*

ABSTRACT

EFFICACY OF ENDOPHYTIC COLONIZATION OF *Beauveria bassiana* FOR THE CONTROL OF *Phytophthora infestans* ON POTATO

MSC THESIS

BEDRİYE DEMİRER

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

(SUPERVISOR: PROF. DR. MEHMET ERHAN GÖRE)

BOLU, JULY 2023

XIII + 36

Entomopathogenic fungi, of which *Beauveria bassiana* is a member, are known as antagonists of insects with multiple functional and ecological roles and are of increasing interest as biocontrol agents in integrated pest management programs. In recent years, there are many studies reporting that *B. bassiana* provides significant control against some plant disease pathogens with its endophytic ability as well as its entomopathogenic feature. However, very limited information is available about this observed effect of the agent on the pathogen and its possible mechanism in the host plant. This study was carried out to determine the control possibilities of 13_A2, 34_A1 and 37_A2 clonal lineages of *Phytophthora infestans*, which cause late blight in potato, by endophytic colonization of *B. bassiana*. Three and seven days after the application of *B. bassiana* to plants with 4-6 leaves, clonal lineages of *P. infestans* were inoculated into the plants in the experiments. When the treatments were compared, the disease severity in plants treated with *B. bassiana* was reduced by up to 60%, especially in the clonal lineages 37_A2 and 34_A1. The results indicate that various defense mechanisms are activated in the plant after the endophytic colonization of *B. bassiana*. Therefore, the use of an entomopathogenic fungus such as *B. bassiana* as an endophyte has the potential to reduce pesticide applications in potato production as well as to create an alternative and sustainable plant protection strategy.

KEYWORDS: *Beauveria bassiana*, Biological control, Endophyte, Potato, *Phytophthora infestans*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1 Patates’te <i>Phytophthora infestans</i> Hastalığı Konusunda Yapılan Çalışmalar	6
2.2 <i>Phytophthora infestans</i> ’ın Mücadelesi Konusunda Yapılan Çalışmalar	8
2.3 Entomopatojen Fungus <i>Beauveria bassiana</i> Hakkında Yapılan Çalışmalar ..	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1 Materyal.....	13
3.1.1 Çalışmada Kullanılan Patojen Fungus İzolatları	13
3.1.2 Çalışmada Kullanılan Bitkisel Materyal	13
3.1.3 Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri	13
3.2 Yöntemler	14
3.2.1 Kullanılan Besi Yerler	14
3.2.2 Re-izolasyon Çalışmalarında Kullanmak Üzere Kültürlerin Geliştirilmesi.....	15
3.2.3 Bitki Yetiştirme Koşul ve Ortamı.....	17
3.2.4 Bitki Büyütme	17
3.2.5 İnokulum Üretimi	18
3.2.6 <i>Beauveria bassiana</i> ’ nın Spor Süspansiyonunun Hazırlanması ve Uygulanması	19
3.2.7 <i>Phytophthora infestans</i> ’ın Spor Süspansiyonunun Hazırlanması ve Uygulanması	20

3.2.8 Hastalık Değerlendirmesi	23
3.2.9 Endofitik Kolonizasyonunun Değerlendirmesi	24
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	33
7. KAYNAKLAR.....	34



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. FAO verilerine göre Dünyada patates üretimi ve alanı	2
Şekil 1.2. TÜİK verilerine göre Türkiye’de patates üretimi ve alanı	2
Şekil 3.1. a) Küvette ıslatılan çavdar b) Karanlık ortama alınması için hazırlanan çavdar.....	15
Şekil 3.2. a) <i>Phytophthora infestans</i> izolatının bistürü ile ortamdan alınması b) Steril kurutma kağıdında dilimlenen patatesler.....	16
Şekil 3.3. İnkübasyona bırakılan; a) 13_A2 izolatın patatesteki gelişimi b) 34_A1 izolatın patatesteki gelişimi c) 37_A2 izolatın patatesteki gelişimi	16
Şekil 3.4. a) Rye B ortamından alınan diskler b,c) Petri kabında ekilen <i>Phytophthora infestans</i> diskleri d) <i>Phytophthora infestans</i> ’ın gelişimi	17
Şekil 3.5. İklim odasında filizlenmesi için bekletilen yumrular	17
Şekil 3.6. a) Yumruların torfa dikimi b) Kontrollü iklim odasında büyütülmeye bırakılan yumrular	18
Şekil 3.7. a) 37_A2 izolatının yapraklarda gelişimi b) 34_A1 izolatının yapraklarda gelişimi c) 13_A2 izolatının yapraklarda gelişimi	19
Şekil 3.8. <i>Beauveria bassiana</i> spor süspansiyonunun yapraklardaki görünümü19	
Şekil 3.9. <i>Beauveria bassiana</i> spor süspansiyonlu bitkilerin iklim odasındaki görüntüsü.....	20
Şekil 3.10. <i>Phytophthora infestans</i> (37_A2) spor süspansiyonu uygulanan 3. gün bitkileri	21
Şekil 3.11. <i>Phytophthora infestans</i> (13_A2) spor süspansiyonu uygulanan 3. gün bitkileri	21
Şekil 3.12. <i>Phytophthora infestans</i> (34_A1) spor süspansiyonu uygulanan 3. gün bitkileri	21
Şekil 3.13. <i>Phytophthora infestans</i> (13_A2) spor süspansiyonu uygulanan 7. gün bitkileri	22
Şekil 3.14. <i>Phytophthora infestans</i> (34_A1) spor süspansiyonu uygulanan 7. gün bitkileri	22
Şekil 3.15. <i>Phytophthora infestans</i> (37_A2) spor süspansiyonu uygulanan 7. gün bitkileri	22
Şekil 3.16. a) 37_A2 kontrol bitkisi b) 37_A2 bitkisine ait hastalık şiddetinin görünümü	24
Şekil 3.17. Yapraklara yüzey dezenfeksiyonunun yapılma işlemi	25
Şekil 3.18. a, b) Steril kurutma kağıdında kurutulan yapraklar	25
Şekil 3.19. Fungus delici ile delinen yaprak diskleri	25
Şekil 3.20. a) Yaprak diski b) PDA ortamına ekilen yaprak diskleri c) Petri kaplarına alınan yaprak disklerin hazırlanması	26
Şekil 3.21. PDA ortamına ekilen 13_A2, 37_A2 ve 34_A1 izolatları.....	26
Şekil 4.1. 3. gün patates bitkisine ait ağırlık; a) yaprak ağırlığı b) gövde ağırlığı c) bitki ağırlığı.....	28
Şekil 4.2. 7. gün patates bitkisine ait ağırlık; a) bitki ağırlığı b) yaprak ağırlığı c) gövde ağırlığı	29
Şekil 4.3. <i>Beauveria bassiana</i> ’nın endofitik kolonizasyonunun <i>Phytophthora infestans</i> (13_A2) klonal soyuna karşı etkililiği	31

Şekil 4.4. <i>Beauveria bassiana</i> 'nın endofitik kolonizasyonunun <i>Phytophthora infestans</i> (34_A1) klonal soyuna karşı etkililiği	31
Şekil 4.5. <i>Beauveria bassiana</i> 'nın endofitik kolonizasyonunun <i>Phytophthora infestans</i> (37_A2) klonal soyuna karşı etkililiği	31



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1. Test patojenlerine ait izolat numarası, eşleşme tipi ve lokasyon bilgileri	13
Tablo 3.2. Kullanılan besi yerler için gerekli kimyasallar ve miktarlar.....	14
Tablo 3.3. <i>Beauveria bassiana</i> inokulasyonundan sonra <i>Phytophthora infestans</i> inokulasyonunun değerlendirmesi için kullanılan 0-5 ıskalas1.....	23
Tablo 4.1. <i>Beauveria bassiana</i> uygulamasından 3 ve 7 gün sonra gerçekleştirilen <i>Phytophthora infestans</i> klonal soy inokulasyonlarında ölçülen ortalama hastalık şiddeti ve % etkililik değerleri.....	27
Tablo 4.2. <i>Beauveria bassiana</i> uygulamasından 3 gün sonra gerçekleştirilen <i>Phytophthora infestans</i> klonal soy inokulasyonlarında ölçülen bazı bitki büyüme parametresi değerleri.....	28
Tablo 4.3. <i>Beauveria bassiana</i> uygulamasından 7 gün sonra gerçekleştirilen <i>Phytophthora infestans</i> klonal soy inokulasyonlarında ölçülen bazı bitki büyüme parametresi değerleri.....	30

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

<i>B. bassiana</i>	: <i>Beauveria bassiana</i>
<i>P. infestans</i>	: <i>Phytophthora infestans</i>
DNA	: Deksiribo nükleik asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
vd.	: ve diğerleri
da	: Dekar
ha	: Hektar
gr	: Gram
kg	: Kilogram
L	: Litre
cm	: Santimetre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
°C	: Sıcaklık birimi
%	:Yüzde
NAOCI	: Sodyum peroksit
PDA	: Patates dekstroza agar

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin her aşamasında yardımlarını ve fikirlerini benden esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Erhan GÖRE'ye teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarımda maddi ve manevi olarak hep yanımda olan değerleri hocam Dç. Dr. Aysun ÇAVUŞOĞLU'na teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi yüksek lisans tez arkadaşlarım Ebru KURTARICI'ya ve Asiye CENDEK'e teşekkür ederim.

Hayatımın her anında maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen her zaman yanımda olan değerli aileme sonsuz teşekkür ederim.

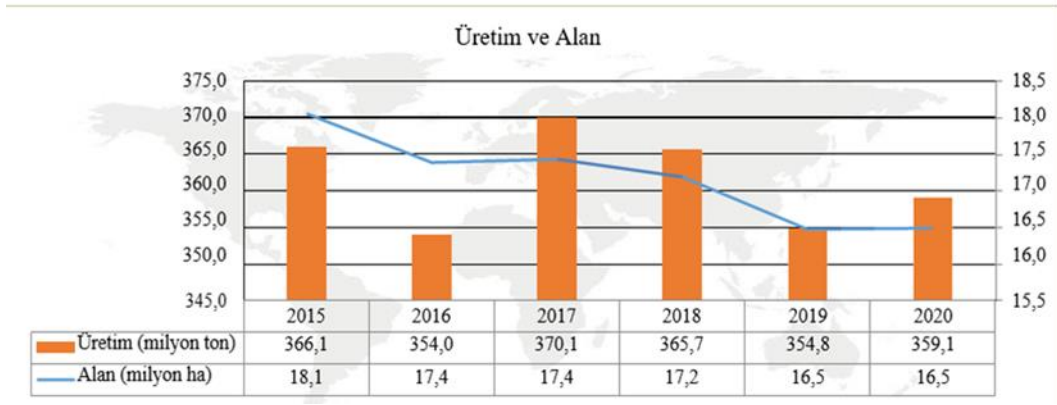
1. GİRİŞ

Patates, (*Solanum tuberosum*), Solanaceae (Patlıcangiller) familyasına bağlı yumruları yenen tek yıllık bir kültür bitkisidir. *Solanum* cinsinin 2000 kadar türü olmakla birlikte bunların yaklaşık 160-180 kadarı yumru oluşturma özelliğine sahiptir. İnsan beslenmesinde *Solanum* cinsinin sekiz türü gıda kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bunlardan dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılanı *Solanum tuberosum* 'dur (Rowe, 1993).

Solanum tuberosum insan beslenmesinde besin değerinin yüksek olması, sindirim kolaylığı sağlaması ve içeriğinde antioksidan değerinin yüksek miktarda bulunması nedeniyle daha fazla tercih edilen bir bitki türüdür. Ayrıca karbonhidrat, protein ve mineral bakımından zengin maddeler bulundurması dünya genelinde yaygın kullanılmasında rol oynamaktadır.

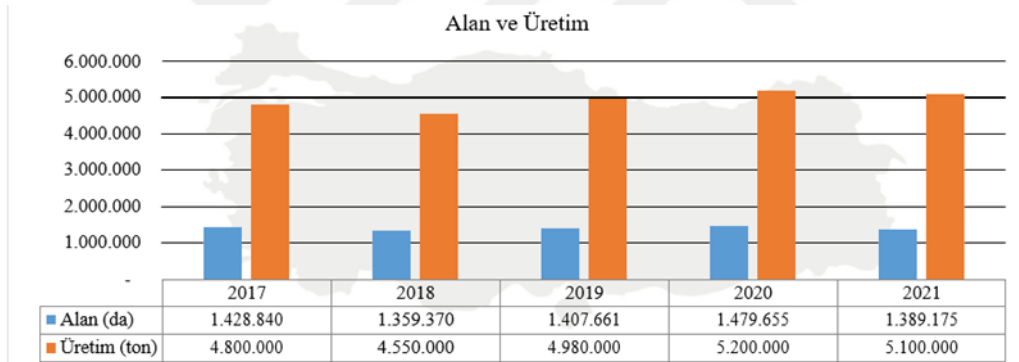
Güney Amerika kıtasının yüksek kesimlerinde yabani bir tür olarak keşfedilen patates yaklaşık 8000 yıl önce Peru sınırındaki Andes Dağları'nın vahşi doğasında yetişmekte ve buradan Kolombiya ve Venezuela'ya oradan da Şili ve Kuzey Arjantin'e gelmiştir (Cabieses, 2001). En sonunda tüm türler Peru'da ekilmeye başlanmıştır. Amerika kıtasının keşfedilmesiyle dünyanın diğer bölgelerinde de yayılan patates ilk olarak Avrupa kıtasında kültüre alınmıştır. Ülkemize ise Avrupa'da kültüre alınması ile batı bölgelerine 150 yıl kadar önce girdiği ve doğu bölgelerine ise Rusya ve Kafkasya üzerinden geldiği bilinmektedir. Bugün ülkenin hemen her yerinde yetiştirilebilmekle birlikte, özellikle Orta Anadolu'da önemli bir konumdadır (Hawkes, 1992).

Patates tüketim alanlarının geniş olması nedeniyle dünyadaki üretimde artış meydana gelmektedir. 2020 FAO verilerine göre yıllık patates ekim alanı 16,5 milyon ton hektarlık bir alandan 359 milyon ton patates üretilirken, ortalama verim 2,177 kg/da bilinmektedir. Yıllar itibari ile üretimde %22 Çin, %14 Hindistan %6 Ukrayna ve %5 Rusya pay almaktadır. Türkiye %1'lik pay ile dünya patates üretiminde 16. sırada yer almaktadır (FAO, 2020).



Şekil 1.1. FAO verilerine göre Dünyada patates üretimi ve alanı

Türkiye de ise yıllık patates ekim alanı 139 bin hektarlık alandan 5,1 milyon ton patates üretirken ortalama verim 3,514 kg/da bilinmektedir (TÜİK, 2020/2021).



Şekil 1.2. TÜİK verilerine göre Türkiye’de patates üretimi ve alanı

Patates yumrusu toprağa ekildiğinde yumru üzerindeki gözlerin tomurcuklanması ile toprak altında kök, stolon ve yumrular oluşturur, toprakta iken; saplar, yapraklar, çiçekler, meyveler ve tohumlar oluşturur (Anonim, 2022; Kumar, ve Knowles, 1993; Husey vd., 1981). Yumrular hariç boyu 70-80 cm uzunluğa kadar uzayan beyazımsı-pembemsi çiçekleri olan bir bitkidir. Toprak tercihi açısından hafif kumlu toprakları sever. Toprak sıcaklığı 8-10 °C'ye ulaştığında ve geç donların sona ermesiyle ekim yapılır. Ayrıca ekildiği toprakların pH değeri 5 ila 7,5 olması ve hafif asidik olması tercih edilmektedir (Anonim, 2022; Kumar ve Knowles, 1993; Vreugdenhil ve Struik, 1989; Reddy vd., 2018).

Verim potansiyeli yüksek olan patates bitkisinin biyotik ve abiyotik stres faktörü, istenilen verim değerlerine ulaşmasını engellemektedir. Bitkinin üretimini tehdit eden 100'den fazla hastalık bulunmaktadır (Göre, 2019). Bitkide geç yanıklık hastalığı olarak bilinen *Phytophthora infestans* (Montague) de Bary şiddetli durumlarda bitki üst aksamalarının çürümelerine neden olmaktadır (Akino vd., 2014; Yogendra vd., 2015). Patateste büyük bir tehdit olmaya devam eden geç yanıklık hastalığı 6 milyar dolardan fazla olduğu tahmin edilen küresel bir maliyet taşımaktadır. Etmen 1845-1847 yılları arasında İrlanda da patates kıtlığına neden olduğu ve insanlık tarihinde büyük tahriplere yol açtığı bilinmektedir (Goss vd., 2014; Ristaino, 2002).

Phytophthora infestans adı, 1876'da Alman mikolog Heinrich Anton de Bary (1831-1888) tarafından keşfedildi (Rastogi vd., 2021). Hastalık Avrupa da 1840 yıllarından beri bilinir. Ülkemizde Karadeniz bölgesinde hastalık daha çok yaygındır. Hastalık her yıl Trabzon, Bolu, Ordu, Gümüşhane, Rize ve Çorum illerinde görülebilmektedir. Patates tarımının yapıldığı Doğu ve iç Anadolu Bölgesindeki illerin bahar ve yaz aylarında yağış alan kesimlerinde hastalığın yüksek olma ihtimali çoktur. Kuzey Avrupanın serin, nemli ve yağışlı bölgelerinde hastalık her zaman görülür ve % 8-10 arasında verim kaybına neden olmaktadır. Örneğin; İngiltere ' de yağışlı havalarda verim kaybı %16 bulunurken kurak yıllarda % 2 oranında bulunmuştur. Epidemiyoluşan yıllarda ise % 70 'e varan ürün kaybına neden olmaktadır.

Patates geç yanıklık etmeni *P. infestans* bir oomycete patojenidir (Judelson vd., 1991). Gerçek mantarların aksine hücre duvarlarında kitin yerine selüloz içerir ve hareketli zoosporlar üretir. Organizma, gerçek mantarlardan çok kahverengi alglerle daha yakından ilişkilidir. *P. infestans* ağırlıklı olarak aseksüel (klonal) olarak çoğalır (Hu vd., 2012) ve enfekte olmuş konukçu doku üzerinde sporangioforlar üzerinde sporangium oluşturur (Fry, 2018) bunlar ya doğrudan enfeksiyon hifleri oluşturmak için çimlenir ya da daha fazla enfeksiyonlardan sorumlu zoosporları serbest bırakır. Patojen tipik olarak, baskın olduğunda enfekte patates yumruları ve döküntüler üzerinde miselyum olarak mevsimden mevsime hayatta kalır. Enfekteli yumrular önemli bir inokulum kaynağıdır ve sonraki patates mahsullerinde salgın gelişimine katkıda bulunmaktadır (Ristaino, 2002).

Patojen doğada çeşitli ortamlarda yaygın olarak görüldüğü bilinmektedir. Nemli ve serin ortamlar tercih etmektedir. Enfeksiyon için optimum sıcaklık 12-18 °C arasındadır. Ancak zoospor üretimi 15 °C'nin altındaki sıcaklıklarda tercih edilir. Lezyon büyüme hızları tipik olarak 20 ila 24 °C sıcaklık aralığında optimaldir. İdeal koşullar altında patojen yaklaşık beş gün içinde patates yapraklarındaki yaşam döngüsünü tamamlar. 2 gün veya daha uzun süre sıcaklık 10 °C'nin üzerinde ve nem %80'in üzerinde olduğunda, yapraklarda sporangium gelişir ve üretim alanına yayılır. Nemli koşullarda, yaprakların altında beyaz küf oluşur ve tüm bitki hızla ölür (Anonim, 2022).

Genellikle patojenin bitkide yaptığı hastalık kimyasal madde kullanımıyla kontrol altına alınmaktadır. Ancak bunların yaygın kullanımı çevreye zararlı olduğu ve kullanılan ilaçların dayanıklılık riskinin ortaya çıktığı bilinmektedir (Gutam vd., 2018). Artık yeni kimyasal moleküllerin geliştirilmesi sonucunda sıkıntılarının ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir. İnsan ve çevre sağlığı toplumumuzda daha güncel olması ve herkesin duyarlı davranması nedeniyle bitki koruma alternatiflerinden insan ve çevre dostu olan biyolojik savaşa yönelim oldukça artmaya başlamaktadır. Biyolojik savaşların kullanımı çevre zararını en aza indirgeyen yöntemle sahip olması, insan sağlığını tetikleyecek unsurları daha az barındırması, kullanımının daha yaygın olması nedeniyle tercih edilmektedir. Ayrıca biyolojik savaş oldukça fazla adından bahsetmekte ve biyolojik savaşın birçok avantajları bulunmaktadır. Bu nedenle biyolojik savaşımından entomopatojen funguslar günümüzde hem hastalıkların yayılmasıyla mücadele etmek hem de mahsul veya hasat edilen mahsul kaybını azaltmak için biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılmaya başlamaktadır (Valero vd., 2016; Burge, 1988).

İnsan ve çevre dostu alternatiflerden biyolojik mücadele, bitki hastalıklarının kontrol altına alınmasında olanak sağladığı bilinmektedir. Biyolojik savaş bazı hastalıkların kontrolünde ön plandadır. Biyolojik savaşların çevreye zararının az olması, maliyet düşüklüğü, faydalı organizmalara karşı zararlı yan etkilerin olmaması, kimyasal kalıntının az ve ekosistemlerde geleneksel insektisitlere göre çeşitli avantajlara sahip olması kullanım açısından tercih edilmektedir (Mantzoukas ve Eliopoulos 2020; Vega 2018).

Entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* böceklerin kontrolünde yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir (Pedrini, 2022). Ancak bu etmenin bazı fitopatolojik hastalıkların kontrolünde de başarılı olduğu bazı yayınlarda bildirilmektedir. Bizde bu çalışmada bu etmenin bu yeteneğinin *P. infestans*'a karşı çalışıp çalışmadığını ortaya koymaya çalışılmaktadır.

Entomopatojen fungus grubundan biri olan *Beauveria bassiana*, (Ascomycota: Hypocreales), biyolojik bir insektisit olarak, bitkilerde önemli hasara neden olan türleri kontrol altına almak için kullanılmaktadır. Kozmopolit ascomycete fungusu *B. bassiana*, toprak, bitkiler ve böcekler dahil olmak üzere çeşitli ortamlardan yararlanma yeteneğine sahiptir. Fungus toprakta saprofit ve bitkilerde endofit olarak yaşayabildiği bilinmektedir (Boomsma vd., 2014; Ownley vd., 2004).

Bu çalışmanın amacı biyolojik savaş ajanı olarak entomopatojen bir fungus olan *Beauveria bassiana*'nın *Phytophthora. infestans*'ın kontrolünde kullanıp kullanılmayacağını ortaya koymaktır. Bununla ilgili herhangi bir bilgi olmadığı için bu çalışma özgün bir çalışma olmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Patates'te *Phytophthora infestans* Hastalığı Konusunda Yapılan Çalışmalar

Tanımlanan birçok *Phytophthora* türü arasında, *Phytophthora infestans* (Montague) de Bary, 1840'lardaki İrlanda patates kıtlığının hastalık etmeni olarak ün salmıştır (Akino vd., 2014).

Güney Amerika'da önemli bir patates hastalığı olan *Phytophthora infestans* ilk olarak Peru ve And dağlarında 1920'lerde bulunduğu bilinmektedir. (Abad ve Abad, 1995). Meksika'nın orta dağlık bölgeleri, patates geç yanıklık patojeninin merkezi olarak kabul edilir. Meksika ve Güney Amerika'da yürütülen son çalışmalarda, *Phytophthora infestans* ve diğer ilgili *Phytophthora* patojenlerinin biyolojisi ve evrimine yeni bilgiler ortaya konulmaktadır. (Grünwald vd., 2005).

Dünya çapında patates ve domates üretimini tehdit eden *Phytophthora infestans* uzun vadeli hastalık kontrolünü sağlamak amacıyla önemli ölçüde uygulamalı araştırmalar gerçekleştirilmektedir. *Phytophthora infestans* evriminin mekanizmalarını, süreçlerini ve oranlarını anlamak, yeni yönetim uygulamalarının etkinliğini ve dayanıklılığını tahmin etmede önemli bir faktördür. Bu amaca ulaşmak için bir dizi fenotipik ve genotipik çalışma yapılmaktadır. Ancak her birinin sınırları vardır ve yeni yöntemler aranılmaktadır (Cooke vd., 2004).

Patojenlerin genetiği şekillendirmede oynadığı rolü anlamak bitki popülasyonlarının ve topluluklarının yapısı, patojenlerin çeşitliliğinin, kökenlerinin ve patojenler ile konukçuları arasında meydana gelen evrimsel etkileşimin anlaşılması gerekilmiştir (Burdon Silk, 1997).

Bu mantar patojeni, dünya çapında birçok bitkinin tahrip olmasına neden olmaktadır. Hawaii Üniversitesinde yapılan tetkiklerde serin, yağmurlu ve nemli koşulların yaşandığı yerlerde şiddetli olabildiğini tespit edilmiştir. Hassas bitkiler için bunların hakim olduğu yerler veya mevsimlerden kaçınılması gerektiği belirtilmiştir (Nelson vd., 2008).

Hastalığın kontrolünde dayanıklı çeşitlerde önemlidir bununla ilgili yürütülen çalışmalarda bulunmaktadır. Dayanıklı çeşit geliştirme çalışmalarında birçok klonal soy bulunduğu için bu klonal soylara karşı çeşitlerinin reaksiyonunda yürütülmesi gerekmektedir. Bu nedenle geç yanıklık patojeni *Phytophthora infestans*'a karşı direnci yüksek bir patates çeşidi olan Sarpo Mira, ticari çeşitlerde geç yanıklık direncini artırmak için ıslah programlarında kullanılmıştır. *Phytophthora infestans* direnci için önemli olan genlerin keşfedilmesinde yeni dayanıklı çeşitlerinin moleküler belirteçlerin geliştirilmesine yardımcı olduğu belirtilmiştir. Dayanıklı çeşitlerin kullanımı, pestisitlerin kullanımıyla ilişkili çevresel, sağlık ve finansal maliyetleri de azalttığı tespit edilmiştir. Enfeksiyonun çok erken aşamalarında dirençli çeşitte daha yüksek seviyelerde önemli ölçüde indüklendiğini bildirmiştir (Orlowska vd., 2012).

Phytophthora infestans'ın neden olduğu epidemide patates geç yanıklığı, ciddi bir patates hastalığı olmaya devam etmekte ve yağışlı nemli koşullarda sporlasyon ve enfeksiyon yapabildiği tüm hastalıklarda hızla yayılmaktadır. (Harrison vd., 1989) yapmış oldukları araştırmada, ayrılmış patates yaprakları ve bütün bitkiler etrafındaki nem, hava hızı ve sıcaklığın kontrolünü araştırmıştır. *Phytophthora infestans* ile inokulum edilen yapraklar ve bitkiler, 15°C'de havada inkube edilmiştir. Bol miktarda sporangiumun ortam nemi %90-100 orantılı nem olduğunda, ancak %85 veya %80 bağıl nemde değilken $0,3 \times 10^{-3}$ m/s hava hızında oluştuğunu belirtmiştir. $5,5 \times 10^{-3}$ ve $13,7 \times 10^{-3}$ m/s hava hızlarında, %100 RH'de çok sayıda sporangia varmış, ancak %95-80 RH'de yokmuş. $5,5 \times 10^{-3}$ akan havada tutulan yaprakçıklarda oluşan sporangia sayısı her biri günde 12 saat boyunca değişen %80 ve %100 orantılı nem ile m/s, sürekli olarak her bir nemde inkube edilen yapraklarda oluşan sayılar arasında orta düzeydeymiş ve sabit bir %90 orantılı nemde oluşan sayılardan daha yüksekmiş. İnokulumdan önce bitkilerden yaprakların alınması, üretilen sporangia sayısını etkilemediğini bildirmişlerdir.

Phytophthora infestans'ın biyolojik kontrolünde *Bacillus subtilis*'un kontrol sağlanabilecek seçenekler arasında olduğu bilinmektedir. Kumbar vd, (2019), patatesten *Phytophthora infestans*'ın neden olduğu geç yanıklık hastalığını kontrol etmek için dört *Bacillus subtilis* izolatlarını tarlada uygulamışlardır.

Sonuçlar, bakteriyel tedavilerin kontrole kıyasla geç yanıklık hastalık insidansını önemli ölçüde azalttığını ortaya koyduğunu bildirmişlerdir.

2.2 *Phytophthora infestans*'ın Mücadelesi Konusunda Yapılan Çalışmalar

150 yılı aşkın bir süredir insanoğlu *Phytophthora infestans* ile mücadele etmektedir. Bununla birlikte, ilgili yöntemlerin geniş kullanımına rağmen, girişimlerin çoğu yeterince etkili olamamaktadır. Bu patojen her yıl dünya çapında tarımda büyük kayıplara neden olmaktadır. *P. infestans*, birçok patojenik organizma gibi konukçunun fizyolojisini değiştirebilen, bağışıklık ile mücadele edebilen ve epidemiyi kolaylaştırabilen yapıya sahip olması nedeniyle mücadelede zorlanılmaktadır. *Phytophthora infestans*'a karşı en yaygın araç olan fungusitlerin belirli dezavantajları bulunmaktadır. Günümüzde fungusitlerin yüksek fiyatlı olması, organik tarımda kullanımının yasaklanması, ekosistem ve sağlık için potansiyel bir risk taşıması ve dirençli konukçuların ortaya çıkmasında büyük risk taşımaktadır (İvanov vd., 2021).

Phytophthora infestans birçok üretim alanında büyük zararlara yol açtığı ve kontrolün sık sık fungusit uygulanması ile mümkün olduğu bilinmektedir. Ancak fungusit uygulanmasıyla geç yanıklığın etkisi önemli ölçüde azaldığı ve tarımda toprak, su ve enerji gibi kaynakların sürdürülebilirliği daha başarılı bir şekilde yönetildiği bilinmektedir. (Haverkort vd., 2009).

Hollanda'da yapılan bir çalışmada organik patates tarımında *Phytophthora infestans*'ın neden olduğu şiddetli geç yanıklık saldırıları ile sınırlı olduğu bildirilmiştir. Hollanda geç yanıklık yönetmeliği uyarınca, epidemi başlangıcının tespit edilmesi sonucunda patojeni öldürmek zorunlu hale geldiği belirtilmiştir. Bununla birlikte mücadelede birinci öncelik, Hollanda'da organik patates üretimini korumak için yüksek dirençli çeşitlerin yetiştirilmesinde gerektiği ve patojenin kontrol altına alma yöntemleri arasında olduğunu bildirmişlerdir. Hollanda da organik tarımının artık geleneksel yetiştirme yöntemlerine göre geliştirdiklerini ve faaliyetlerini organik tarıma göre belirleyeceklerini belirtmişlerdir. Besin verimliliği gibi geç yanıklık direnci dışındaki gerekli

özellikleri dahil etmek için ek seçim yöntemlerinin geliştirilmesi gerektiğini de belirtmişler (Lammerts van Bueren vd., 2008).

2.3 Entomopatojen Fungus *Beauveria bassiana* Hakkında Yapılan Çalışmalar

Endofit teriminin çeşitli tanımları olmasına rağmen, endofitlerin herhangi bir belirgin semptoma neden olmadan bitki dokularında bulunan mikroorganizmalar olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Senthilkumar vd., 2011). Fungus endofitleri yaygın ve doğada oldukça çeşitlidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde *B. bassiana*'nın bir mantar endofiti olarak izolasyonu, birçok bitki için doğal koşullar altında ve ayrıca çeşitli yöntemler kullanılarak inoküle edilen bitkilerde rapor edilmiştir (Bonnie ark., 2010). Her yerde bulunan entomopatojen funguslar, hastalığa neden olmadan sağlıklı bitki dokularında yaşamaktadır. Fungus biyoçeşitliliğinde önemli, ancak çoğu zaman gözden kaçan bileşenleri olan endofitler bugüne kadar incelenen birçok bitki türünde de bulunduğu bildirilmektedir (Arnold vd., 2002).

Bu mantarlar için bitki hastalıklarını bastırmanın birincil mekanizmaları farklıdır. Bir dizi biyoaktif metabolit üreten ve in vitro koşullarda bitki patojenlerinin büyümesini sınırlayan *Beauveria* spp. bunlardan birisidir. Bitki testlerinde *B. bassiana*'nın, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Fusarium* gibi toprak kökenli olan bitki patojenlerinin neden olduğu hastalıkları azalttığı rapor edilmiştir. Çok çeşitli bitki türlerini endofitik olarak hem monokot hem de dikot olmak üzere kolonize edebilmiştir. Ayrıca, endofitik olarak kolonize edilmiş pamuk fideleri, yapraklar üzerinde bir bakteriyel bitki patojeni ile tehdit edildiğinde sistemik direnci indüklemiştir. (Ownley vd., 2010).

Subbana vd. (2019), geçmişten günümüze kadar yoğun monokültürler nedeniyle, düzenli olarak yüksek dozda kimyasal böcek ilacı kullanımından kaçınıldığını belirtmiştir. Hem entomopatojen mantarların hem de kimyasal pestisitlerin birlikte kullanılmasının çevre riskini azalttığı da bildirilmektedir.. Çeşitli araştırmalar sonucunda, kombine kullanımda bağımsız uygulamalara göre daha verimli sinerjistik etkileşimler bildirilmiştir. En önemlisi, sinerjiden

kaynaklanan birleşik uygulama, böcek sorununu etkili bir şekilde çözebilmekte ve ayrıca belirli bir ekosistemde bir entomopatojenin oluşmasına yardımcı olmuştur. Çevre dostu entomopatojenler konukçuya bir kez yerleştikten sonra biriken böcek popülasyonunu etkili bir şekilde yönetebilmekte ve yıllar içinde pestisit kullanımında uygulama sayısını azaltabildiği bildirilmektedir.

Vidal vd. (2015), yapmış oldukları çalışmada entomopatojen fungusların bitki dokularında herhangi bir semptoma uğramadan endofitik olarak kolonize olduğunu bildirilmektedir. Elde edilen verilerinde büyük bölümünde endofitik fungus olarak *Beauveria bassiana*'nın bitki dokularını endofitik olarak kolonize ettiği de belirtilmiştir.

Akello vd. (2009), inokulum yöntemine bağlı olarak *B. bassiana*'nın doku kültürü muz bitkileri ile endofitik bir ilişki kurabildiğini ve muzda *Cosmopolites sordidus* zararlısına karşı alternatif bir yöntem sağlayabileceğini bildirmiştir. Bitkiler üç *Beauveria bassiana* izolatına (G41, S204 ve WA) daldırma yöntemiyle inoküle edilmiş ve yaklaşık bir ay sonra muz bitkisi üzerinde %96,7 oranında başarı elde edilmiştir. Bitkileri konidial bir süspansiyona daldırma işlemi ile bitki büyümesi veya hayatta kalması üzerinde hiçbir olumsuz etki olmadan en yüksek endofitik kolonizasyon sağlanmıştır. Çalışma sonucunda *Beauveria bassiana* G41 izolatı, bitkilere daldırıldığında en iyi endofitik yeteneğinin olduğu saptanmıştır.

Entomopatojen özellikleri ile bilinen *Beauveria bassiana* birçok böcek zararlısına karşı en yaygın kullanılan mantar türüdür (Ownley vd., 2010). Nishi vd. (2021), yapmış olduğu çalışmada entomopatojen fungus *Beauveria bassiana* GHA izolatı tarafından domates bitkilerinin epifitik ve endofitik kolonizasyonunu araştırmıştır. Toprak kökenli patojenlere karşı da etkili olabildiğini ve herhangi bir semptoma neden olmadan çeşitli bitki türlerinin yüzeylerinde veya iç dokularında yaşadığı bildirilmiştir. Bu nedenle, *B. bassiana*'nın ticari bir mikrobiyal insektisit bileşeni olan GHA izolatı domates bitkilerini kolonize etmiştir. Yüksek nemde domatesin sağlam yaprak yüzeylerinde büyüyen GHA izolatı stomaya girmediği tespit edilmiştir. Değerlendirme sonucunda canlı hif ve konidia tespit edilmiştir. İnokulumundan 14 gün sonrasına kadar yapraklar üzerindeki popülasyon önemli ölçüde artış sağladığı belirlenmiştir. Bu bulgular, epifitik ve endofitik

kolonizasyon oluşturacak *B. bassiana* GHA izolatının domates bitkilerinde kolonize edebildiğini göstermiştir.

Lewis vd. (1991), mısır tarlalarında ekonomik zarara yol açan *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae)'in endofitik *Beauveria bassiana* tarafından baskılandığını bildirmiştir. *Beauveria bassiana* mısır bitkilerine, *Zea mays* L., granüler bir konidia formülasyonunun yaprağa uygulanması ve bir konidial süspansiyonun enjeksiyonu yoluyla uygulanmıştır. Bitki hasatında *B. bassiana*'nın varlığı ve laboratuvarında yetiştirilen Avrupa mısır kurdu larvası *Ostrinia nubilalis* (Hübner) tarafından tünel açma miktarı açısından analiz edilmiştir. 1989 yılın da yaprakтан muamele edilen bitkilerin %98,3' ü, enjekte edilen bitkilerin %95,0'ı ve muamele edilmeyen bitkilerin %33,3'ü *B. bassiana* tarafından kolonize edilmiştir. Araştırmanın sonucunda yapraklara uygulandığında, *B. bassiana* izolatın en yüksek miktarda *O. nubilalis*'i baskıladığı belirlenmiştir.

Posada vd. (2006), kahve fidelerinin (*Coffea arabica* L.) fungal entomopatojen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) ile inokule edilmesiyle endofitik kolonizasyonu testlenmiştir. *Beauveria bassiana*'nın, spor süspansiyonları ile inokule edilmiş kahve fidelerine endofit olarak yerleştiğini belirtmiştir. *Beauveria bassiana*'nın, inokulumdan 30 ve 60 gün sonra gövdelerden, yapraklardan ve köklerden bir endofit olarak geri kazanıldığı bildirilmiştir.

Ownley vd. (2008), yapmış olduğu çalışmada *Beauveria bassiana* 11-98'in tohum uygulaması ile domates ve pamuk fidelerinde endofitik kolonizasyonunu tespit edilmiştir. Bitki patojeni *Rhizoctonia solani* ve *Pythium myriotylum*'a karşı koruma ile sonuçlandığını bildirmiştir. Her iki patojen de fidelerin kurummasına ve yaşlı bitkilerin kök çürümesine neden olduğu tespit edilmiştir. Seçici ortam üzerine standart kaplama teknikleri kullanılarak, endofitik 11-98, *B. bassiana* ile muamele edilmiştir. *Beauveria bassiana* 11-98'den DNA içeren pamuk numunelerinde mantar, 1:1000 DNA oranlarında belirlenmiştir. *Beauveria bassiana* 11-98 ile muamele edilmiş tohumdan yetiştirilen fidelerde de tespit edilmiştir. Parazitizm analizlerinde, *B. bassiana* 11-98'in hiflerinin *Pythium myriotylum*'un hifleri etrafında kıvrıldığı gözlenmiştir.

Yapılan çalışmalara göre entomopatojen fungusların, insanlar üzerinde olumsuz etkilerinin olmadığını, kullanımında ise; çevreye ve hedef olmayan organizmalara karşı minimum seviyede zararlı olduğu tespit edilmiştir. Bitki koruma yöntemlerinden kimyasal mücadeleye göre daha çok tercih edilmeli ve biyolojik mücadelede de güvenilir bir insektisit olarak kullanılması gerektiği belirtilmiştir.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nün Fitopatoloji Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Patojen Fungus İzolatları

Bu çalışmada, 13_A2, 34_A1 ve 37_A2 klonal soylarını sırasıyla 1,94 ve 64 nolu *P. infestans* izolatları kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan klonal soylar ile *Beauveria bassiana* B.A.İ.B.Ü.Z.F Bitki Koruma Bölümü Mikoloji laboratuvarı kültür stoklarından alınmıştır.

Tablo 3.1. Test patojenlerine ait izolat numarası, eşleşme tipi ve lokasyon bilgileri

Klonal Soylar	İzolat numarası	Eşleşme tipi	Lokasyon
13_A2	1	A2	İzmir-Ödemiş-Gereli
34_A1	94	A1	Afyon-Sandıklı-Alamescit
37_A2	69	A2	Bursa-İnegöl-Cerrah

3.1.2 Çalışmada Kullanılan Bitkisel Materyal

Türkiye’de patates yetiştirme alanlarında yaygın olarak kullanılan Agria çeşidi Tekfen Tarımsal Araştırma Üretim ve Pazarlama A.Ş.’den 2021 yılının Aralık ayında temin edilmiş ve çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

3.1.3 Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri

Patojen izolasyonunu ve inokulum üretimini arttırmak için Rye A ortamı ve spor oranının bol verilmesi gereken durumlarda Rye B ortamı kullanılmıştır. Hastalıklı bitki dokularının sporulasyonu için %1,5 ’luk su agar ortamından yararlanılmıştır.

Tablo 3.2. Kullanılan besi yerler için gerekli kimyasallar ve miktarlar

	Kimyasal ismi	Miktar
Rye A agar	Çavdar	60 g
	Sakkaroz	20 g
	Bacto-agar	15 g
	rifampisin	50 mg/L
	Saf su	1 lt
Rye B agar	Kaynatılmış Rye suyu	200 ml
	Sakkaroz	20 g
	Bacto-agar	15 g
	β -sitosterol çözeltisi	0.050 g/L
	rifampisin	50 mg/L
	Saf su	1 lt
%2 'lik su agar	Saf su	1 L
	Agar	15 g

3.2 Yöntemler

3.2.1 Kullanılan Besi Yerler

3.2.1.1 RYE-A ORTAMI

60 g çavdar (Rye) tartılarak bir kaba alınıp, üzerine 75 ml saf su ilave edilerek ağız kısmı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Karanlık bir ortamda 24 saat bekletilmiştir. 24 saat boyunca kapta çimlendirilen çavdar erlenmayere alınarak üzerine 1-2 cm geçecek kadar saf su ilave edilmiştir. Yaklaşık 1 saat kaynatılmaya bırakılmıştır. Fermente olan çavdar suyu tülbentten süzülerek 1 litrelik bir otoklav şişesine alınmıştır. (200 ml). Şişe içerisine 20 g sakkaroz, 15 gr Bacto-agar ilave edilerek 1 litre saf su ile tamamlanmıştır. 121 °C'de 20 dakika otoklavlanarak 45-50 °C'de soğutulup istenilen kalınlıkta Petri kaplarına dökülmüştür.



Şekil 3.1. a) Kuvette ısıtılan çavdar b) Karanlık ortama alınması için hazırlanan çavdar

3.2.1.2 RYE B ORTAMI

Rye A ortamının hazırlanmasında geçerli olan tüm prosedürler Rye B ortamında da uygulanmıştır. İki ortamı farklı kılan tek nokta otoklav öncesinde Rye B ortamına 0.050 g/L β - sitosterol ilave edilmesidir. β - sitosterol patojenin sporülasyonunu arttırdığı için bu besi yeri bol spor vermesi gerekli olduğu durumlarda kullanılmıştır.

3.2.1.3 %1,5 'LUK SU AGAR ORTAMI

Su agar yapımında bir şişeye 1 litre distile su ve 15 gr Bacto-agar eklenmiştir. 121 °C'de 20 dk otoklavlanmış ve 45-50 °C'de soğutulup istenilen kalınlıkta Petri kaplarına dökülmüştür.

3.2.2 Re-izolasyon Çalışmalarında Kullanmak Üzere Kültürlerin Geliştirilmesi

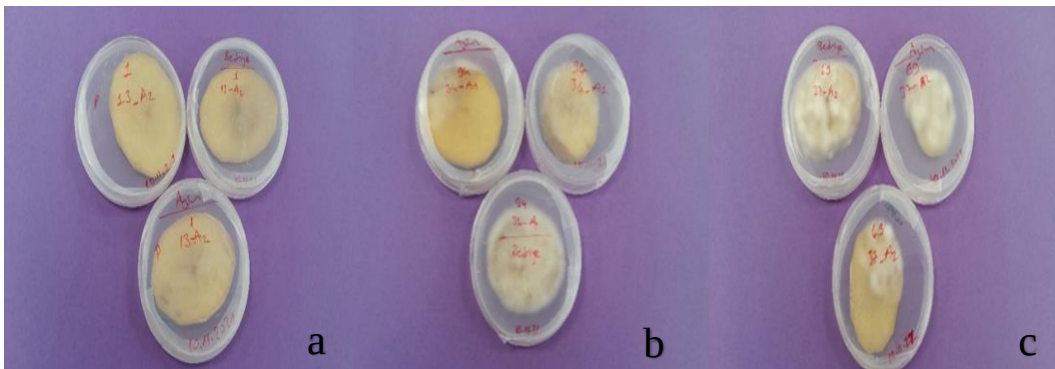
Bu çalışma kültür stoklarından alınan 13_A2, 34_A1 ve 37_A2 klonal soyların gelişimini sağlamak amacıyla yapılmıştır. Mikoloji Laboratuvarı kültür stoklarından -152 °C'deki crytüpten alınan agar diskler kurutma kağıdında gliserol DMSO emilimi sağlanmış ve Rye A ortamına ekimi gerçekleştirilmiştir.

İzolatların 2 haftalık gelişimini sağlamasından sonra 13_A2, 34_A1 ve 37_A2 *P. infestans* izolatlarının patatest miselyel kitlelerinin içerisinde sporangiumlarının gelişimini sağlamak için Agria çeşidi patates kullanılmıştır. Tezenfekte hale getirilmek için yıkanıp leke kalmayacak şekilde kabuk kısmı soyulan patatesler steril hale getirilmek üzere hazırlanan % 5'lik sodyum

hipoklorit çözeltisine (900 ml saf su ve 100 ml çamaşır suyu) daldırılıp 3 dakika bekletilmiş ve 2 dakika boyunca % 70'lik etil alkolde tutularak steril kurutma kağıdı üzerinde 5 mm kalınlığında dilimlenmiştir. Daha sonra 13_A2, 34_A1 ve 37_A2 klonal soylardan fungal kitleler alınıp su agar ortamının altına konulup su agarın üzerine patates dilimleri yerleştirilerek etmenlerin 18 °C'de karanlık ortamda patates dilimlerinde gelişmesi sağlanılmıştır. Patates dilimlerinin üzerinde etmenin miselyel kitlelerinin içerisinde sporangiumlarının görülmesi sonucunda stereo mikroskop altında ok uçlu iğne ile etmenin sporangiumları alınıp yeni Rye A ortamına aktarımı sağlanılmıştır.

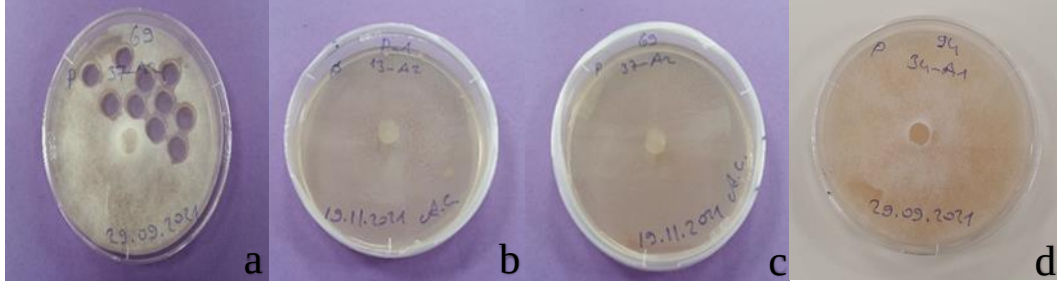


Şekil 3.2. a) *Phytophthora infestans* izolatının bistürü ile ortamdan alınması b) Steril kurutma kağıdında dilimlenen patatesler



Şekil 3.3. İnkübasyona bırakılan; a) 13_A2 izolatın patatesteki gelişimi b) 34_A1 izolatın patatesteki gelişimi c) 37_A2 izolatın patatesteki gelişimi

Rye A ortamında gelişen klonal soylardan 5 mm çapındaki mantar diskler alınıp Rye B ortamının orta kısmına birer disk gelecek şekilde uygulanarak 18°C'de karanlık ortama bırakılmıştır.



Şekil 3.4. a) Rye B ortamından alınan diskler b,c) Petri kabında ekilen *Phytophthora infestans* diskleri d) *Phytophthora infestans*'ın gelişimi

3.2.3 Bitki Yetiştirme Koşul ve Ortamı

Patates bitkisi ile yapılan çalışmalar, B.A.İ.B.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümüne ait, kontrollü iklim odası koşullarında yapılmıştır.

3.2.4 Bitki Büyütme

Çalışmada kullanılan Agria çeşidi patatesler dikim boyunda kesilmiş ve hazırlanan %0,5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde (900 ml saf su ve 100 ml çamaşır suyu) 3 dk bekletilmiştir. Sodyum hipokloritin uzaklaştırılması için 3-5 dk saf suya daldırılarak steril kurutma kağıdında 30 dk kurutulmuş ve iklim odasında küvete alınıp 23°C'de 3 hafta süreyle karanlık ortamda filizlenmesi beklenilmiştir.



Şekil 3.5. İklim odasında filizlenmesi için bekletilen yumrular

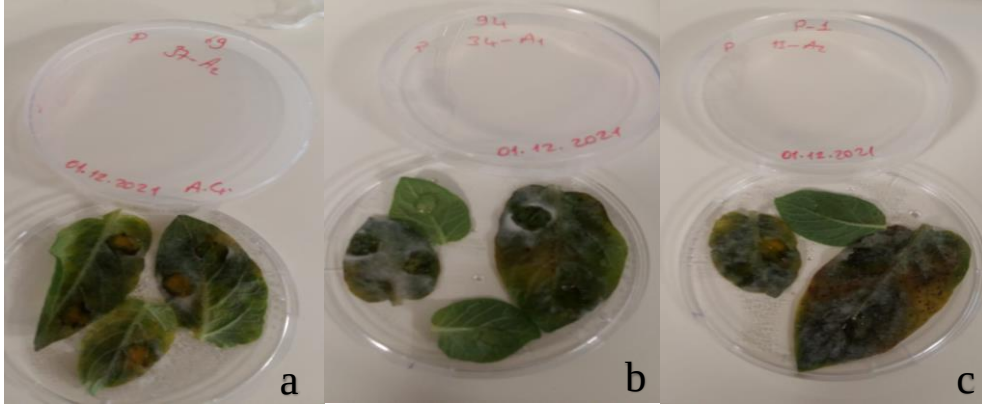
Daha sonra 3 hafta boyunca filizlenen yumrular 1.5 litrelik saksılara ekilmiştir. Saksıların yarısına torf-perlit karışımı (1:2 w/w) doldurulup gözleri üstte gelecek şekilde yumrular dikilmiş ve üst kısmı torf-perlit karışımı ile kapatılmıştır. Her saksı musluk suyuyla sulanılıp kontrollü iklim odasında (18 °C gece 24 °C gündüz sıcaklık, 16 saat aydınlık- 8 saat karanlık ortamda ve %70 nem) 14 gün süreyle büyütölmeye bırakılmıştır.



Şekil 3.6. a) Yumruların torfa dikimi b) Kontrollü iklim odasında büyütölmeye bırakılan yumrular

3.2.5 İnokulum Üretimi

Bu çalışmada iklim odasında yetiştirilen patates bitkilerinin gelişimini henüz tamamlamamış yapraklar kopartılıp soğutucu yardımıyla laboratuvar ortamına getirilmiştir. Yapraklar steril saf suya daldırılıp steril kurutma kağıdında kurutulmuş ve su agar ortamında alt kısımları yukarı gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra 34_A1, 37_A2 ve 13_A2 izolatlarına ait kültürlerinin uç kısmından 5 mm'lik diskler alınarak her yaprağın üzerine paralel gelecek şekilde yerleştirilmiş ve üzerine 20 mikrolitre su verilip petri kapları kapatılarak parafilm yardımıyla sarılmıştır. (18 °C sıcaklıkta 16 saat aydınlık- 8 saat karanlık ortamda)



Şekil 3.7. a) 37_A2 izolatının yapraklarda gelişimi b) 34_A1 izolatının yapraklarda gelişimi c) 13_A2 izolatının yapraklarda gelişimi

3.2.6 *Beauveria bassiana*' nın Spor Süspansiyonunun Hazırlanması ve Uygulanması

Beauveria bassiana izolatı PDA ortamında 2 hafta süreyle 26 °C'de 14 gün karanlık koşullarda geliştirilmiş ve geliştirmenin son iki günü aynı sıcaklıkta 2 gün aydınlık koşullarda sporlanması sağlanılmıştır. İçerisinde % 0,025 Tween-80 bulunan steril su her bir petriye 10 ml dökülerek *Beauveria bassiana* sporlarının suya geçmesi sağlanmış ve bunlar bir beherde toplanıp daha sonra bir baget yardımıyla karıştırılmıştır. Daha sonra spor oranına hemostometre ile bakılıp 2.10^7 spor/ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanarak kontrol bitkileri hariç her bitkiye 10 ml spor süspansiyonu pürverize edilmiştir.



Şekil 3.8. *Beauveria bassiana* spor süspansiyonunun yapraklardaki görünümü



Şekil 3.9. *Beauveria bassiana* spor süspansiyonlu bitkilerin iklim odasındaki görüntüsü

3.2.7 *Phytophthora infestans*'ın Spor Süspansiyonunun Hazırlanması ve Uygulanması

B.A.İ.B.Ü. bitki koruma bölümü mikoloji laboratuvarında stok kültür olarak -135 °C'de, muhafaza edilmiş olan *Phytophthora infestans* klonal soylar (13_A2, 37_A2 ve 34_A1) PDA ortamlarına alınarak inkübatörde kesintisiz bir şekilde miselyal gelişimleri ve sporangium yapılarını gerçekleştirmesi sağlanmıştır. İçerisinde % 0,025 Tween-80 bulunan steril su her bir petriye 10 ml dökülerek *Phytophthora infestans* sporlarının suya geçmesi sağlanmış ve bunlar bir beherde toplanıp daha sonra bir baget yardımıyla Daha sonra spor oranına hemostometre ile bakılıp $2-4 \cdot 10^7$ sporangium/ ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmış ve *Beauveria bassiana*'nın patates yapraklarının inokulasyonundan 3 ve 7 gün sonra *Phytophthora infestans*'ın klonay soyları (13_A2, 37_A2 ve 34_A1) saksılara 3 tekerrür olacak şekilde inokule edilmiştir. Kontrol bitkilerine 13_A2 klonal soy ve etiketlenmiş diğer saksılara 13_A2, 37_A2 ve 34_A1 klonal soylar her bitkiye 10 ml spor süspansiyon olacak şekilde pürverize edilmiştir. Daha sonra eşit bir dağılım olacak şekilde püskürtülmüş olan bitkilere steril su ile ıslatılmış polietilen örtüler geçirilerek kontrollü iklim odası koşullarında (20-25 °C sıcaklık ,14-15 saat aydınlık-karanlık ortamda ve %70 nem) 24-48 saat bırakılmıştır. *Phytophthora infestans* uygulanmasından sonraki 24-48 saat sonra polietilen örtüler çıkarılmıştır.



Şekil 3.10. *Phytophthora infestans* (37_A2) spor süspansiyonu uygulanan 3. gün bitkileri



Şekil 3.11. *Phytophthora infestans* (13_A2) spor süspansiyonu uygulanan 3. gün bitkileri



Şekil 3.12. *Phytophthora infestans* (34_A1) spor süspansiyonu uygulanan 3. gün bitkileri



Şekil 3.13. *Phytophthora infestans* (13_A2) spor süspansiyonu uygulanan 7. gün bitkileri



Şekil 3.14. *Phytophthora infestans* (34_A1) spor süspansiyonu uygulanan 7. gün bitkileri



Şekil 3.15. *Phytophthora infestans* (37_A2) spor süspansiyonu uygulanan 7. gün bitkileri

3.2.8 Hastalık Değerlendirmesi

Hastalık değerlendirilmesi *Phytophthora infestans* klonal soylarının *Beauveria bassiana* tarafından kontrol olanaklarının değerlendirileceği deneme inokülasyonundan sonraki 7. günde 0-5 ıskalasıyla ile yapılmıştır. Denemede EPPO hastalık şiddeti şeması kullanılarak her bitkinin 10 yaprağı üzerinde görsel olarak tahmin edilmiştir (EPPO, 2001; Tablo.3). Yapraklar deneme öncesi yapılan etiketlemeye göre seçilmiştir.

Tablo 3.3. *Beauveria bassiana* inokülasyonundan sonra *Phytophthora infestans* inokülasyonunun değerlendirilmesi için kullanılan 0-5 ıskalası

0, hiçbir belirti yok,
1, bitkide birkaç leke veya toplam yaprak alanının en fazla %10'nuna kadar gözlenen yanıklık,
2, bitkinin yaprak alanında %25'e kadar gözlenen yanıklık,
3, %50'ye kadar gözlenen yanıklık,
4, %75'ine kadar gözlenen yanıklık,
5, bitkinin tamamında gözlenen yanıklık veya bitki ölümü,

Değerlendirme sonucunda elde edilen ıskala değerleri hastalık şiddeti (%) değerlerine (Townsend Heuberger formülüyle) dönüştürülmüştür. *Beauveria bassiana* uygulamasından 3 ve 7 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* inokülasyonlarından ölçülen ortalama hastalık şiddeti ve % etkililik değerleri hesaplanmıştır.

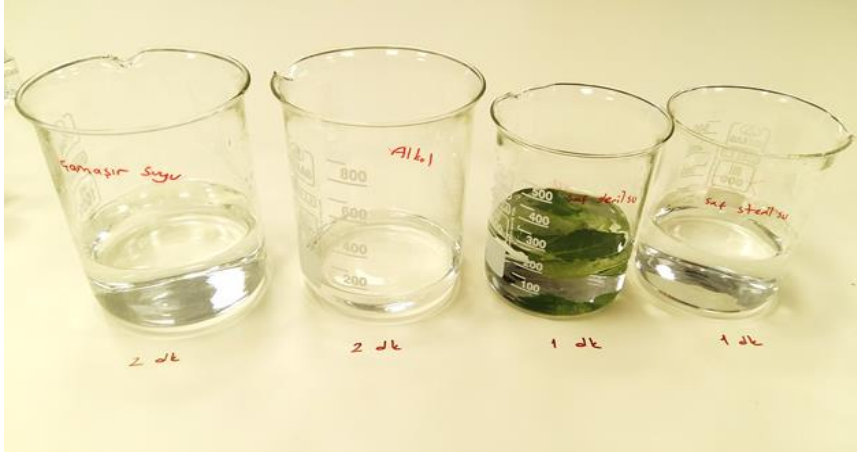


Şekil 3.16. a) 37_A2 kontrol bitkisi b) 37_A2 bitkisine ait hastalık şiddetinin görünümü

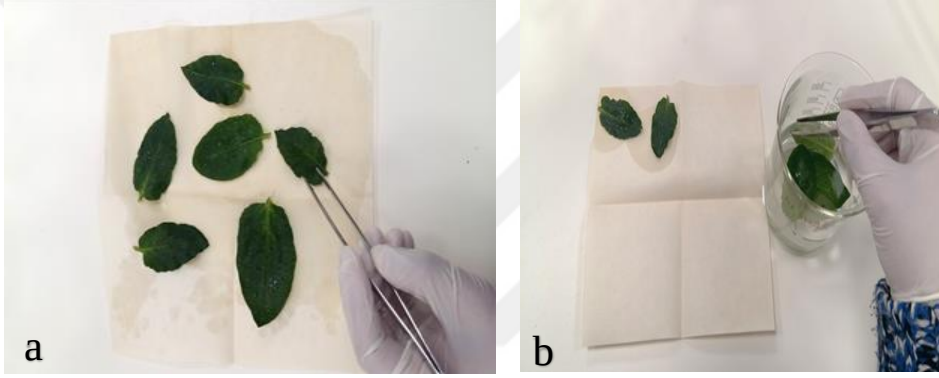
3.2.9 Endofitik Kolonizasyonunun Değerlendirmesi

Yapraklara homojen dağılım sağlayacak şekilde uygulanan spor süspansiyonların endofitik kolonizasyonunun hastalık şiddetini ve etkililiğini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Yaprak parçalarına tabi tutulan hastalığın birim dokudaki etkinliği belirlenmiş ve değerlendirmede Rondot ve Reineke tarafından açıklanan prosedür kullanılmıştır.

Denemede yaprakların yüzey sterilizasyonunun ardında *B. bassiana*'nın yeniden izolasyonu yoluyla fungusun endofitik kolonizasyonunun konfirmasyonu gerçekleştirilmiştir. Her işlem için 3 bitkinin her birinden 2 yaprak kesilerek ve % 0,5 NaOCl'ye daldırılarak steril koşullar altında ayrı ayrı yüzeyleri 2 dakika boyunca sterilize edilmiştir. (%0,05 Tween 80). Bu işlemin ardından 2 dakika boyunca %70 etanol içeren ortamda yaprak diskleri tutulup ve son olarak, yaprakların her biri 1 dakika boyunca iki kez steril suya daldırılıp steril kurutma kağıtları üzerinde kurutulmuştur. Yüzey sterilizasyonundan sonra, steril bir mantar delici ile her yapraktan sekiz yaprak disk (8 mm çapında) elde edilip ve içerisinde 0,135 g/L streptomisin bulunan PDA Petrilerine ekilmiştir. 24 °C'de 21 gün sonra deneme değerlendirilmiştir.



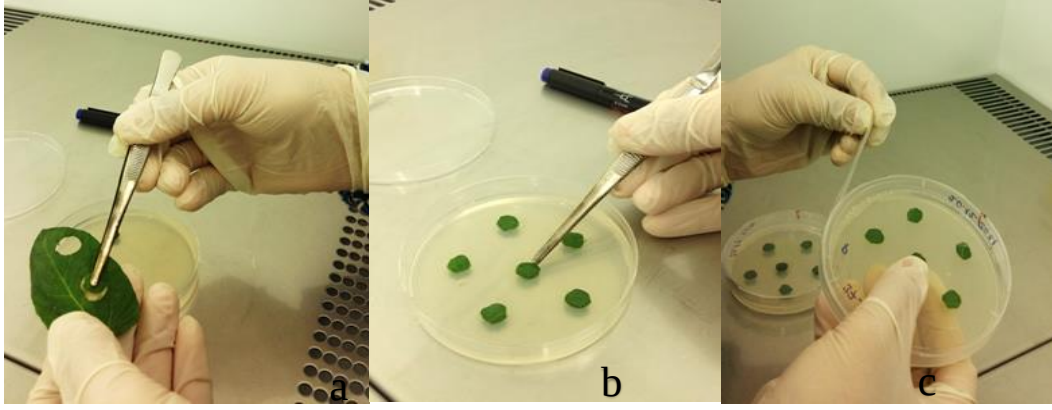
Şekil 3.17. Yapraklara yüzey dezenfeksiyonunun yapılma işlemi



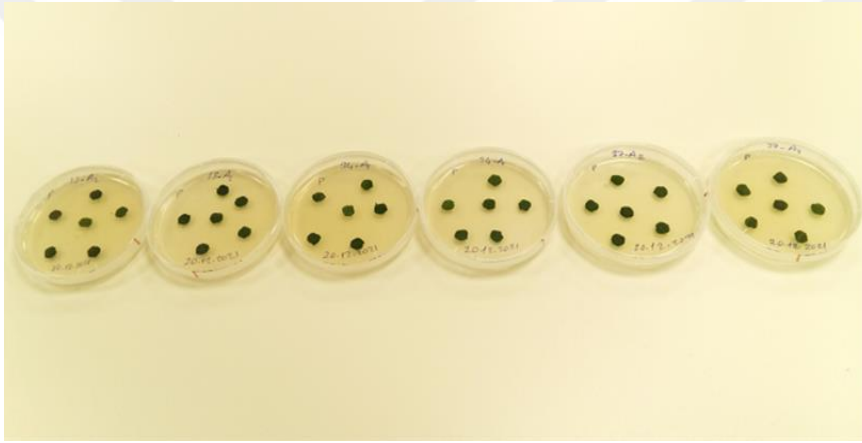
Şekil 3.18. a, b) Steril kurutma kağıdında kurutulan yapraklar



Şekil 3.19. Fungus delici ile delinen yaprak diskleri



Şekil 3.20. a) Yaprak diski b) PDA ortamına ekilen yaprak diskleri c) Petri kaplarına alınan yaprak disklerin hazırlanması



Şekil 3.21. PDA ortamına ekilen 13_A2, 37_A2 ve 34_A1 izolatları

4. BULGULAR

Elde ettiğimiz sonuçlar da *Beauveria bassiana* uygulamasından 3 ve 7 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* inokulasyonlarından ölçülen bazı bitki büyütme parametre değerleri hesaplanmıştır. Yapılan endofitik kolonizasyonunun etkinliği belirleme çalışması sonucunda 37_A2 ve 34_A1 klonal soylarına karşı daha yüksek reaksiyon gösterdiği gözlemlenmiştir.

Tablo 4.1. *Beauveria bassiana* uygulamasından 3 ve 7 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında ölçülen ortalama hastalık şiddeti ve % etkililik değerleri

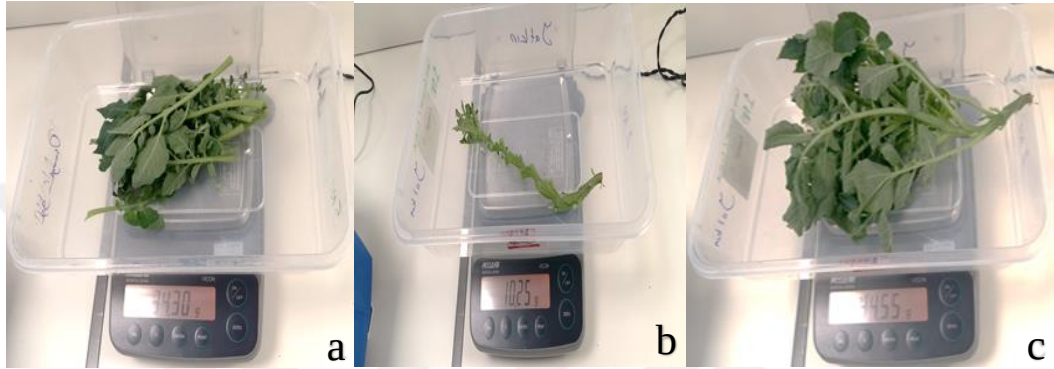
Klonal soylar	İnokulasyon 3 gün sonra		İnokulasyon 7 gün sonra	
	Ortalama Hastalık Şiddeti (%)	% Etkililik	Ortalama Hastalık Şiddeti (%)	% Etkililik
13_A2	53,33	27,27	53,33	38,46
34_A1	40,00	40,00	33,33	58,33
37_A2	26,67	55,56	33,33	54,55
(+) Kontrol 13_A2	73,33	-	86,67	-
(+) Kontrol 34_A1	66,67	-	80,00	-
(+) Kontrol 37_A2	60,00	-	73,33	-

Ölçüm sonuçlarına göre inokulasyondan 3 gün sonra *Beauveria bassiana*'nın ortalama etkililik değerlerine bakıldığında kontrol bitkilerine kıyasla klonal soylardan 37_A2'de % 55, 56 oranında daha yüksek etkililik sağladığına varılmıştır fakat 34_A1'de % 40, 00 oranında etkililik olduğu gözlenirken 13_A2' de %27, 27 oranında daha düşük etkililik sağlandığı gözlemlenmiştir.

İnokulasyondan 7 gün sonra ortalama etkililik değerlerine bakıldığında ise kontrol bitkilerine kıyasla 34_A1' de % 58, 33 oranında etkililik sağlanırken 37_A2'de % 54, 55 oranında ulaşıldığı ve aralarında yüksek oranda farklılık gözlenmediği görülmüştür. Daha düşük etkililik sağlayan 13_A2' de ise % 38,46

oranında etkililik sonucuna ulaşılmıştır. Bu nedenle 7 gün sonra 34_A1 ve 37_A2’de daha yüksek etkililik sağladığına varılmıştır.

Beauveria bassiana uygulamasından 3 ve 7 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarının ardından ıskala değerleri görsel olarak değerlendirilmiş ve daha sonra denemede değerlendirilmek üzere hasat edilen patates bitkilerinin bitki ağırlıkları, yaprak ağırlıkları ve gövde ağırlıklarının bitki büyüme parametresi değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.1. 3. gün patates bitkisine ait ağırlık; a) yaprak ağırlığı b) gövde ağırlığı c) bitki ağırlığı

Tablo 4.2. *Beauveria bassiana* uygulamasından 3 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında ölçülen bazı bitki büyüme parametresi değerleri

Klonal Soy lar	İnokulasyon 3 gün sonra					
	Bitki Ağırlığı (g)		Yaprak Ağırlığı (g)		Gövde Ağırlığı (g)	
	Ortalama	% Farklılık	Ortalama	% Farklılık	Ortalama	% Farklılık
13_A2	110,56	4,49	86,98	-4,73	23,57	27,92
34_A1	75,28	38,71	55,25	35,76	20,03	45,59
37_A2	111,26	10,74	85,89	-0,17	25,36	34,79
(+) Kontrol 13_A2	115,76	-	83,05	-	32,70	-
(+) Kontrol 34_A1	122,82	-	86,01	-	36,81	-
(+) Kontrol 37_A2	124,64	-	85,74	-	38,89	-

Beauveria bassiana uygulamasından 3 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında ölçülen değerlere bakıldığında genel olarak bitkilerde hastalıktan dolayı bitki ağırlığında bir azalma görülmüş fakat *Beauveria bassiana*'nın kontrol bitkilerine kıyasla 37_A2 (% 10,74)'de ve 13_A2 (% 4,49)'de yüksek kontrol sağlanırken 34_A1 (38,71)'de daha düşük kontrol sağlandığı gözlemlenmiştir. Yaprak ağırlığına baktığımızda kontrol bitkilerine kıyasla yaprak ağırlığının 13_A2 (% -4,73) ve 37_A2 (% -0,17)'de arttığı fakat 34_A1 (% 35,76)'de azaldığı gözlemlenmiştir. Gövde ağırlığında ise kontrol bitkilerine kıyasla 13_A2 (%27,92) ve 37_A2 (% 34,79)'de gövde ağırlığının arttığı 34_A1 (% 45,59)'de azalma olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.2. 7. gün patates bitkisine ait ağırlık; a) bitki ağırlığı b) yaprak ağırlığı c) gövde ağırlığı

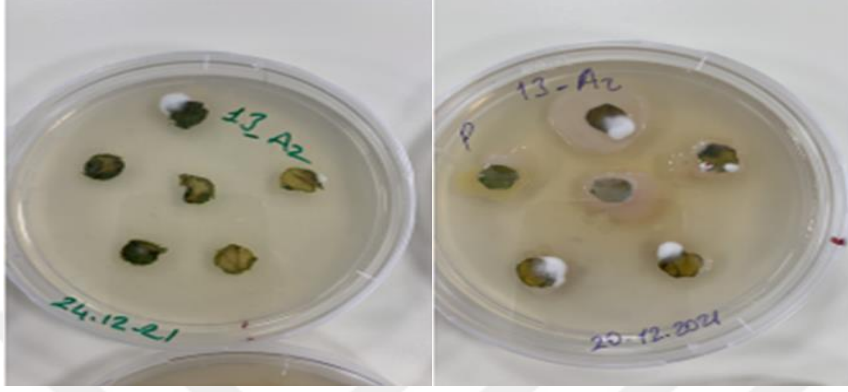
Tablo 4.3. *Beauveria bassiana* uygulamasından 7 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında ölçülen bazı bitki büyüme parametresi değerleri

Klonal Soy lar	İnokulasyon 7 gün sonra					
	Bitki Ağırlığı (g)		Yaprak Ağırlığı (g)		Gövde Ağırlığı (g)	
	Ortalama	% Farklılık	Ortalama	% Farklılık	Ortalama	% Farklılık
13_A2	80,91	-17,61	56,78	-1,39	24,14	-88,62
34_A1	89,82	-18,39	71,06	-20,78	18,76	-10,16
37_A2	118,66	-54,36	90,64	-56,78	28,02	-47,01
(+) Kontrol 13_A2	68,80	-	56,00	-	12,80	-
(+) Kontrol 34_A1	75,86	-	58,84	-	17,03	-
(+) Kontrol 37_A2	76,87	-	57,81	-	19,06	-

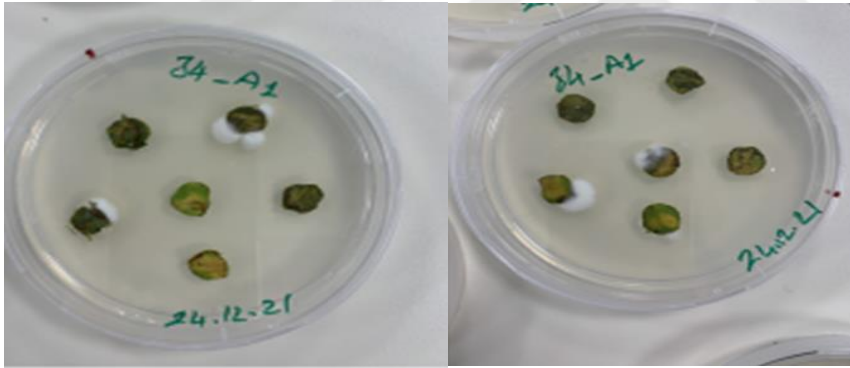
Beauveria bassiana inokulasyonundan 7 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında ölçülen değerlere bakıldığında ise *Beauveria bassiana*'nın kontrol bitkilerine kıyasla bitki ağırlığı 37_A2'de % -54,36 oranında daha yüksek kontrol edildiği fakat 13_A2 (% -17,61) ve 34_A1 (% -18,39)'de daha düşük kontrol sağlanıldığı saptanmıştır. Yaprak ağırlığına baktığımızda kontrol bitkilerine kıyasla 37_A2'de % -56,78 oranında daha yüksek kontrol edildiği fakat 13_A2 (% -1,39) ve 34_A1 (% -20,78)'de daha düşük kontrol edildiğine varılmıştır. Gövde ağırlığında ise kontrol bitkilerine kıyasla 13_A2'de % -88,62 oranında daha yüksek kontrol edildiği fakat 37_A2 (% -47,01) ve 34_A1 (% -10,16)'de daha düşük kontrol sağlanıldığı saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre 3 ve 7 gün sonra *Beauveria bassiana*'nın *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında 37_A2'de endofitik kolonizasyonunun etkililiği daha iyi sonuç verdiği gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda bitki büyüme parametrelerinin 7 gün sonraki ölçümlerinde kontrol gruplarına göre daha iyi sonuçlar elde edildiği belirlenmiştir.

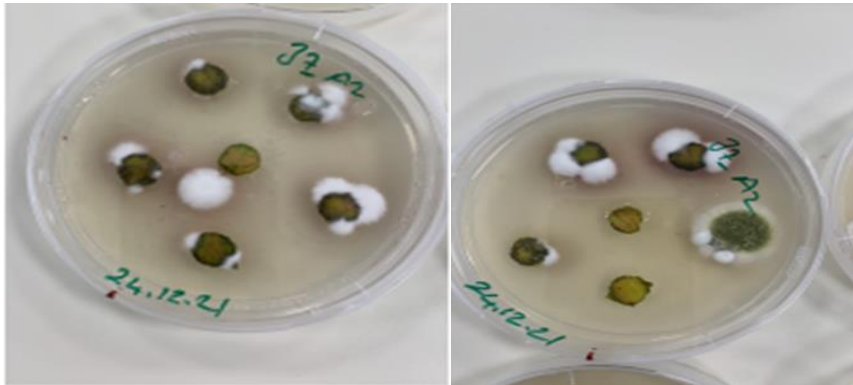
Laboratuvar koşullarında kurulan deneme sonucunda 24 °C inkübe edilen 13_A2, 37_A2 ve 34_A1 klonal soylarının 21 gün sonra su agar ortamındaki son verilerinden elde edilen sonuçlara göre *Beauveria bassiana*'nın endofitik kolonizasyonunun etkililiği *Phytophthora infestans* klonal soylarına karşı etkili olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.3. *Beauveria bassiana*'nın endofitik kolonizasyonunun *Phytophthora infestans* (13_A2) klonal soyuna karşı etkililiği



Şekil 4.4. *Beauveria bassiana*'nın endofitik kolonizasyonunun *Phytophthora infestans* (34_A1) klonal soyuna karşı etkililiği



Şekil 4.5. *Beauveria bassiana*'nın endofitik kolonizasyonunun *Phytophthora infestans* (37_A2) klonal soyuna karşı etkililiği

5. TARTIŞMA

Çalışmamızın sonucunda *Beauveria bassiana* uygulamasından 3 ve 7 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında görsel olarak analiz edilip değerlendirmeye alınan 3 klonal soydan 37_A2 ve 34_A1 klonal soyunlarının hastalık şiddetini % 60 oranında, 13_A2 klonal soyunun ise % 40 oranında azalttığı belirlenmiştir. Tez çalışmamızda ele alınan parametre sonuçlarında ise *Beauveria bassiana*'nın 37_A2 ve 34_A1 klonal soyunun kontrol yeteneğinin daha yüksek oranda kontrol edildiği 13_A2 klonal soyunun kontrolü daha sınırlı kaldığı belirlenmiştir.

Söz konusu çalışmalara bakıldığında Rondot ve Reineke 'nin 2019 yılında *Plasmopara viticola* üzerinde yapmış olduğu çalışmada *B. bassiana* inokulasyonundan 3 ve 7 gün sonra, asma bitkileri *Plasmopara viticola* inokulasyonundan sonra bitkilerde hastalık şiddeti ve etkililiğinin önemli ölçüde azaldığını bulmuştur. Yürüttüğümüz çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş *Beauveria bassiana*'nın kontrolünde ve bitki gelişiminde olumlu yönde etkilemeler saptanmıştır.

Ulaşılabilen kaynaklar göz önünde bulundurulduğunda *Phytophthora infestans* etmenine karşı kontrolde herhangi bir entomopatojen fungusun kullanıldığına rastlanmamıştır. Bu amaç doğrultusunda gerçekleştirmeye yönelik yürüttüğümüz çalışmalarda ise umut var edilecek sonuçlar elde edilmiştir. *Beauveria bassiana* ile yürüttüğümüz çalışmada olumlu sonuçlar elde etmemiz diğer fungusların etkililiğini bilmediğimiz için bunlarda araştırılmaya değer konular olduğu belirlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tarihsel olarak, biyolojisi ve patojenitesi ile ilgili birçok tartışmaya sebep olan *Phytophthora infestans* patates üretiminde sorun olmaya devam eden hastalıklar arasında önemini sürdürmektedir. *Phytophthora infestans* ülkemizde patates üretimini önemli ölçüde etkileyen ve son yıllarda tarım sektöründe sorun olmaya devam eden etmenlerden biri olduğu için hastalıkla mücadele etmek oldukça önem teşkil etmektedir.

Yürütülen bu tez çalışmasında elde edilen verilerden patates mücadelesinde önemli bir etmen olan *Phytophthora infestans* klonal soylarının (13_A2, 37_A2 ve 34_A1) biyolojik ajan olarak kullanılmak istenilen entomopatojen fungus *Beauveria bassiana*'nın bitki gelişimini tespit etmede ve hastalığın kontrolünü sağlamada etkili olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızın sonucunda *B. bassiana* ile muamele edilmiş bitkilerde hastalık şiddeti özellikle 37_A2 ve 34_A1 klonal soylarında %60'a varan ölçüde azalma olduğu saptanmıştır. *Beauveria bassiana* uygulamasından 3 gün sonra gerçekleştirilen *Phytophthora infestans* klonal soy inokulasyonlarında ölçülen bitki büyüme parametresi değerlerinde en yüksek kontrol 13_A2 ve 37_A2 'de saptanmış 34_A1 klonal soy ise en düşük kontrol olarak gözlemlenmiştir. İnokulasyondan 7 gün sonra yapılan ölçümlerde ise 13_A2 ve 37_A2'nin yüksek kontrolü devam ettirdiği gözlemlenmiş 34_A1 klonal soyun 7 gün sonra da düşük kontrol sağladığı saptanmıştır. Çalışmamızda patojenin geç verilmesi durumunda genel olarak hastalığın daha iyi kontrol edildiği bu bağlamda *Beauveria bassiana*'nın geçen 7 günde endofitik kolonizasyonunun patates bitkisinin içerisinde artmasından dolayı bu yüksek değerlerin elde edildiği düşünülmüştür.

Tarımsal mücadelede *Phytophthora infestans* hastalığına karşı entomopatojen fungus *Beauveria bassiana*'nın, çeşitli rolleri ve çoklu etki biçimleriyle sanayinde dikkatini çekeceğini ve bu hastalığın kontrolünde ileri zamanlarda bununla ilgili daha detaylı çalışmalar yapıp hastalığın biyolojik savaş yoluyla kontrol altına alınacağı ve kimyasal pestisit uygulamalarının sıklığını azaltma potansiyeline etki edebileceği için çalışmamız diğer araştırma konularına katkı sağlayacağı düşünülmüştür.

7. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında APA atıf sistemi kullanılmıştır.)

- Abad, Z. G., & Abad, J. A. (1995). Historical evidence on the occurrence of late blight of potato, tomato and pear melon in the Andes of the South America. *Phytophthora infestans*; Proceedings of.
- Akello, J., Dubois, T., Gold, C. S., Coyne, D., Nakavuma, J., & Paparu, P. (2007). *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as an endophyte in tissue culture banana (*Musa* spp.). *Journal of invertebrate pathology*, 96(1), 34-42.
- Akino, S., Takemoto, D., & Hosaka, K. (2014). *Phytophthora infestans*: a review of past and current studies on potato late blight. *Journal of general plant pathology*, 80, 24-37.
- Alexandratos, N., & Bruinsma, J. (2012). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision.
- Anonim, (2023)
<https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/B%C3%BCltenler/OCAK%202021/Patates%20Ocak%20B%C3%BClteni2.pdf>
- Anonim, (2023)
<https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/B%C3%BCltenler/MAYIS%202022/Patates%20May%C4%B1s%20B%C3%BClteni.pdf>
- Bing, L. A., & Lewis, L. C. (1991). Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Environmental entomology*, 20(4), 1207-1211.
- Burge, M. N. (Ed.). (1988). Fungi in biological control systems. Manchester University Press.
- Cabieses, F. (2001). The potato treasure of the Andes: from agriculture to culture. International Potato Center.
- FAO 2023 Verileri, <https://www.fao.org/turkiye/tr/>
- Fry, W. (2008). *Phytophthora infestans*: bitki (ve R geni) yok edici. *Moleküler bitki patolojisi*, 9 (3), 385-402.
- Gos, E. M., Küvet zamanı, J. F., Cooper, D. E., Restrepo, S., Kızartma, W. E., Forbes, G. A., ... & Grünwald, N. J. (2014). İrlanda patates kılığı patojeni *Phytophthora infestans*, And
- Göre, M.E., Altın, N., Yaman, T., Myers, K., Çağlı, A., Cooke, D.E.L. et al. (2019) Severe outbreaks of *Phytophthora infestans* on potato in Turkey caused by recent changes in the pathogen population structure. *Phytoparasitica*, 47, 693–709.
- Grünwald, N. J., & Flier, W. G. (2005). The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 171-190.
- Harrison, J. G., & Lowe, R. (1989). Effects of humidity and air speed on sporulation of *Phytophthora infestans* on potato leaves. *Plant Pathology*, 38(4), 585-591.
- Haverkort, A. J., Struik, P. C., Visser, R. G. F., & Jacobsen, E. J. P. R. (2009). Applied biotechnology to combat late blight in potato caused by *Phytophthora infestans*. *Potato research*, 52, 249-264.
- Hawkes, J. G. (1992). History of the potato. In *The potato crop: The scientific basis for improvement* (pp. 1-12). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Hu, C. H., Perez, F. G., Donahoo, R., McLeod, A., Myers, K., Ivors, K., ... & Ristaino, J. B. (2012). Recent genotypes of *Phytophthora infestans* in the eastern United States reveal

- clonal populations and reappearance of mefenoxam sensitivity. *Plant Disease*, 96(9), 1323-1330.
- Hussey, G. ve Stacey, NJ (1981). Patatesin (*Solanum tuberosum* L.) in vitro çoğaltılması. *Botanik Yıllıkları*, 48 (6), 787-796.
- Ivanov, A. A., Ukladov, E. O., & Golubeva, T. S. (2021). *Phytophthora infestans*: An overview of methods and attempts to combat late blight. *Journal of Fungi*, 7(12), 1071.
- Judelson, H. S., Tyler, B. M., & Micheltore, R. W. (1991). Transformation of the oomycete pathogen, *Phytophthora infestans*. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 4(6), 602-7.
- Kumar, G. M., & Knowles, N. R. (1993). Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers. *Plant Physiology*, 102(1), 115-124.
- Kumbar, B., Mahmood, R., Nagesha, S. N., Nagaraja, M. S., Prashant, D. G., Kerima, O. Z., ... & Chavan, M. (2019). Field application of *Bacillus subtilis* isolates for controlling late blight disease of potato caused by *Phytophthora infestans*. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 22, 101366.
- Lammerts van Bueren, E. T., Tiemens-Hulscher, M., & Struik, P. C. (2008). Cisgenesis does not solve the late blight problem of organic potato production: alternative breeding strategies. *Potato Research*, 51, 89-99.
- Mantzoukas, S., & Eliopoulos, P. A. (2020). Endophytic entomopathogenic fungi: A valuable biological control tool against plant pests. *Applied Sciences*, 10(1), 360.
- Meltem, A. V. A. N., & Kotan, R. (2021). Fungusların mikrobiyal gübre veya biyopestisit olarak tarımda kullanılması. *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*, 3(1), 167-191.
- Nelson, S. C. (2008). Late blight of tomato. *Phytophthora infestans*, 1-10.
- Nishi, O., Sushida, H., Higashi, Y., & Iida, Y. (2021). Epiphytic and endophytic colonisation of tomato plants by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain GHA. *Mycology*, 12(1), 39-47.
- Ownley, B. H., Griffin, M. R., Klingeman, W. E., Gwinn, K. D., Moulton, J. K., & Pereira, R. M. (2008). *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. *Journal of invertebrate pathology*, 98(3), 267-270.
- Ownley, B. H., Gwinn, K. D., & Vega, F. E. (2010). Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*, 55, 113-128.
- Ownley, B. H., Pereira, R. M., Klingeman, W. E., Quigley, N. B., & Leckie, B. M. (2004). *Beauveria bassiana*, a dual purpose biocontrol organism, with activity against insect pests and plant pathogens. *Emerging concepts in plant health management 2004*, 255-269.
- Pedrini, N. (2022). The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* shows its toxic side within insects: expression of genes encoding secondary metabolites during pathogenesis. *Journal of Fungi*, 8(5), 488.
- Radcliffe, E. B. (1982). Insect pests of potato. *Annual Review of Entomology*, 27(1), 173-204. 73-204.
- Rastogi, M., Das, S., & Sharma, S. (2021). Origins and development of a scientific discipline: Physiological phytopathology. *ACADEMICIA: An International Multidisciplinary Research Journal*, 11(10), 467-476.
- Reddy, BJ, Mandal, R., Chakroborty, M., Hijam, L. ve Dutta, P. (2018). Patates (*Solanum tuberosum* L.) ve genetik çeşitliliği üzerine bir inceleme. *Uluslararası Genetik Dergisi*, ISSN , 0975-2862.

- Ristaino, J. B. (2002). Tracking historic migrations of the Irish potato famine pathogen, *Phytophthora infestans*. *Microbes and infection*, 4(13), 1369-1377.
- Rondot, Y., & Reineke, A. (2019). Endophytic *Beauveria bassiana* activates expression of defence genes in grapevine and prevents infections by grapevine downy mildew *Plasmopara viticola*. *Plant Pathology*, 68(9), 1719-1731.
- Rowe, R.C., 1993. Potato health management a holistic approach. Potato Health Management (Edit. by Rowe, R.C.). The American Phytopathological Society. Minesata-USA.
- Senthilkumar, M., Anandham, R., Madhaiyan, M., Venkateswaran, V., & Sa, T. (2011). Endophytic bacteria: perspectives and applications in agricultural crop production. *Bacteria in agrobiolgy: crop ecosystems*, 61-96.
- Subbanna, A. R. N. S., Stanley, J., Venkateswarlu, V., Chinna Babu Naik, V., & Khan, M. S. (2019). Toxicological prospects on joint action of microbial insecticides and chemical pesticides. In *Microbes for sustainable insect pest management* (pp. 317-340). Springer, Cham.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., & Horuz, S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, 26(2), 154-169.
- Ulusal Tez Merkezi, <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/>
- Vega, F. E. (2018). The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. *Mycologia*, 110(1), 4-30.
- Vidal, S., & Jaber, L. R. (2015). Entomopathogenic fungi as endophytes: plant–endophyte–herbivore interactions and prospects for use in biological control. *Current science*, 46-54.
- Vreugdenhil, D., & Struik, P. C. (1989). An integrated view of the hormonal regulation of tuber formation in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Physiologia plantarum*, 75(4), 525-531.
- Wagner, B. L., & Lewis, L. C., (2000). Colonization of corn, Zea mays, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3468-3473.
- Wu, F., Wang, W., Ma, Y., Liu, Y., Ma, X., An, L., & Feng, H. (2013). Prospect of beneficial microorganisms applied in potato cultivation for sustainable agriculture. *Afr. J. Microbiol. Res*, 7(20), 2150-2158.
- Yogendra, K. N., Kumar, A., Sarkar, K., Li, Y., Pushpa, D., Mosa, K. A., ... & Kushalappa, A. C. (2015). Transcription factor StWRKY1 regulates phenylpropanoid metabolites conferring late blight resistance in potato. *Journal of experimental botany*, 66(22), 7377-7389.