



***SCLEROTİNİA SCLEROTİORUM*'A KARŞI BAZI
BAKTERİ TÜRLERİNİN BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

**ASLI YAVUZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI
Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN
Temmuz - 2021
Her hakkı saklıdır**

**T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SCLEROTİNİA SCLEROTİORUM'A KARŞI BAZI BAKTERİ
TÜRLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ASLI YAVUZ

TOKAT
Temmuz - 2021

Her hakkı saklıdır

---/---/2021

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

ASLI YAVUZ

13 Temmuz 2021

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SCLEROTİNİA SCLEROTİORUM'A KARŞI BAZI BAKTERİ TÜRLERİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

ASLI YAVUZ

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM
ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI:DOÇ. DR. ABDURRAHMAN ONARAN)

Bu çalışmada hıyarlarda beyaz çürüklük hastalığına sebep olan bitki patojeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary'a karşı, Kırşehir İli tarım alanlarından izole edilen 6 adet bakteri suşunun (*Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*, *B. thrungiensis*, *B. anthracis*, *B. amyloliquefaciens*, *Pseudomonas alcaligenes*) *in vitro* (PDA ve TSA besi yeri üzerinde) ve *in vivo* (hıyar meyvesi üzerinde) koşullar altında biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla *in vitro* koşullarda; bakteri türlerinin fungusun miselyum gelişimine etkisi, fungusun sklerot yapılarına etkisi ve bakteri türlerinin uçucu bileşiklerinin fungusa etkisi olmak üzere 3 farklı yöntem kullanılmıştır. Uygulama yapılan petri kaplarında bakteri türlerinin *S. sclerotiorum* üzerindeki gelişimleri engelleme durumları gözlenmiştir. *In vitro* çalışmalar sonucunda fungusun sklerot yapılarına etkisinin araştırıldığı yöntem, fungus üzerinde en etkili sonuç veren yöntem olarak belirlenmiştir. Bu yöntem sonucunda *Bacillus* sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10 ve *B. amyloliquefaciens* B11 suşları %100 engelleme oranlarıyla *S. sclerotiorum*'a karşı en etkili bakteri suşları olarak belirlenmiştir. *In vivo* aktivite çalışmalarında ise *S. sclerotiorum*'a karşı bakteri türlerinin temas etkisi ve *S. sclerotiorum*'a karşı bakteri türlerinin uçucu bileşiklerinin buhar etkisi hıyar meyvesi üzerinde belirlenmiştir. Çalışma sonucunda *S. sclerotiorum*'a karşı bakteri suşlarının temas etkisinin araştırıldığı yöntem *in vivo* koşullar altında en etkili yöntem olarak belirlenmiştir. Bu yöntemle 3 bakteri suşunun (*Bacillus* sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10 ve *B. anthracis* X19) bitki üzerindeki fungusun gelişimini %100 engellediği tespit edilmiştir. Bu yöntemin etkinliğinin yüksek olmasında bakterilerin bitkinin üzerine temas odaklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

2021, 71 SAYFA

ANAHTAR KELİMELELER: Beyaz Çürüklük Hastalığı, Biyolojik Aktivite, *Sclerotinia sclerotiorum*, Uçucu Organik Bileşikler

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME BACTERIA SPECIES AGAINST *SCLEROTINIA SCLEROTIORUM*

ASLI YAVUZ

TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. ABDURRAHMAN ONARAN

In this study, it was aimed to determine the biological activities of 6 bacterial strains (*Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*, *B. amyloliquefaciens*, *Pseudomonas alcaligenes*) isolated from agricultural areas of Kırşehir province, under *in vitro* (on PDA and TSA medium) and *in vivo* (on cucumber fruit) conditions, against the plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* that causes white rot disease in cucumbers. For this purpose *in vitro* conditions; three different methods were used: the effect of bacterial species on the mycelium development of the fungus, the effect of the fungus on the sclerot structures and the effect of the volatile compounds of the bacterial species on the fungus. In the applied petri dishes, conditions of prevention the development of bacterial species on *S. sclerotiorum* were observed. As a result of *in vitro* studies, the method in which the effect of the fungus on the sclerot structures was investigated, was determined as the method that gave the most effective results on the fungus. As a result of this method, *Bacillus* sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10 and *B. amyloliquefaciens* B11 strains were determined as the most effective bacterial strains against *S. sclerotiorum* with 100% inhibition rates. *In vivo* activity studies, the contact effect of bacterial species and the steam effect of volatile compounds of bacterial species against *S. sclerotiorum* were determined on cucumber fruit. As result of the study, the method in which the contact effect of bacterial strains against *S. sclerotiorum* was investigated, was determined as the most effective method under *in vivo* conditions. By this method, it was determined that 3 bacterial strains (*Bacillus* sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10 ve *B. anthracis* X19) prevented the development of fungi on the plant by 100%. It is believed that the high effectiveness of this method is due to the fact that bacteria are focused on contact with the plant.

2021, 71 PAGES

KEYWORDS: Biological Activity, *Sclerotinia sclerotiorum*, Volatile Organic Compounds, White Mold Disease

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak, çalışmam boyunca bana destek veren, tez konumun belirlenmesinde ve araştırmalarım süresince yol gösteren ve desteğini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Sayın Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN'a (Akdeniz Üniversitesi), bilgi, tecrübe ve yardımlarıyla Bitki Koruma Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Yusuf YANAR'a (Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi) ve tezimi değerlendiren değerli bilgi ve katkılarını sunan sayın jüri üyelerine sonsuz şükranlarımı sunarım.

Bakteriyolojik çalışmalarım sırasında engin bilgileriyle yardımlarını ve değerli düşüncelerini esirgemeyen sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR'a (Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi), bakterilerin moleküler analizinde ve daha birçok konuda yardımcı olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Şerife TOPKAYA'ya (Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi) şükranlarımı sunarım. Ayrıca tez çalışmam sırasında desteklerinden ötürü değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Yusuf BAYAR ve Dr. Öğr. Üyesi Melih YILAR (Ahi Evran Üniversitesi)'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca ve laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Zir. Yük. Müh. Yusuf YIKILMAZ ve Arş. Gör. İbrahim CİNER'e (Düzce Üniversitesi) teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ayrıca hayatımın her döneminde her daim kararlarım saygı duyup, maddi ve manevi desteklerini ve sevgilerini benden esirgemeyen ve arkamda varlıklarını hissettiğim kıymetli ailem, manevi olarak en içten sevgisini ve desteğini yanımda hissettiğim canım annem Hanife YAVUZ, canım babam Hilmi YAVUZ, ablam Arzu SOYGÜR ve nişanlım Murat BENLİ'ye sonsuz minnet, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

ASLI YAVUZ

13 Temmuz 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	9
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Bakteri Türleri	21
3.2. Fungal Hastalık Etmeni.....	23
3.3. Bakteri İzolatlarının Moleküler Teşhisi	24
3.4. <i>In vitro</i> Testler	24
3.5. Bakteri Suşlarının Fungusun Miselyum Gelişimine Etkisi.....	24
3.6. Fungusun Sklerot Yapılarına Etkisi	25
3.7. Bakteri Suşlarının Üretmiş Olduğu Uçucu Organik Bileşiklerin Fungusa Etkisi.....	27
3.8. <i>In vivo</i> Testler	29
3.9. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'a Karşı Bakteri Suşlarının Temas Etkisi.....	29
3.10. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'a Karşı Bakteri Suşlarının Üretmiş Olduğu Uçucu Organik Bileşiklerin Buhar Etkisi.....	32
3.11. İstatistiki Analizler.....	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. <i>In vitro</i> Testler	34
4.1.1. Bakteri türlerinin fungusun miselyum gelişimi üzerine antagonistik etkisi	34
4.1.2. Bakteri türlerinin fungusun sklerot yapılarına etkisi	37
4.1.3. Bakteri türlerinin uçucu bileşiklerinin fungusa etkisi.....	40
4.2. <i>In vivo</i> Testler	43
4.2.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'a karşı bakteri suşlarının temas etkisi.....	43
4.2.2. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'a karşı bakteri suşlarının ürettiği uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi	45
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
6. KAYNAKLAR	50
7. ÖZGEÇMİŞ	Error! Bookmark not defined.

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
µl	Mikrolitre
g	Gram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
cm	Santimetre
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece
Kısaltmalar	Açıklama
C+	Pozitif Kontrol
C-	Negatif control
Cd	Kontrol PDA petrisi üzerindeki fungal gelişimi
Td	PDA petrisindeki muamele edilmiş fungal gelişimi
spp.	Alttürler
subsp.	Subspecies (alt tür)
FAO	Food and Agriculture Organization
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
PDA	Potato Dextrose Agar
VOC	Volatile Organic Compounds (Uçucu Organik Bileşikler)
Bkz	Bakınız
SAS	İstatiksel Analiz Sistemi Programı
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
NCBI	National Center for Biotechnology Information (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi)

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. 1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> sklorat yapısı.....	3
Şekil 1. 2. <i>S. sclerotiorum</i> hastalık etmeninin hıyar bitkisinin gövde (a) ve meyve (b) üzerindeki belirtileri (Onaran ve Yanar, 2009)	4
Şekil 1. 3. <i>S. sclerotiorum</i> 'un besi ortamındaki gelişimleri.....	5
Şekil 3. 1. Bakteri stok işlemi için gerekli olan ekipmanlar	22
Şekil 3. 3. PDA üzerine karşılıklı bakteri (a) ve fungusun (b) yerleştirilmesi.....	25
Şekil 3. 4. Sklerot üretim aşamaları	26
Şekil 3. 5. Bakteriler ile inokule olmuş sklerotların PDA besiyerine yerleştirilmesi	27
Şekil 3. 6. Uçucu organik bileşiklerin fungus üzerine etkisinin belirlenmesi aşamaları	28
Şekil 3. 7. Bakteri süspansiyonlarının açılan yaralar içerisine mikropipet ile uygulanışı (a,b)	30
Şekil 3. 8. Hıyar meyvesi üzerindeki yaralara fungusun miselyum disklerinin yerleştirilmesi.....	30
Şekil 3. 9. Negatif kontrol olarak hıyar meyvesi üzerindeki yaralara sadece bakteri süspansiyonu uygulanması	31
Şekil 3. 10. Uygulama sonunda inkübasyona bırakılan hıyar meyveleri.....	31
Şekil 3. 11. Fungusun açılan yara yüzeylerine aktarılması (a,b)	32
Şekil 3. 12. Bakterilerin TSA besiyerine aktarılması	33
Şekil 3. 13. Hazırlanan hıyar meyvelerinin ve aktarılan bakterilerin son görünümü (a,b).....	33
Şekil 4. 1. Bakteri suşlarının fungusun miselyum gelişimine etkisi (35: <i>Bacillus</i> sp., 38-1: <i>Paenibacillus polymyxa</i> , 46: <i>B. thrungiensis</i> , 47-1: <i>B. anthracis</i> , 52-1: <i>B. amyloliquefaciens</i> , 55: <i>Pseudomonas alcaligenes</i> , C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)	35
Şekil 4. 2. Bakteri suşlarının fungusun miselyum gelişimini engellemesi (C-: Negatif kontrol, a: <i>Bacillus</i> sp., b: <i>Paenibacillus polymyxa</i> , c: <i>B. thrungiensis</i> , d: <i>B. anthracis</i> , e: <i>B. amyloliquefaciens</i> , f: <i>Pseudomonas alcaligenes</i>).....	35
Şekil 4. 3. Bakteri suşlarının <i>S. sclerotiorum</i> 'un sklerot yapısına etkisi (35: <i>Bacillus</i> sp., 38-1: <i>Paenibacillus polymyxa</i> , 46: <i>B. thrungiensis</i> , 47-1: <i>B. anthracis</i> , 52-1: <i>B. amyloliquefaciens</i> , 55: <i>Pseudomonas alcaligenes</i> , C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)	38
Şekil 4. 4. Antagonistik bakteriler ile muamele edilmiş sklerotların PDA besiyerinde gelişimi (C-: Negatif kontrol, a: <i>Bacillus</i> sp., b: <i>Paenibacillus polymyxa</i> , c: <i>B. thrungiensis</i> , d: <i>B. anthracis</i> , e: <i>B. amyloliquefaciens</i> , f: <i>Pseudomonas alcaligenes</i>)	38
Şekil 4. 5. Bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin <i>S. sclerotiorum</i> 'a karşı etkisi (35: <i>Bacillus</i> sp., 38-1: <i>Paenibacillus polymyxa</i> , 46: <i>B. thrungiensis</i> , 47-1: <i>B. anthracis</i> , 52-1: <i>B. amyloliquefaciens</i> , 55: <i>Pseudomonas alcaligenes</i> , C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)	41

- Şekil 4. 6. Bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin fungusun gelişimine etkisini gösteren sonuçlar (a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thrungiensis*, d: *B. anthracis*, e: *B. amyloliquefaciens*, f: *Pseudomonas alcaligenes*, C-: Negatif kontrol) 43
- Şekil 4. 7. *In vivo* koşullar altında *Sclerotinia sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının temas etkisi (35: *Bacillus* sp., 38-1: *Paenibacillus polymyxa*, 46: *B. thrungiensis*, 47-1: *B. anthracis*, C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol) 44
- Şekil 4. 8. Hıyar meyvesi üzerinde *S. sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının temas etkisi uygulaması (C+: pozitif kontrol, C-: negatif kontrol, a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thrungiensis*, d: *B. anthracis*) 45
- Şekil 4. 9. *In vivo* koşullar altında *S. sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi (35: *Bacillus* sp., 38-1: *Paenibacillus polymyxa*, 46: *B. thrungiensis*, 47-1: *B. anthracis*, C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol) 46
- Şekil 4. 10. Hıyar meyvesi üzerinde *S. sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi uygulaması (C+: pozitif kontrol, C-: negatif kontrol, a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thrungiensis*, d: *B. anthracis*) 48

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan teşhisi yapılmış bakteri türleri	21
Çizelge 3. 2. Çalışmada kullanılan besi yerleri	23
Çizelge 4. 1. Bakteri suşlarının fungusun miselyum gelişimine etkisi	37
Çizelge 4. 2. Bakteri suşlarının <i>S. sclerotiorum</i> 'un sklerot yapısına etkisi	40
Çizelge 4. 3. Bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin fungusa etkisi	41
Çizelge 4. 4. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'a karşı bakteri suşlarının temas etkisi	44
Çizelge 4. 5. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> izolatına karşı bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi	47

1. GİRİŞ

Dünya üzerinde kültür bitkilerinde görülen hastalık ve zararlılar önemli derecede bitkisel ürün kayıplarına neden olmaktadır. Ürün kayıplarına neden olan bu etmenlere karşı etkin bir şekilde entegre mücadele yöntemleri uygulanmaktadır. Bu yöntemlerden en etkili olarak kabul edilen kimyasal mücadele kolay ve hızlı bir şekilde uygulanabiliyor olması, kesin sonuçlar vermesi gibi özelliklerinden dolayı en yaygın kullanılan mücadele yöntemlerindendir. Kimyasal mücadele yöntemleri çevre ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere sebep olmaktadır. Ayrıca pestisitlerin gelişigüzel uygulanması sonucunda kalıntı problemleri ortaya çıkmakta, doğal denge bozulmakta, hastalık ve zararlılara karşı direnç kazanmaktadır. Bütün bu olumsuzluklardan dolayı yeni alternatif mücadele yöntemlerine geçiş başlamıştır. Bu alternatif mücadele yöntemlerinden biriside günümüzde etkinliği kanıtlanmaya devam eden ve gün geçtikçe kimyasal mücadelenin yerini alabilecek bir yöntem olan antagonistik bakteriler yardımıyla patojenlerin etkinliğini sınırlama veya ortadan kaldırma yöntemidir. Bu mücadele şekli patojenlerin pestisitlere karşı direnç kazanmaya başladığı bu dönemde alternatif mücadele yöntemlerinin başında gelmektedir.

FAO (2019) verilerine göre Dünya'daki sebze üretim miktarı 1 130 203 768 ton iken sadece hıyar üretim miktarı 87 805 086 tondur. Türkiye istatistik kurumunun (TÜİK) verilerine göre 2019 yılında sebze üretim miktarı 31.1 milyon ton iken 2020 yılında % 0.3 artış göstererek yaklaşık 31.2 milyon ton olmuştur. Aynı yıl sebzeler grubundaki önemli ürünlerde (domates, soğan, salçalık karpuz biber, karpuz) belli artışlar görülürken hıyarda (*Cucumis sativus* L.) ise % 1.6 oranında bir azalma görülmüştür. 2020 yılı verilerine göre sebze üretimi bakımından Türkiye'de hıyarın 1 886 239 tonluk üretim miktarıyla önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir (TÜİK, 2020). 2019 yılında yayımlanan verilere göre ise hıyarın 360.182 dekarlık ekim alanına sahip olduğu bilinmektedir (TÜİK, 2019).

Hıyar (*C. sativus* L.) birçok ülkede popüler sebzelerin başında gelmektedir ve 118 cins - 825 türe sahip *Cucurbitaceae* ailesine aittir (FAO, 2006). Bu bitkinin meyvesi daimi yeşil renklidir. Hıyar bitkisinde su anabilesen olup (%96) çok sayıda vitamin, mineral ve

organik asit bulunur. Bulunan bu bileşenler de onu besleyici bir ürün haline getirir (Vogel, 1996).

Arazi koşullarında ve örtü altı yetiştiriciliğin yapıldığı alanlarda, sebzelerde beyaz çürüklük hastalığına yol açan ve toprak kaynaklı bir patojen olan *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Discomycetes* sınıfının *Helotiales* takımının *Sclerotiniaceae* familyası içerisinde yer almaktadır (Melzer ve ark., 1997). *Sclerotinia* hastalıkları günümüzde beyaz küf, sulu yumuşak çürüklük, pamuklu çürüklük, gövde veya taç çürüklüğü gibi çeşitli isimlerle anılmaktadır (Agrios, 1997).

S. sclerotiorum'un ilk isimlendirilmesi 1837 yılında Libert tarafından *Peziza sclerotiorum* olarak yapılmıştır. Hastalık etmeninin günümüze kadar taksonomik olarak çok farklı sınıflandırmaları yapılmış olup, Fuckel bu patojeni 1870 yılında *Sclerotinia* cinsine dahil ederek adını *S. libertiana* olarak değiştirmiştir. 1884 yılında Bary tarafından "Uluslararası Botanik Adlandırma Kuralları" ile *S. sclerotiorum* olarak son halini almıştır. Fakat 1972'de Korf bu patojenin *Whetzelinia* olduğunu ileri sürmüş, buna 1979 yılında Kohn karşı çıkmıştır. Ve patojenin cins adı *Sclerotinia* olarak günümüze kadar gelmiştir (Yanar, 1997).

S. sclerotiorum, ekonomik açıdan önemli birçok ürün de dahil olmak üzere dünya çapında bir dağılıma ve geniş bir konak yelpazesine sahip nekrotrofik bir bitki patojenidir. Yaklaşık 64 familya, 225 cins ve 361 türe ait bitki türünün *S. sclerotiorum* patojenine karşı hassas oldukları bilinmektedir (Purdy, 1979).

Adams ve Ayers (1979), bir araştırmasında ılıman iklimli bölgelerde yoğun bir şekilde görülen ve geniş bir konukçu çevresine sahip olan *S. sclerotiorum* hastalığının neredeyse tüm geniş yapraklı tarım ürünlerinde hastalığa neden olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bu patojenin sklerotlarının toprak içerisinde 5 yıldan daha fazla sürede hayatını devam ettirdiği kaydedilmiştir.

Martens ve ark. (1994), *S. sclerotiorum*'un, kanola da gövde çürüklüğü, ayçiçeğinde baş, gövde ve taban çürüklüğü, fasulyede beyaz çürüklük ve yoncada taç ve gövde çürüklüğü dahil olmak üzere Batı Kanada'nın ekonomik açıdan en önemli hastalıklarından bazılarını neden olduğunu öne sürmüşlerdir.



Şekil 1. 1. *Sclerotinia sclerotiorum* sklorat yapısı

Cristea ve ark. (1985), *S. sclerotiorum*'u tıbbi aromatik bitkilerden izole ettiklerini ve simptomlarını tarla şartlarında inokulasyon ile yeniden elde ettiklerini belirtmiştir. Garibaldi ve ark. (2001), süs bitkilerinden *Calendula officinalis*'in *S. sclerotiorum*'un konukçusu olduğunu belirtmiştir. Fungusun başlıca konukçuları; hıyar, lahana, karnabahar, havuç, salata, marul, kavun, karpuz, biber, patlıcan, domates, fasulye ve kerevizdir (Anonim, 2019a).

S. sclerotiorum'un nekrotrofik homotallik bir patojen olduğu bilinmekte ve bu patojenin neden olduğu hastalıkların epidemiyolojisinde sklerotların uzun vadede canlı kalabilme yeteneğine sahip olmalarının yanı sıra kitlesel çoğalma potansiyeli gibi özellikleri nedeni ile de önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Bunlar, çevresel koşullara göre miselyal olarak ya da apotesyum oluşturmak kaydıyla 2 şekilde çimlenebilirler. Miselyal olarak çimlenen sklerotlar, hif üretirler ve bu hiflerle bitki dokusunu doğrudan enfekte edebilirler (Bolton ve ark., 2006). Sklerotların çimlenmesi ile oluşan apotesyumlar ise, askosporları meydana getirirler. Bu askosporlar ise konukçusu olduğu bitkilerin toprak üstü aksamını enfekte ederler. Hifler; her iki çimlenme tipinde de görülür. Bölmeli, dallanmış ve çok çekirdekli olan hifler kültür ortamında ve bitki üzerlerinde miselyumları

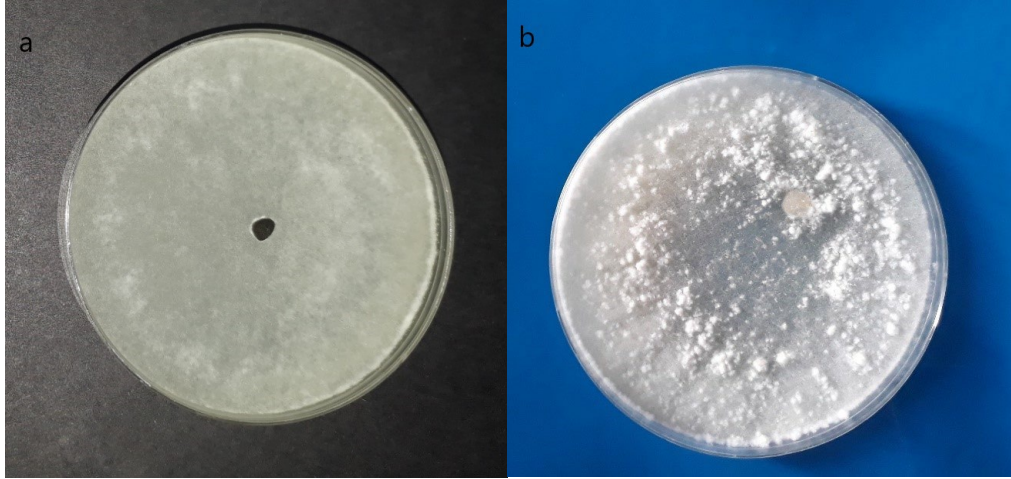
oluştururlar. *Sclerotinia* eşeysiz sporlara sahip olmamasına rağmen, apotesyal hymenium ya da hifler üzerinde mikrokonidiler üretebilmektedir (Kohn, 1979). Bu mikrokonidiler ise çimlenme yeteneğine sahip olmadığını bildirmişlerdir (Bolton ve ark., 2006).

Sclerotinia türlerinin neden olduğu belirtiler çeşitli şartlara göre (konukçu, çevre koşulları vb.) değişiklik göstermektedir. Fungusun en tipik belirtisi; enfektelenmiş bitkiler üzerinde bir araya gelmiş dinlenme yapılarının görülmesi ve bu dinlenme yapılarından beyaz tüylü misellerin gelişim göstermesidir. Ayrıca enfektelenmiş bitki gövdelerinin tabanında açık veya koyu kahverengi lezyonlar gelişebilir ve ilerleyen zamanlarda bunlar pamuksu fungal miselyumlarla kaplanabilir. Hastalığın erken evrelerinde yapraklar normal bir şekilde görünmektedir ve hastalıklı bitkiler kolay kolay fark edilmemektedir. Bu fungus tamamen gövdede etkilidir. Fakat bazı durumlarda yaprakların tazeliğini kaybettiği ve bunun sonucunda da yaprak sarkmalarının meydana geldiği bilinmektedir. Enfeksiyonun yapraklarda başlamasının ardından, ileriki zamanlarda hastalığın yapraktan gövdeye doğru taşındığı, fungusun dinlenme yapılarının gövde içerisinde veya gövdenin dış kısmında geliştiğini rapor edilmiştir (Agrios, 1997).

S. sclerotiorum'un hayatta kalması büyük ölçüde sklerot üretimine ve canlılığına bağlıdır (Abdullah ve ark., 2008).



Şekil 1. 2. *S. sclerotiorum* hastalık etmeninin hıyar bitkisinin gövde (a) ve meyve (b) üzerindeki belirtileri (Onaran ve Yanar, 2009)



Şekil 1. 3. *S. sclerotiorum*'un besi yerindeki gelişimi

Bu hastalıkla ilgili biyolojik mücadelede, tarla koşullarında sklerotlara saldırıp içine girerek onların parçalanmasına yol açan *Coniothyrium minitans* ve *Sporidesmium sclerotiorum* gibi bazı mikoparazitlerin etkili olduğu bildirilmiştir (Ayers ve Adams, 1981). Bununla birlikte, bu gibi biyolojik etmenlerin üretim ve kullanımında bazı zorluklar bulunmaktadır. Örneğin, büyük miktarlarda inokulum üretmek amacıyla *in vitro* koşullarda *S. sclerotiorum*'u geliştirmek güçtür (Del Rio ve ark., 2002). Bunun dışında belirli organik ve inorganik maddelerin (Kalsiyum siyanamid, sarımsak ekstraktı, uçucu yağlar) kullanımı, *S. sclerotiorum*'un mücadelesi için önermektedirler (Klasse, 1995; Kurt ve Erkılıç, 1997). Bunların yanısıra uzun süredir *S. sclerotiorum*'un neden olduğu hastalıklarda kontrol yöntemi olarak çeşitli fungisitler (Iprodine, Dazomet) kullanılmaktadır. Patojenin hem miselyal hem de sklerotiyal çimlenme özelliği nedeniyle farklı mücadele şekillerinin uygulanması gerekmektedir. Örneğin, bitkinin toprak üstü aksamının askospor enfeksiyonundan korunması, hem yaprak uygulamaları hem de askospor inokulumunun azaltılmasını gerektirir. Oysaki toprak altı bitki dokularının miselyal enfeksiyondan korunması toprak uygulamalarını zorunlu kılar (Bardin ve Huang, 2001). Ancak, bu fungusun benomyl gibi fungisitlere karşı her zaman dayanıklılık geliştirme riski bulunmaktadır (Gossen ve ark., 2001).

S. sclerotiorum'un biyolojik kontrolü, son 20 yılda oksalat oksidaz (Tu, 1985), hiperparazitizm (Huang ve Kokko, 1993; Gracia-Garza ve ark., 1997), besin rekabeti (Yuen ve ark., 1991) ve antibiyotik yoluyla olmak üzere çok sayıda çalışmada başarıyla kanıtlanmıştır (Oedijono ve ark., 1993).

Mikrobiyal çeşitlilik, biyoteknolojik ürünler ve süreçler için önemli bir kaynaktır. Bakteriler, endüstriyel öneme sahip geniş bir ürün yelpazesi üreten bu çeşitliliğin en baskın grubu olarak rapor edilmiştir (Lal ve Tabacchioni, 2009).

Bacillus, genellikle çubuk veya çomak şeklinde, sporlu, gram-pozitif bir bakteri cinsidir ve sporları ısıya dayanıklıdır. Bu cins bakteriler genellikle havada, suda, tozlarda, dışkıda ve toprakta canlı olarak bulunabilmektedir (Anonim, 2019b). Ayrıca *Bacillus* sporlarının düşük pH, safra tuzları ve mide ortamında bulunan diğer sert koşullara karşı dirençli olduğu da rapor edilmiştir (Chaiyawan ve ark., 2010; Shivaramaiah ve ark., 2011).

Patojenik olmayan ve endospor oluşturan *Paenibacillus polymyxa* (eski adıyla *Bacillus polymyxa*), endüstriyel açıdan en önemli fakültatif anaerobik bakterilerden biridir. Toprakta, rizosferde, kültür bitkilerinin köklerinde ve deniz sedimanlarında doğal olarak bulunur. *P. polymyxa* nitrojen fiksasyonu, bitki büyümesini teşvik etme, toprak fosforunun çözündürülmesi ve ekzopolisakkaritlerin, hidrolitik enzimlerin, antibiyotiklerin ve sitokinin üretimi açısından geniş özelliklere sahiptir. Aynı zamanda biyoflokülasyona ve toprak gözenekliliğinin artmasına yardımcı olduğuda bilinmektedir (Lal ve Tabacchioni, 2009). *Paenibacillus* spp.'nin bitki köklerinin etrafında, patojenlerin bitki dokusuna erişimini engelleyen koruyucu bir tabaka olarak işlev gören bir biyofilm oluşturabildiği kanıtlanmıştır (Timmusk ve ark., 2005).

B. thuringiensis genellikle biyolojik pestisit olarak kullanılan ve toprakta yaşayan gram-pozitif bakterilerdir (Anonim, 2020a). *B. thuringiensis*; bitki yapraklarının yüzeylerinde, sucul ortamlarda, hayvan dışkısında, çeşitli güve ve kelebek türlerinin (Lepidoptera) sindirim sistemlerinde, böcek popülasyonunun yoğun olarak bulunduğu ortamlarda, değirmenlerde ve tahıl depolarında doğal olarak bulunmaktadır. Spor devrelerinde, birçok *B. thuringiensis*'in δ -endotoksinleri denilen proteinli inklüzyonlar (kristal proteinler) üreterek böcekleri öldürdüğü görülmüş bu da bu bakteri türünün insektisidal özelliğini ortaya çıkarmıştır. Birçok kristal üreten *B. thuringiensis* suşu olsa da hepsinin insektisidal (böcek öldürücü) özelliklerinin olmadığı bildirilmiştir (Anonim, 2020b).

Şarbon hastalığının etkeni olan bakteri *B. anthracis*, ılıman iklimli bölgelerde toprakta yaşar (Andersen ve ark., 1996). *B. anthracis*, Bacillaceae familyası içerisinde *Bacillus* cinsine ait spor oluşturan, gram pozitif bir bakteridir (Kolstø ve ark., 2009). *B. anthracis*

oldukça monomorfiktir, yani çok az genetik çeşitlilik gösterir ve öncelikle çevrede, toprakta oldukça kararlı, hareketsiz bir spor olarak bulunur. Bununla birlikte, organizmanın bitkilerin rizosferinde konakçı dışında büyüüp kalabileceğine dair kanıtlar vardır (Saile ve Koehler, 2006). Hayvan ve insan patojeni *B. anthracis* ile böcek patojeni *B. thuringiensis* yakından ilişkilidir. İlki biyolojik bir silah, ikincisi ise pestisit olarak kullanılmaktadır (Ivanova ve ark., 2003).

Gram pozitif bir bakteri (Tanji ve ark., 2000) ve aynı zamanda çevresel bir tür olan *B. amyloliquefaciens*, bitki büyümesini destekler ve rizosferde bulunan bitki patojenik organizmalarını baskılamaktadır (Koumoutsis ve ark., 2004).

Pseudomonas alcaligenes'in, toprak ve su kaynaklı yaygın bir patojen olduğu (Valenstein ve ark., 1983), nadirde olsa bazen insan patojeni olarak görüldüğü de bilinmektedir (Valenstein ve ark., 1983, Suzuki ve ark., 2013). *P. alcaligenes*, fermente olmayan gram negatif bir bakteri ve *Pseudomonadaceae* familyasına ait bir türdür (Flores-Carrero ve ark., 2016). *P. alcaligenes* fenotipik olarak heterojen bir bakteridir (Pickett ve Greenwood, 1986). *Rhizobacteria* grubundan *Pseudomonas* spp. gibi bitkiler için bazı faydalı mikroorganizmalar, gübre olarak veya bitki patojenlerinin biyolojik kontrol aracı olarak hizmet edebilir ve bitki direncini artırabilir (Alabouvette ve ark., 1996). Bazı *Pseudomonas* çalışmalarında; *Pseudomonas*'ın bitki büyümesini teşvik ettiği ve bazı toprak kaynaklı fungal etmenlerin neden olduğu enfeksiyonlara karşı bitkileri koruduğu açıkça belirtilmiştir (Weller ve Cook, 1986). *P. alcaligenes*, polisiklik aromatik hidrokarbonları (PAH) parçalayabildiğinden, petrol kirliliğinin, pestisitlerin ve bazı kimyasal maddelerin biyolojik olarak iyileştirilmesi amacıyla kullanıldığı da bildirilmiştir (O'Mahony ve ark., 2006).

Birçok bitki ve mikroorganizma tarafından salgılanan uçucu organik bileşiklerin insanlara, bitkilere ve hayvanlara fayda sağladığı bilinmektedir. Bazı uçucu organik bileşikler zararsız, bazıları zararlı, bazıları ise nispeten düşük konsantrasyonlarda hayvan sağlığına fayda sağlayabilir (Kai ve ark., 2009; Mendes ve ark., 2013). Uçucu organik bileşiklerin toprak mikroorganizmaları tarafından salınmasının bitki büyümesini desteklediği ve iyileştirdiği (Asari, 2015; Ryu ve ark., 2003), nematisidal aktivite sergilediği (Gu ve ark., 2007) ve mahsullerde sistemik direnci indüklediği (Zamioudis ve ark., 2015) farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Daha önceki yapılan çalışmada

araştırmacılar ayrıca bakteriler tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin patojenik fungusların büyümesini (Fiddaman ve Rossall, 1994) ve spor çimlenmesini engelleyebileceğini (McKee ve Robinson, 1988) bulmuş ve bu da bakteriler tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin bazı toprak kaynaklı fungus hastalıklarına karşı bir biyo-kontrol mekanizması olabileceğini düşündürmüştür (Yuan ve ark., 2012). Uçucu organik bileşikler, oda sıcaklığında ve atmosferik basınçta kolaylıkla buharlaşabilir (Wang ve ark., 2013). Ayrıca bakteriler tarafından üretilen uçucu organik bileşikler organizmalar arasındaki ilişkileri, etkileşimleri ve iletişimi düzenler (Cernava ve ark., 2015; Effmert ve ark., 2012; Fischer ve ark., 2015). Ek olarak, uçucu organik bileşikler çevrede bir arada bulunabilir ve doğal koşullar altında kolayca ayrışabilir (Gao ve ark., 2017).

Endofitik bakteriler; bitki hastalıklarını kontrol edebilir (Nandhini ve ark., 2012; Zhang ve ark., 2015), mahsullerin büyümesini teşvik edebilir (Chen ve ark., 2014; Faria ve ark., 2013), ürün direncini arttırabilir (Kang ve ark., 2007; Pavlo ve ark., 2011) ve organik kirleticilerin bozulmasını teşvik edebilirler (Kukla ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2014). Tüm bu biyolojik etkiler arasında, endofitik bakterilerin antifungal aktivitesi hakkında son yıllarda oldukça geniş çapta araştırma yapılmıştır.

Bitki dokusunda yaşayan endofitik bakteriler, konakçılarıyla uyumlu bir şekilde bir arada var olabilir. Endofitik bakterilerin uçucu organik bileşikleri, bitki konakçılarına karşı hiçbir yan etki göstermez. Doğal olarak oluşan uçucu bileşikler, insanlar ve çevre için güvenli olan yeni antifungal ajanların umut verici bir kaynağıdır. Bu uçucu organik bileşiklerin antifungal aktiviteleri açısından taranması, biyopestisitlerinin geliştirilmesi yeni bir stratejidir (Gao ve ark., 2017). Bununla birlikte, endofitik bakterilerin uçucu organik bileşikleri sentezleme yeteneği günümüzde yeterince çalışılmamıştır.

Bu çalışmada, *Bacillus* sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10, *B. thuringiensis* L14, *B. anthracis*, *B. amyloliquefaciens* B11 ve *Pseudomonas alcaligenes* W5-8 tarafından üretilen uçucu organik bileşikler karakterize edilmiş ve bunların bitki patojeni fungus olan *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal aktiviteleri test edilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitki patojenlerinin biyolojik kontrolü, bitki sağlığını iyileştirmek için hastalık baskılayıcı mikroorganizmalar ile gerçekleştiği bildirilmiştir (Handelsman ve Stabb, 1996). Biyolojik kontrolün, gıda kontaminasyonu ve çevre kirliliği konusunda ciddi endişeler uyandıran kimyasal fungusitlere karşı güvenilir bir alternatif yöntem olduğu son zamanlarda ortaya konulmuştur. Biyokontrolün çevre dostu olduğu, güvenli ve uzun vadede koruma sağladığı bilinmektedir. Bazı saprotrofik bakterilerin ise, bitki patojenlerine karşı biyokontrol ajanları olarak görev görebildiği rapor edilmiştir (Fernando ve ark., 2005).

Toprakta bulunan bazı mikroorganizmaların, atmosfere bitki büyümesini ve patojen direncini etkileyen uçucu organik bileşikler saldıği bildirilmiştir (Gao ve ark., 2017). Bitkilerde, funguslarda, aktinomisetlerde ve bitki büyümesini destekleyen rizobakterilerde çeşitli uçucu organik bileşiklerin varlığı kanıtlanmıştır. Bu uçucu organik bileşiklerin; alkoller, nitrojen bileşikleri, aldehitler, ketonlar, alkanlar, olefinler, fenoller, asitler, esterler ve eterler olarak ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Fernando ve ark., 2005; Li ve ark., 2014; Perestrelo ve ark., 2016).

Mikroorganizmalar, uçucu organik bileşikler ve uçucu bileşiklerin karmaşık kombinasyonları da dahil olmak üzere çeşitli uçucu bileşikler üretebilmektedir. Mikrobiyal kökenli uçucu organik bileşikler, antimikrobiyal özelliklere sahip olabilir, bitki büyümesini baskılayabilir veya uyarabilir ve havada veya suda yaşayan çözeltilerde yayılan organizmalar (infokimyasallar) arasında uzun mesafeli iletişim için sinyaller görevi görebilir. Mikrobiyal kökenli uçucu organik bileşiklerin kimyasal çeşitliliği tıpta, biyoteknolojide ve tarımda uygulama alanı bulabilen yeni bileşikler için bir kaynak sağlamaktadır. Şu anda bilinen bakteriyel uçucu bileşikler, yapıları, biyosentezleri ve biyolojik aktiviteleri, organik uçucu bileşikler ve bakteriler üzerindeki etkilerine özel vurgu yapılarak tartışılmaktadır. Mikroorganizmalar, bir dizi çeşitli uçucu maddeyi sentezleyebilir. Bunların çoğu, düşük kaynama noktalarına ve küçük moleküler kütlelere (ortalama 300 Da) sahip uçucu organik bileşiklerdir. Bakteriyel ve mantar kökenli uçucu bileşikler, peynir, şarap, yoğurt vb. gıda maddelerinin aromasından ve aynı zamanda

aşındırıcı gıda maddelerinin hoş olmayan kokusundan sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Veselova ve ark., 2019).

Zazzerini ve Tosi (1985), yaptıkları bir sera çalışmasında ayçekirdeğinde (*Helianthus annuus*) sık rastlanan *S. sclerotiorum* fungal patojenine karşı, İtalya'da topraklardan elde ettikleri bakteri ve fungusların antogonistik aktiviteleri üzerine bir deneme yapmışlardır. Denemede sterilize ve sterilize edilmemiş toprakta tek tür ve kombinasyonlar kullanılmıştır. Fungal inokulum kaynağı toprağa karıştırılmış ve tohumda bakteri ile kaplanmıştır. *T. viride* ise iprodione ile kombine ederek uygulanmıştır. Ayçiçeğinde hastalığın azalmasında en kayda değer sonucun *T. viride*'nin *B. subtilis* ile *T. viride*'nin ise *Coniothyrium minitans* ile kombinasyonlarında görüldüğünü belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra, antagonistlerin sterilize edilmemiş topraklarda daha az etkili olduğunu kaydetmişlerdir.

Yapılan bazı çalışmalarda *Pseudomonas* türlerinin, antibiyotikler veya pyoverdin sideroforlar (Loper ve Buyer, 1991) gibi ikincil metabolitler üretebildiği veya bitki patojenlerini baskılayan besinler için rekabet ettiği bildirilmiştir (Andrews, 1992). Ayrıca Pseudomonadların, fenazin (Thomashow ve Weller, 1988), pirolnitritin (Kanner ve ark., 1978), oomisin A (Howell ve Stipanovic, 1979), geldanamisin (Rothrock ve Gottlieb, 1984), piyolüteorin (James ve Gutterson, 1986), piyosiyenin (Gutterson ve ark., 1988) ve 2-4 diasetilfloroglisinol (Vincent ve ark., 1991), içeren geniş bir antibiyotik yelpazesi ürettiği bildirilmiştir.

Bir denemede *Streptomyces albidoflavus* tarafından üretilen albaflavenon enziminin, *B. subtilis*'e karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği kanıtlanmış ve böylece bakteriyel uçucu organik bileşiklerin diğer bakteriler üzerinde inhibe edici etkisinin olduğu da kanıtlanmıştır (Gurtler ve ark., 1994).

Fernando ve Linderman (1994) tarafından yapılan çalışmada, *Pseudomonas* türlerinin *in vitro* koşullarda börülce bitkisinde *Phytophthora vignae*'ye karşı organik uçucu maddeler üretebildiği rapor edilmiştir.

Bir çalışmada gerçekleştirilen *in vitro* koşullar altında antagonistik bakteri türü olan *Pseudomonas* spp.'nin çilek bitkisinde *Verticilium dahliae* etmeninin gelişimini, kitinaz

ve hücre duvarını parçalayan enzimler sayesinde engellediği bildirilmiştir (Berg ve ark., 1994).

Paulitz ve Bélanger (2001), *Sclerotinia*, *Pythium*, *Rhizoctonia* ve *Fusarium* gibi toprak kaynaklı patojenleri kontrol etmeye yönelik biyolojik ajanlar arasında *Bacillus*, *Gliocladium*, *Trichoderma*, *Streptomyces* türleri, *Coniothyrium minitans* ve patojenik olmayan *Fusarium*'un yer aldığını bildirmişlerdir.

Yapılan kapsamlı çalışmalarla *Sclerotinia*, *Fusarium*, *Botrytis*, *Phytophthora*, *Pythium* spp. ve *Rhizoctonia solani* gibi toprak kaynaklı bitki patojenlerinin kontrolünde bakterilerden; *Bacillus* spp., *B. subtilis*, *B. pumilis*, *Pseudomonas* spp., *P. syringae*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *Agrobacterium radiobacter*, *Streptomyces* spp., *Erwinia herbicola*, *Serratia marcescens*, *S. plymuthica* ve fungus türlerinden ise *Trichoderma* spp. bitki patojenlerine karşı biyolojik silah olarak kullanıldıkları ve iyi bir antagonistik özelliğe sahip oldukları kanısına varılmıştır (Paulitz ve Belanger, 2001; Bora, 2002).

Yapılan bir çalışmada ise, içerisinde *Pseudomonas* türlerinin de bulunduğu bazı bakteriyel antagonistlerin tarla koşullarında yapraklarda *Sclerotinia sclerotiorum* askosporlarının çimlenmesini engellediği (Savchuk, 2002) ve apotesyum oluşumunun engellendiği (Thaning ve ark., 2001) rapor edilmiştir.

Hatay ilinin farklı ilçelerinde yürütülmüş olan bir çalışmada farklı bölgelerde yetiştirilen biberlerin rhizosferlerinden izole edilmiş olan 72 adet bakteri izolatının içerisinde *S. sclerotiorum*'un da bulunduğu toprak kaynaklı fungal etmenlerin gelişimini engelleme düzeylerini *in vitro* koşullar altında test etmişlerdir. Yapılan ikili kültür denemelerinde, *S. sclerotiorum*'un fungal gelişiminin en yüksek düzeyde *Bacillus* izolatları tarafından engellendiğini tespit etmişlerdir (Soylu ve ark., 2002).

S. sclerotiorum ve *B. cinerea*'ya karşı bugüne kadar *in vitro* şartlar altında etkisi kanıtlanmış ve uygulamaya geçirilmiş biyolojik ajanlar ise şunlardır; *Bacillus* ve *Pseudomonas*, *Pythium*, *Trichoderma*, *Gliocladium* ve *Ulocladium*'dur (Paul, 1999; Köhl ve ark., 2000; Elad ve Stewart, 2004).

Farklı bir çalışmada, solarize topraklarda yetişen domates bitkilerinin kök uçlarından izole edilerek seçilen 435 bakteri izolatından 53'ünün, ikili kültürlerde *V. dahliae* ve

içerisinde *S. sclerotiorum*'un da bulunduğu diğer bazı toprak kaynaklı patojenlere karşı antagonistik özellikte olduğu bulunmuştur. K-165 ve 5-127 olarak adlandırılan en etkili bakteri izolatlarının rizosfer kolonizörü olduğu, ikili kültürlerde *V. dahliae*'nin misel büyümesini inhibe etmede ve konakçıların *Verticillium* solgunluğunu başarıyla kontrol etmede çok etkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan yağ asidi analizi sonucunda, K-165 izolatının *Paenibacillus alvei*'ye, 5-127'nin *B. amiloliquefaciens*'e ait olabileceğini saptamışlardır. Ağır *Verticillium* istilasına uğramış patates tarlalarında yapılan denemelerde, hastalıklı patates bitkilerindeki semptom gelişiminde önemli bir azalma ve işlem görmemiş kontrollere göre verimde %25 artış görülmüştür. Antagonistlerin rizosferik ve endofitik aktivitesinin test edilmesi, bakterilerin rizosferde yaşamalarına rağmen, tercihen domates ve patlıcanların endorizosferini de kolonize ettiklerini göstermişlerdir (Tjamos ve ark., 2004).

Bir çalışmada, kanola ve soya fasulyesi bitkilerinden izole edilen bakterilerin (*P. fluorescens*, *P. corrugata*, *P. chlororaphis*, *P. aurantiaca*) ürettiği uçucu organik bileşiklerin, *in vitro* ve toprak testlerinde sklerot ve askospor çimlenmesini ve *S. sclerotiorum*'un miselyal büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Askospor çimlenmesi, uçucu organik bileşikler tarafından %54-90 oranında inhibe edilmiştir. Bu uçucu maddelere maruz kalan miselyumlar, agar içeren petri kaplarına aktarıldığında, patojenin büyümediği kaydedilmiş, bu da uçucu organik maddelerin fungus öldürücü özelliğini ortaya koymuştur. Bu denemede bakteriler tarafından üretilen uçucu organik bileşikler, Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) kullanılarak tanımlanmıştır. Bölünmüş petri kaplarında antifungal aktivite için deneye tabi tutulan 23 bileşik, filtre disklerine damlatılmış (100 ve 150 ml) ve sonucunda sadece altı bileşik (benzotiyazol, sikloheksanol, n-dekanal, dimetil trisülfür, 2-etil 1-heksanol, nonanal), misel büyümesini ve sklerot oluşumunu tamamen inhibe etmiştir. Bu çalışmanın sonucunda uçucu organik bileşiklerin sklerotiyal aktivitenin engellenmesinde, askospor üretimini sınırlandırmada ve hastalık seviyelerini düşürmede önemli bir rol oynadığı ortaya konulmuştur (Fernando ve ark., 2005).

Yapılan başka bir çalışmada *Bacillus* cinsine ait birkaç türün, özellikle *B. subtilis* ve *B. amiloliquefaciens* türlerinin, toprak kaynaklı (Leclerc ve ark., 2005; Chen ve ark., 2009) veya hasat sonrası patojenlerin (Senghor ve ark., 2007; Yang ve ark., 2008; Kotan ve ark.,

2009) neden olduğu çoklu bitki hastalıklarının biyolojik kontrolünde etkili olduğu bildirilmiştir. *Bacillus* cinsinin üyeleri bu nedenle en çok mikrobiyal biyopestisitler olarak kullanılan faydalı bakteriler arasında yer almaktadır. Ayrıca *Bacillus* bazlı ürünler, ticari olarak temin edilebilen bakteriyel biyo-kontrol ajanlarının yaklaşık yarısını temsil etmekte olduğunu belirtmişlerdir (Favel, 2005).

Lokal bir *Trichoderma harzianum* ve *B. amyloliquefaciens* izolatları, *S. sclerotiorum*'a karşı potansiyel biyolojik kontrol ajanları olarak *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmada, *T. harzianum* ve *B. amyloliquefaciens*'in *S. sclerotiorum*'un misel ve sklerot büyümesini ve üretimini engellediği görülmüştür. Bu izolatların, *S. sclerotiorum* ile aşılanmış domates, kabak ve patlıcan fidelerinin %80'inden fazlasını koruduğu tespit edilmiştir. *S. sclerotiorum*'un kontrolünde iki ticari ürün olan PlantShield ve SoilGard ile karşılaştırıldığında *T. harzianum* ve *B. amyloliquefaciens*'in etkinliğinin, mahsul bitkisine bağlı olarak benzer veya biraz daha düşük olduğunu bildirmişlerdir (Abdullah ve ark., 2008).

Mansour ve ark. (2008), *in vivo* ve *in vitro* koşullar altında gerçekleştirdikleri biyolojik mücadele çalışmalarında, *S. sclerotiorum* ile inokule edilen domates, patlıcan ve kabak tohumlarında *B. amyloliquefaciens*'in etkinliğini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *B. amyloliquefaciens*'in %80'in üzerinde sklerot üretimini ve fungus gelişimini engellediği belirlenmiştir.

Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalarda *B. velezensis*'in, bitki büyümesini teşvik etme (Meng ve ark., 2016), bitki hastalıklarını kontrol etme (Nam ve ark., 2009) ve kirleticileri azaltma gibi bazı fonksiyonları çeşitli denemeler sonucu kanıtlanmıştır (Bafana ve ark., 2008).

Yapılan bir çalışma bitki ile ilişkili olan *B. amyloliquefaciens* GAI suşunun genetik ve biyokimyasal karakterizasyonu, suşun biyo-kontrol ve bitki büyümesini teşvik için büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermişlerdir (Arguelles-Arias ve ark., 2009).

Başka bir çalışmada ise *P. fluorescens* ve *S. plymuthica*'nın uçucu organik bileşikleri, bitki patojenleri *A. tumefaciens* ve *A. vitis* üzerinde gerçekleştirilen *in vitro* denemelerinde bakteriyostatik etki göstermişlerdir (Dandurishvili ve ark., 2011).

Yapılan bir çalışmada ise muz bitkilerinde sık rastlanan patojen fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*'e karşı, antagonistik bir tür olan *B. amyloliquefaciens* NJN-6 ile çalışılmıştır. *B. amyloliquefaciens* tarafından üretilen uçucu organik bileşikler, misel büyümesini ve *F. oxysporum* sporlarının çimlenmesini kontrol denemelerine kıyasla azalttığı görülmüştür. Uçucu organik bileşiklerin fungusun misel uzunluğunu azalttığı ve kolonilerin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. *F. oxysporum*'un uçucu organik bileşikler tarafından inhibisyonunun, 3 günün sonunda kontrole kıyasla yaklaşık % 30 ile 40 olduğu, bu da bakteriyel uçucu organik bileşiklerin *F. oxysporum*'u öldüremediğini, ancak fungus miselleri üzerinde önemli ölçüde inhibe edici bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir (Yuan ve ark., 2012).

Meldau ve ark. (2012), *Bacillus* sp. B55'in *Nicotiana attenuata* üzerindeki etkilerine uçucu organik bileşiklerin aracılık ettiğini tespit etmiştir. İki bölmeli petri kaplarında yürütülen denemenin sonucunda, *Bacillus* B55 varlığında yetiştirilen her iki genotipin fideleri, tek başına yetiştirilenlere göre daha fazla yaprak, daha fazla yan kök ve daha uzun köklere sahip olmuştur.

Bir çalışmada patlıcan bitkisinin köklere yakın bölgelerinden izole edilen 10 adet *Bacillus* ve *Pseudomonas* bakterilerinin uçucu bileşiklerinin *F. oxysporum* f. sp. *melongenae* patojeninin koloni gelişimini ortalama %38 ila %72 oranında engellediği kaydedilmiştir. Patlıcan fidelerinde, *P. aeruginosa* ve *P. putida*'nın gelişimi başarılı bulunmuştur. *In vivo* koşullardaki saksı denemelerinde bakteri izolatlarının (*P. aeruginosa*, *P. putida*, *B. amyloliquefaciens* ve *B. cereus*) *Fusarium* hastalık şiddetini %85 oranında azalttığı görülmüştür. Çalışmada kullanılan *P. aeruginosa* ve *P. putida* %70 oranında inhibisyonla en yüksek antagonistik etkiyle kaydedilmiştir. *Bacillus* izolatlarında ise, %50 'nin üzerinde engelleme görülmüştür. Bu çalışmada biyokontrol ajanı bakteri izolatlarından bazılarının, patlıcanda *F. oxysporum* f. sp. *melongenae*'ye karşı bitkide dayanıklılığı teşvik ederek bu hastalığın kontrol altına alınmasında umut vaat edici bir özelliği olduğu bildirilmiştir (Altınok ve ark., 2013).

Bir çalışmada Gomsohang çamur düzlüğü, Mohang çamur düzlüğü ve Kore Cumhuriyeti Jeju Adası'ndan toplanan toplam 62 adet bakteri izolatının arasından CNU114001 izolatı, ikili kültür yöntemi ile patojenik funguslara karşı önemli derecede antagonistik aktivite göstermiştir. İzolat CNU114001, yapılan morfolojik gözlem ve moleküler veri analizi ile

B. amyloliquefaciens olarak tanımlamışlardır. İzolatın, ikili kültür yöntemi ile aralarında *S. sclerotiorum*'un da bulunduğu 12 fitopatojenik fungusa karşı geniş spektrumlu aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Yarı saflaştırılmış bileşik, 200 ppm konsantrasyonda patojenik fungusların (*Alternaria panax*, *B. cinera*, *Colletotrichum orbiculare*, *Penicillium digitatum*, *Pyricularia grisea* ve *S. sclerotiorum*) misel gelişimini önemli ölçüde inhibe etmiştir. Ham antifungal madde, laboratuarda *S. sclerotiorum* hastalık etmenine karşı antagonistik aktivite göstermiş ve sera koşullarında domates kurşuni küfü, hıyar ve kabak küllemesine karşı antagonistik aktivite gösterdiğini saptamışlardır (Ji ve ark., 2013).

Yapılan farklı bir çalışmada bazı bitkisel kökenli uçucu bileşiklerin (aldehitler, fenoller, ketonlar ve alkol) farklı konsantrasyonları üzerine gerçekleştirilen *S. sclerotiorum*'un miselyal gelişimi, sklerotların çimlenmesi ve apotesyum oluşumlarını engelleme düzeyleri yapılan *in vitro* testlerle ortaya konulmuştur. Deneme sırasında etkinliği test edilen uçucu bileşiklerden en güçlü fungisidal etki sırası ile carvacrol, trans-cinnamaldehyd, carvone'de görülmüştür. En etkili bitkisel kökenli uçucu bileşen olarak belirlenen carvacrol'un miselyal gelişimini, sklerot çimlenmesini ve apotesyum oluşumunu, belirlenen konsantrasyonlarda (1.5 µl/ml, 2.0 µl/ml ve 4.0 µl/ml) tamamen engellediği görülmüştür. Etkinliği kanıtlanan bitkisel kökenli uçucu bileşikler arasında, misel gelişimini ve sklerot çimlenmesi en zayıf engelleme oranına sahip bileşikler eugenol (13.0 µl/ml) ve nonane (10.0 µl/ml) olurken, apotesyum oluşumunda ise bu bileşiklerin trans-anethole ve nonane (32.0 µl/ml) olduğunu belirlemişlerdir (Gezer, 2014).

Topraktan izole edilen *Pseudomonas chlororaphis* 449 ve *Serratia proteamaculans* 94'ün uçucu organik bileşiklerinin, fitopatojenik *Agrobacterium tumefaciens* C58 ve Siyanobakteriler üzerinde bakteriyostatik etki sergilediği tespit edilmiştir (Popova ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada, patojen bir fungus olan *Aspergillus flavus* tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin, *R. solanacearum*'un büyümesinde dört kata kadar azalma gösterdiğini saptamışlardır (Spraker ve ark., 2014).

B. amyloliquefaciens NJZJSB3 türü, *in vitro* koşullarda birçok fitopatojenin, özellikle *S. sclerotiorum*'un antagonizmasını göstermiştir. Bir çalışmada *B. amyloliquefaciens* NJZJSB3 türünün hem broth kültürü hem de hücre süspansiyonunun, kanola bitkisinin (*Brassica napus*) yapraklarını *S. sclerotiorum* enfeksiyonundan tamamen koruduğu tespit edilmiştir. Petri deneylerinde, *B. amyloliquefaciens*'in hücre süspansiyonunun (10^8 CFU/ml) uygulanmasının, hastalık insidansını %83.3 oranında düşürdüğü kaydedilmiştir. Bu da ticari olarak temin edilebilen bir fungusit olan Dimetachlone ile benzer bir sonuç ortaya çıkarmıştır. Türün uçucu organik bileşikler, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile tanımlanmış ve tespit edilen uçucu maddeler toluen, fenol ve benzotiyazol kimyasal kontrol deneylerinde *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal etkiler gösterdiği kaydedilmiştir. *B. amyloliquefaciens* ayrıca biyofilm, sideroforlar ve hücre duvarını parçalayan enzimler (proteaz ve β -1.3-glukanaz) üretmiştir. Bu sonuçlar, *B. amyloliquefaciens*'in, *S. sclerotiorum*'un biyolojik kontrolü için muazzam bir potansiyel ajan olabileceğini belirlemişlerdir (Wu ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada geniş bir konakçı yelpazesi (Purdy, 1979) ile karakterize edilen kozmopolit bir nekrotrofik fungal patojen olan *S. sclerotiorum* ile ilgili, hem yayılabilir hem de uçucu antimikrobiyal maddelere karşı oldukça duyarlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada, fasulyeden izole edilen *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerine ait altı adet rizobakteri tarafından yayılan uçucu maddelerin *in vitro* koşullarda fungusun büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir (Giorgio ve ark., 2015).

Yapılan bir çalışmayla *Paenibacillus polymyxa* WR-2 tarafından kök eksüdatları ve organik gübre varlığında üretilen uçucu organik bileşikler tanımlanmış ve *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*'un büyümesi ve spor çimlenmesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. *P. polymyxa* tarafından üretilen uçucu organik bileşikler, *F. oxysporum*'un büyümesini sırasıyla %38, %36 ve %40 oranında agarlı besiyeri ortamında, sterilize toprakta ve doğal toprakta inhibe ettiği belirlenmiştir. Bu inhibe edici oranlar agar besiyerine, sterilize toprak ve doğal toprağa organik gübre ilavesiyle, sırasıyla %60, %58 ve %64'e çıkarılmıştır. Kök salgılarının eklenmesi, *P. polymyxa* tarafından üretilen antifungal uçucu organik bileşiklerin üretimini etkilememiştir. *P. polymyxa* tarafından üretilen uçucu organik bileşikler, *F. oxysporum* sporlarının çimlenmesini tamamen inhibe etmiştir. Tanımlanmış olan 42 uçucu organik bileşikten 7 tanesinin (benzotiyazol,

benzaldehit, undekanal, dodekanal, hekzadekanal, 2-tridekanon ve fenol); *F. oxysporum*'un büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur. Bu denemenin sonuçları, toprak kaynaklı fungal patojenleri kontrol etmede biyolojik kontrol ajanları ile taşıyıcı materyal olarak organik gübrenin önemli bir yeri olduğunu kanıtlamışlardır (Raza ve ark., 2015).

Asari ve ark. (2016), *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* suşlarının, *Arabidopsis thaliana* Col-0 fideleri ve Brassica fungal fitopatojenleri üzerindeki uçucu organik bileşiklerin etkilerini araştırmışlardır. Dört adet *Bacillus* suşunun tamamından elde edilen uçucu organik bileşikler, *Arabidopsis* bitkilerinin büyümesini desteklemiş ve bu da sürgün biyokütlesinin arttığını göstermiştir, ancak bu etkilerin büyüme ortamına bağlı olduğu bilinmektedir. Kök ekili MS agar üzerinde *B. amyloliquefaciens* UCMB5113 ile yapılan doz müdahale çalışmaları, düşük dozlarda bile bitkilerin büyümesine önemli ölçüde katkı sağlamıştır. *Bacillus*'un uçucu organik bileşikleri, *in vitro* koşullar altında çeşitli fungal patojenlerin büyümesini antagonize etmiştir. Bununla birlikte, bitki büyümesini destekleme ve fungal inhibisyon gücü *Bacillus* suşları arasında değişiklik göstermektedir. Birkaç fitopatojenin uçucu organik bileşik inhibisyonu, *Bacillus* suşlarının yüksek rizosfer yeterliliğini destekleyen etkili mikrobiyal antagonizmayı göstermiştir.

Bir çalışmada, rizosferik toprak örneklerinden bakteriyel biyokontrol ajanları olarak içerisinde *Bacillus amyloliquefaciens*'in de bulunduğu sekiz etkili *Bacillus* izolatı izole edilmiştir. *S. sclerotiorum*'a karşı çalışılan bir *in vitro* test sırasında *Bacillus* izolatlarının, misel büyümesini inhibe ettiği ve sklerot oluşumunu baskıladığı belirlenmiştir. Işık ve taramalı elektron mikroskoplarında miselyumun deformiteleri ve hücre duvarı lizisi, apotesyum anormallikleri ve askosporların çimlenme başarısızlığı gözlenmiş ve bu da *S. sclerotiorum*'a karşı yüksek antagonistik etkilere sahip olduklarını ortaya çıkarmıştır. *Bacillus* izolatları ile tohum bakterizasyonu, hardal fidelerini *in vitro* koşullarda *S. sclerotiorum*'a karşı %98'e kadar korumuştur. Çalışmanın saksı denemesinde ise, hardal bitkilerinde patojenenin verdiği zararın, *Bacillus* izolatlarının yapraktan püskürtülmesi sonrasında %90'a kadar azaldığı tespit edilmiştir. Ek olarak, izolatların tohum çimlenmesini artırdığı ve hardalın fide kuvvetini hızlandırdığı, bu da bitki büyümesini destekleyici fonksiyonlara sahip olduklarını ortaya koymuştur (Rahman ve ark., 2016).

Raza ve ark. (2016), yaptıkları bir çalışmada, *B. amyloliquefaciens* SQR-9 suşu tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin, *Ralstonia solanacearum*'un üç gün sonra % 28'e ve ardından ikinci kontrole kıyasla beş gün sonra % 40'a ulaşan oranlarda büyümesini azalttığı tespit edilmiştir. *B. amyloliquefaciens* yerine *Escherichia coli* DH5α içeren üçüncü kontrol işlemi, ikinci kontrole kıyasla benzer sonuçlar gösterdiği rapor edilmiştir. Dördüncü kontrolde ise *B. amyloliquefaciens* tarafından üretilen uçucu organik bileşikler adsorbe etmek için aktif kömür kullanımının patojen *R. solanacearum* üzerindeki antibakteriyel etkilerini ortadan kaldırdığı tespit edilmiştir.

Gotor-Vila ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada, kirazın hasat sonrası ortaya çıkan meyve patojenleri *Monilinia laxa*, *M. fructicola* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı *B. amyloliquefaciens* CPA-8 tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin fungusun inhibe edici etkisini araştırmışlardır. Uçucu organik bileşiklerin değerlendirilmesi, hedef patojenlerin misel ve koloni büyümesine karşı çift petri kabı analizi ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, *B. amyloliquefaciens* CPA-8 farklı ortamlarda geliştirilmiş ve testlerden önce 24 ve 48 saat 30 °C'de kültüre bırakılmışlardır. Çift petri kabı deneylerinden elde edilen veriler, *B. amyloliquefaciens* tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin, *B. amyloliquefaciens*'in büyüme ortamına bağlı olarak değişken etkinlik ile test edilen tüm patojenlerin (*M. laxa*, *M. fructicola* ve *B. cinerea*) misel büyümesini inhibe ettiğini göstermiştir. Veriler, *B. amyloliquefaciens*'in Tryptone Soya Agar (TSA) üzerinde geliştirildiğinde miselyal büyüme inhibisyonunun daha yüksek olduğunu gösterirken, *B. amyloliquefaciens*'in 24 veya 48 saat boyunca kültürlendiğinde genellikle hiçbir farklılık gözlenmemiştir. Sonuçlar, *B. amyloliquefaciens* CPA-8 tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin, çekirdekli meyvelerde hasat sonrası meyve patojenlerine karşı ilave bir antifungal etki gösterebileceğini göstermiştir.

Cheng ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada düğün çiçeğinin (*Ranunculus*) rizosfer toprağından izole ettikleri biyolojik kontrol ajanı *P. polymyxa* KM2501-1 ile genç *Meloidogyne incognita* 'ların tedavisini araştırmışlardır. Araştırma *in vitro* koşullarda %87.66'lık bir ölüm oranıyla sonuçlanmış, sera koşullarında yetiştirilen domatestte ise %82.61'e kadar semptomların azaldığı sonucuna varılmıştır. KM2501-1 suşundan elde edilen 11 adet uçucu organik bileşikten 8 tanesi kontak nematisidal aktiviteye, 6'sının fümigant aktiviteye sahip olduğu ve 5'inin de *M. incognita*'ya karşı stabil kemotaktik

ajanlar olarak görev yaptığı kaydedilmiştir. Çalışmanın sonucu, *P. polymyxa* KM2501-1 tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin (VOC), *M. incognita*'yı kontrol etmek için çeşitli mekanizmalar aracılığıyla hareket ettiğini göstermişlerdir.

Bitki patojenleri için biyo-kontrol ajanları olarak görev yapan *Pseudomonas* ve *Bacillus*'un çeşitli türlerinin, antibakteriyel aktiviteye sahip uçucu organik bileşikler ürettiği belirlenmiştir (Schulz-Bohm ve ark., 2017).

Rybakova ve ark. (2017), *Verticillium* spp.'nin neden olduğu hastalığı kontrol etmenin zor olduğunu ve küresel ısınmayla ilişkili toprak sıcaklıkları ve kuraklıktaki artışlarla bu zorluğun şiddetlendiğini bildirmiştir. Yaptıkları çalışmada doğal antagonistleri biyo-kontrol ajanları olarak kullanmayı, bu zorluğun üstesinden gelmek için umut verici bir yaklaşım olarak sunmaktadırlar. Çalışma sonucunda *Paenibacillus polymyxa* suşunun *in vitro* deneyler sırasında *Verticillium longisporum*'un gelişimini kısıtladığı kanıtlanmış ve aynı zamanda *V. longisporum* ile muamele edilmiş yağlı tohum kolza fidelerinin büyümesini desteklediğini bildirmişlerdir.

Bir çalışmada, uçucu organik bileşiklerin antifungal aktivitesi, iki tabakalı taban plakası yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Yapılan bu denemede bir *Bacillus* türünün 2 ayrı fungal patojen olan *Alternaria solani* ve *Botrytis cinerea*'ya karşı aktivitesi araştırılmıştır. Aynı zamanda çalışmanın sonucunda *Bacillus velezensis* ZSY-1 türünün uçucu organik bileşiklerinin, *A. solani* (%83 engelleme oranı) ve *B. cinerea*'ya (%92.1 engelleme oranı) karşı önemli derecede antifungal aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca *B. velezensis*'den elde edilen uçucu organik bileşikler *A. solani*'nin sporlanmasını önemli ölçüde inhibe etmiştir. Bununla birlikte, *A. solani*, *B. velezensis* olmadığında sporlaşma yeteneğini geri kazanmıştır. Bu nedenle, *B. velezensis* suşunun uçucu organik bileşiklerinin, *A. solani* 'nin ölmesine neden olmaktan ziyade spor üretim oranını inhibe ettiği bildirilmiştir (Gao ve ark., 2017).

Yapılan bir denemede bakteriyel uçucu organik bileşiklerin, fungus büyümesini, gelişimini, farklılaşmasını ve ikincil metabolitlerin üretimini etkileyebildiği sonucuna varılmıştır. Bu denemeye birlikte, *P. chlororaphis* 449 (farklı orijinli 8 suş), *P. fluorescens* B-4117, *S. plymuthica* IC1270 rizosfer suşlarından ve ayrıca bozulmuş etten izole edilen *S. proteamaculans* 94 suşundan elde edilen uçucu bileşiklerin toplam organik

bileşikleri, patojenik fungus olan *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium sativum* ve *S. sclerotiorum* üzerinde fungistatik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Etkinin fungusta en çok *R. solani*'de ve bakterilerde ise *Pseudomonas* türlerinde en belirgin olduğu tespit edilmiştir. Deneme sonucunda bu türler tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin, *R. solani*'nin miselyal büyümesini bastırdığı kanısına varmışlardır (Veselova ve ark., 2019).



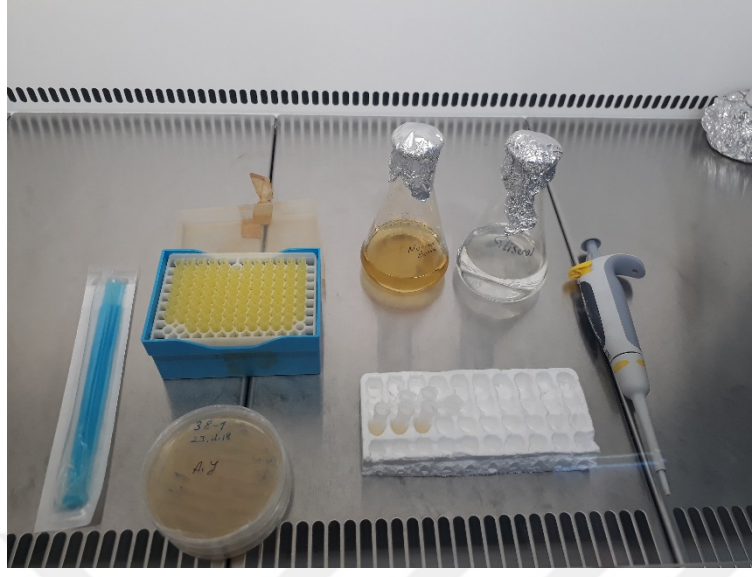
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bakteri Türleri

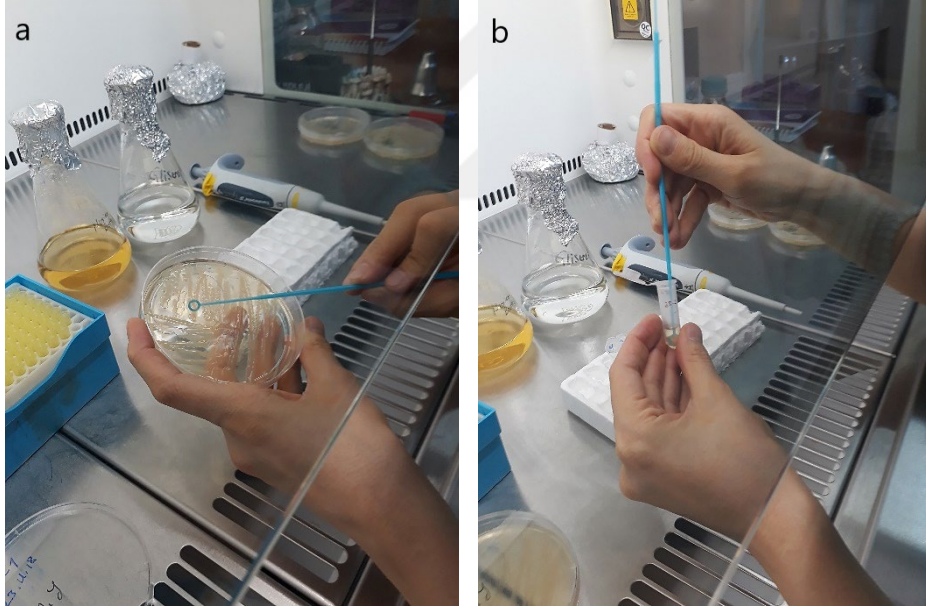
Çalışmada Kırşehir ili tarım alanlarından izole edilen bakteriler kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Topraktan izole edilen bakteri türlerinin moleküler teşhisleri NCBI Gen Bankası Blast programında referans izolatların yüzde benzerlik oranlarıyla kıyaslanarak yapılmıştır (Altschul ve ark., 1990).

Çizelge 3. 1. Çalışmada kullanılan teşhisi yapılmış bakteri türleri

İzolat Numarası	Bakteri Türü	Referans İzolatların Erişim Numarası
35	<i>Bacillus</i> sp. SWU8-1	JN129430
38-1	<i>Paenibacillus polymyxa</i> RS-10	JF683620
46	<i>Bacillus thuringiensis</i> L14	KU179330
47-1	<i>Bacillus anthracis</i>	JX122618
52-1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B11	MF125280
55	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> W5-8	MG905285.1



Şekil 3. 1. Bakteri stok işlemi için gerekli olan ekipmanlar



Şekil 3. 2. Bakteri stok işlemi aşamaları (a,b)

3.2. Fungal Hastalık Etmeni

Çalışmada kullanılan *S. sclerotiorum* etmeni 2018-2019 vejetasyon periyodunda Antalya ili seralarında yetişen hıyar bitkilerinden izole edilmiştir. Bu amaçla, gövdenin enfekteli kısmından alınan 1 cm'lik parçalar veya sklerotiumlar 30 dk musluk suyunda tutulduktan sonra %1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde 1-2 dk yüzeysel olarak dezenfekte edilerek, steril su ile durulanmış, takiben laminar flow kabinde 5 dakika kurutulmaya bırakılmıştır.

Sklerotlar laminar flow kabinde 5 dakika kurutulduktan sonra Patates Dekstroz Agar (Çizelge 3.2.) içeren petri kaplarına yerleştirilmiş ve 20-25 °C'de inkubasyona bırakılmıştır. Doku parçasından veya sklerotiumlardan 2-3 gün içerisinde gelişen kolonilerin uç kısmından alınan 5 mm çapındaki misel diskleri PDA içeren petrilere aktararak saf kültürler elde edilmiştir. Bu elde edilmiş olan *S. sclerotiorum* izolatu 4 °C'de buzdolabında muhafaza edilerek çalışmanın bundan sonraki aşamalarında kullanılmıştır (Onaran ve Yanar, 2011).

Çizelge 3. 2. Çalışmada kullanılan besi yerleri

Tryptic Soy Agar (TSA)	
Tryptic Soy Agar (TSA)	37 g
Saf su	1000 ml
Tryptone Soy Broth (TSB)	
Tryptone Soy Broth	30 g
Saf su	1000 ml
Potato Dextrose Agar (PDA)	
Potato Dextrose Agar	40 g
Saf su	1000 ml

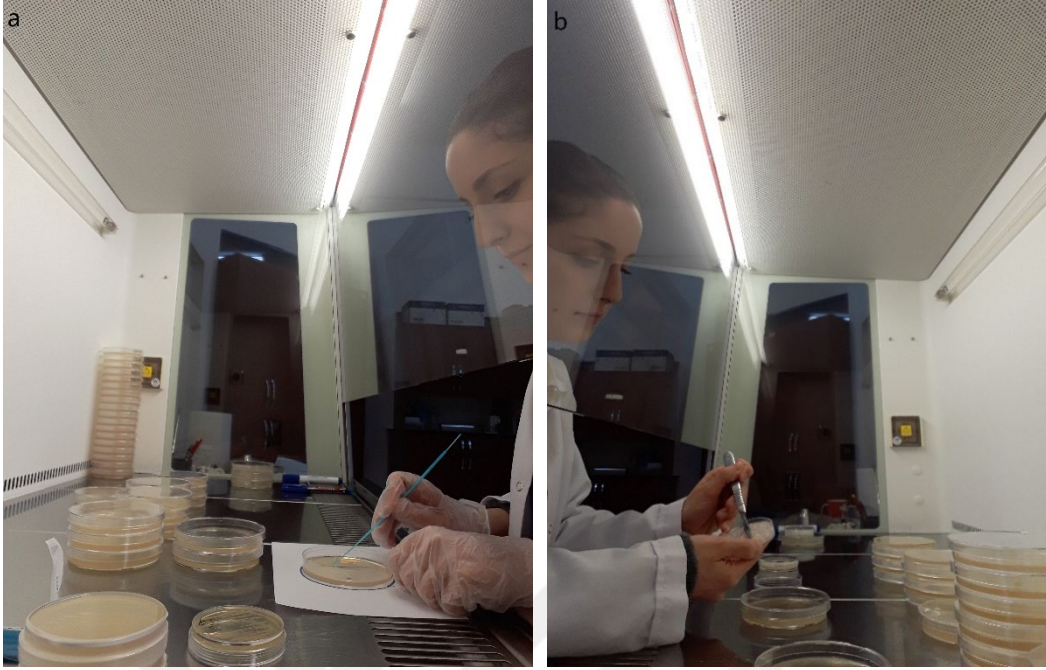
3.3. Bakteri İzolatlarının Moleküler Teşhisi

Bakteri izolatlarının moleküler teşhisinde, çalışma materyalini oluşturan bakterilerden lysis yöntemi kullanılarak DNA izolasyonları yapılmıştır. Daha sonra elde edilen DNA'lar 16SrDNA universal primerler olan forward 5'-GAAGAGTTTGATCATGGCTC-3 ve reverse 5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3' (Fischer-Le Saux ve ark., 1999) primerleri ile PCR işlemine tabi tutulmuştur. PCR sonucunda elde edilen PCR ürünleri %1'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutulduktan sonra UV görüntüleme cihazında spesifik bantlar kontrol edilmiştir. PCR işlemi sonunda pozitif bant elde edilen PCR ürünleri Sanger yöntemi ile DNA dizi analizine gönderilmiştir. Sekanslama sonunda elde edilen veriler Chromas programı kullanılarak temizlenmiş ve NCBI gen Bankasında BLAST analizine tabi tutulmuştur analiz sonucunda elde edilen veriler NCBI genbankasında referans izolatlarla kıyaslanarak teşhisi yapılmıştır. Moleküler çalışmalar Dr. Öğr. Üyesi Şerife TOPKAYA danışmanlığında yapılmıştır.

3.4. *In vitro* Testler

3.5. Bakteri Suşlarının Fungusun Miselyum Gelişimine Etkisi

Bu testler için PDA besi yeri kullanılmıştır. Bu amaçla, *S. sclerotiorum*'un gelişmekte olan 4-5 günlük kültüründen alınan 5 mm çapındaki diskler, PDA besiyeri içeren petrilerin kenara yakın kısımlarına yerleştirilmiş ve daha sonra yerleştirilen diskin karşısına gelecek şekilde izole edilen bakterilerin 24 saatlik kültüründen öze ile petrinin boyunca çizim yapılmış (Şekil 3. 2.) ve bir hafta süre ile 25 °C'de karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Antagonistik etkileşimde biyoajanların fitopatojen fungus hifinin gelişimini engellediği bölgenin (inhibisyon zonu) çapı mm olarak ölçülmüştür. Her bir muhtemel bioajan için 3'er petri kullanılmış ve çalışma 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3. 3. PDA üzerine karşılıklı bakteri (a) ve fungusun (b) yerleştirilmesi

Negatif kontrol de PDA besiyerine sadece fungus miselyum ekimi, TSA besiyerine ise sadece bakteri çizimi yapılmıştır. Pozitif kontrol de ise, ticari olarak satışı yapılan mancozep etken maddeli bir fungusit kullanılmıştır.

3.6. Fungusun Sklerot Yapılarına Etkisi

Sklerot üretimi

Havuç diskler üzerinde sklerot oluşumu sağlanmıştır (Şekil 3. 4.). Havuçlar çeşme suyunda yıkandıktan sonra yaklaşık 10 mm genişliğinde diskler elde edilecek şekilde kesilerek hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan havuç diskler birer gün arayla iki kez 121 °C' de 30 dakika süreyle otoklav edilerek steril edilmiştir. Otoklav edilen havuç diskler üzerine PDA ortamında 7-10 günlük geliştirilmiş olan kültürden 5 mm çapında misel diskler aktarılmış ve 30 gün inkubasyon süresine tabi tutulmuştur (Yanar ve Miller, 2003). 30 gün sonunda oluşan sklerotlar çalışmada kullanılmıştır.



Şekil 3. 5. Sklerot üretim aşamaları

S. sclerotiorum'un dinlenme yapısı olan sklerotlara ümitvar bioajan bakteri türlerinin uygulanmasında ise, bakterilerin Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinde çizimi yapılarak, 25 °C'de 48 saat inkubasyona bırakılmıştır. Daha sonra petrilerde gelişen bakteriyel koloniler üzerine bir miktar steril su dökülerek cam bagetle yıkanmıştır. Elde edilen bakteriyel süspansiyon (10^8 hücre/ml) ile hazırlanan 10 ml'lik Tryptone soy broth (TSB) besi yerine sklerotlar daldırılmış ve bu süspansiyon 24 saat 175 rpm'de orbital çalkalayıcıda çalkalanmıştır (Her tüp içerisinde 10 adet sklerot bulunmaktadır). Daha sonra bu sklerotların PDA besiyerine ekimi yapılmış (Şekil 3.5), ümitvar bioajan bakterilerin sklerotların canlılık oranları ve miselyum gelişimine olan etkileri belirlenmiştir. Miselyum varlığı gözlenen sklerotların gelişimi dijital kumpasla ölçülmüştür. Bu çalışma 4 tekerürlü olarak 2 kez tekrarlanmıştır (Onaran ve Yanar, 2011).



Şekil 3. 6. Bakteriler ile inokule olmuş sklerotların PDA besiyerine yerleştirilmesi

3.7. Bakteri Suşlarının Üretmiş Olduğu Uçucu Organik Bileşiklerin Fungusa Etkisi

Two-sealed-base-plates (Gao ve ark., 2017) methodu kullanılarak bakteri türlerinin ortama salgıladıkları uçucu bileşenlerin *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı antifungal aktivite çalışmaları yürütülmüştür.

Bu amaçla, iki adet petri kabına 15 ml olacak şekilde TSA ve PDA besiyerleri dökülmüştür. Fungus kültüründen 5 mm'lik miselyum diskleri alınarak PDA besiyeri merkezine ekimi yapılmıştır. Bakterilerin çizimi ise TSA besiyerine yapılmıştır (Şekil 3.6.). Daha sonra her iki petri kabı birbiri üzerine kapatılarak parafilm ile kaplanmıştır. 10 gün boyunca 26°C'de inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 3. 7. Uçucu organik bileşiklerin fungus üzerine etkisinin belirlenmesi aşamaları

Bu çalışma 4 tekerrürlü olarak 2 kez tekrarlanmıştır. *S. sclerotiorum* 'a karşı inhibüsyon oranları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Gao ve ark., 2017).

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = \frac{\text{Cd-Td}}{\text{Cd-5 (mm)}} * 100$$

Cd: Kontrol PDA petrisi üzerindeki fungal gelişimi

Td: PDA petrisindeki muamele edilmiş fungal gelişimi

3.8. *In vivo* Testler

3.9. *Sclerotinia sclerotiorum*'a Karşı Bakteri Suşlarının Temas Etkisi

In vitro şartları takiben etkili bulunan bakterilerin (*Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis*), *S. sclerotirum*'a karşı hıyar (*Cucumis sativus* L.) meyvesi üzerinde test edilmesi amacıyla tesadüf bloklar deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak deneme kurulmuştur (Mohammadi ve ark., 2016).

Biyoajan bakterilerin, Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerinde çizimi yapılmış ve 28 °C'de 48 saat inkubasyona bırakılmıştır. Daha sonra petrilerde gelişen bakteriyel koloniler üzerine bir miktar steril su dökülerek cam bagetle yıkanmıştır. Elde edilen bakteriyel süspansiyonun konsantrasyonu 10^8 hücre/ml'ye ayarlanmış, bu amaçla spektrofotometrik olarak süspansiyonun absorbanısı 600 nm'de 0.1'e ayarlanarak kullanılmıştır.

Laboratuvar ortamında meyve üzerinde gerçekleştirilecek olan çalışma için, ticari market ve pazarlardan alınan hıyar meyveleri kullanılmıştır. Aynı boyut, renk ve olgunlaşma aşamasında seçilen görünür kusur ve yaralanmalara sahip olmayan hıyar meyveleri seçilmiştir. Meyveler yüzey dezenfeksiyonu için %2 sodyum hipoklorit içine 2 dakika daldırılmış ve musluk suyu ile durulanarak, kurumaya bırakılmıştır. Hıyarlara bir mantar delici yardımıyla yaralar açılmış (0.5 cm derinlik ve 1.5 cm çapta, her meyvede 2 yara olacak şekilde) ve her yara içerisine %1'lik 50 µL'lik bakteri süspansiyonu (10^8 hücre/ml, TS broth agar (TSB) kullanılarak bakteri süspansiyonu hazırlanmıştır) pipetle uygulanmış (Şekil 3.8.) ve damlacıkların meyvenin içine girmesi ve bakterilerin meyve üzerinde gelişiminin sağlanması için 12 saat beklenmiştir. Daha sonra fungusun 3 mm çapında miselyum diskleri açılan yaraların üzerine konulmuştur (Şekil 3.9.) Negatif kontrol olarak, açılan yaralı bölgeye sadece fungus miselyumu, sadece bakteri süspansiyonu uygulanmıştır (Şekil 3. 9.). Pozitif kontrol de ise, ticari olarak satışı yapılan bir fungusit kullanılmıştır. Çalışma 10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3. 10.). 10 gün sonra meyve üzerindeki lezyon büyüklükleri dijital kumpasla ölçülmüştür (Mohammadi ve ark., 2016).



Şekil 3. 11. Bakteri süspansiyonlarının açılan yaralar içerisine mikropipet ile uygulanışı (a,b)



Şekil 3. 12. Hıyar meyvesi üzerindeki yaralara fungusun miselyum disklerinin yerleştirilmesi



Şekil 3. 13. Negatif kontrol olarak hıyar meyvesi üzerindeki yaralara sadece bakteri süspansiyonu uygulanması

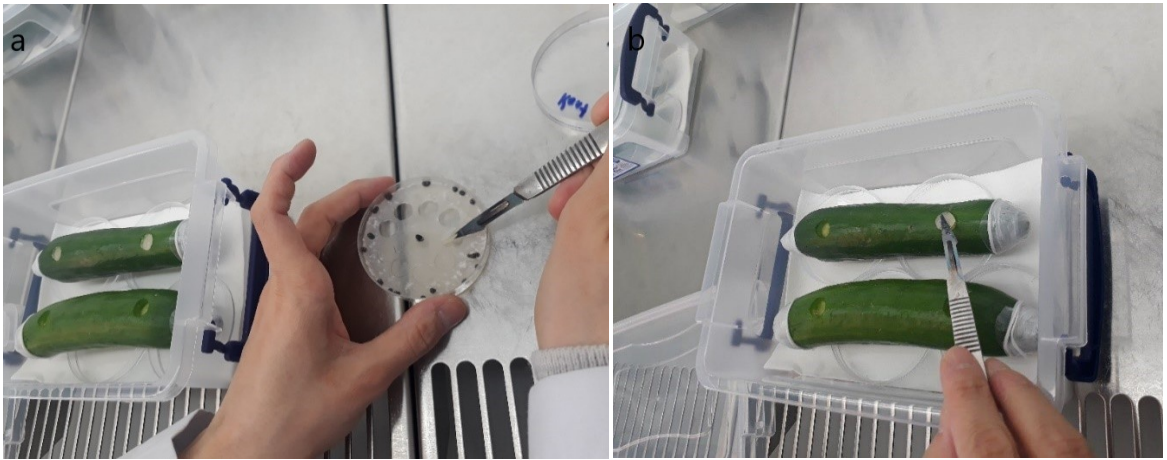


Şekil 3. 14. Uygulama sonunda inkübasyona bırakılan hıyar meyveleri

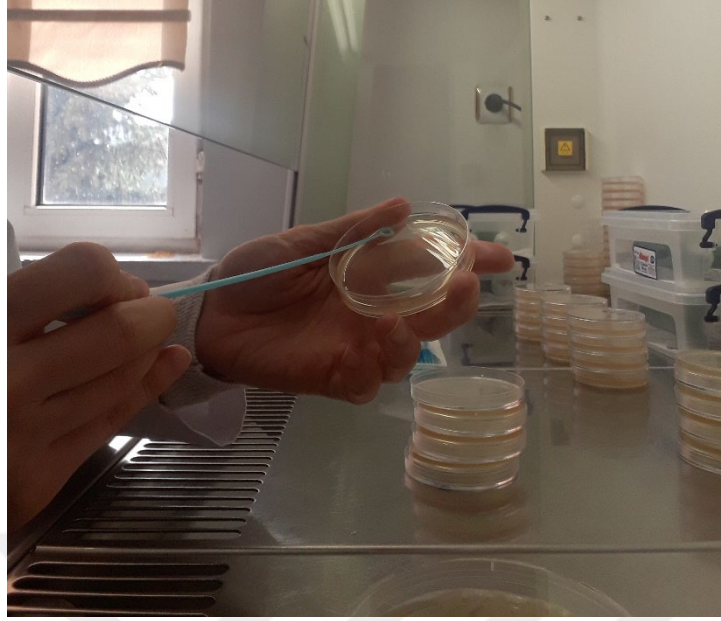
Çalışmada kullanılan bakteri izolatlarının, meyve üzerinde herhangi bir olumsuz etki gösterip göstermediğini belirlemek amacıyla, inokulasyon öncesi meyve üzerine yara açılmış ve sadece bakteri süspansiyonu uygulanarak gözlemlenmiştir (Onaran ve Yanar, 2011).

3.10. *Sclerotinia sclerotiorum*'a Karşı Bakteri Suşlarının Üretmiş Olduğu Uçucu Organik Bileşiklerin Buhar Etkisi

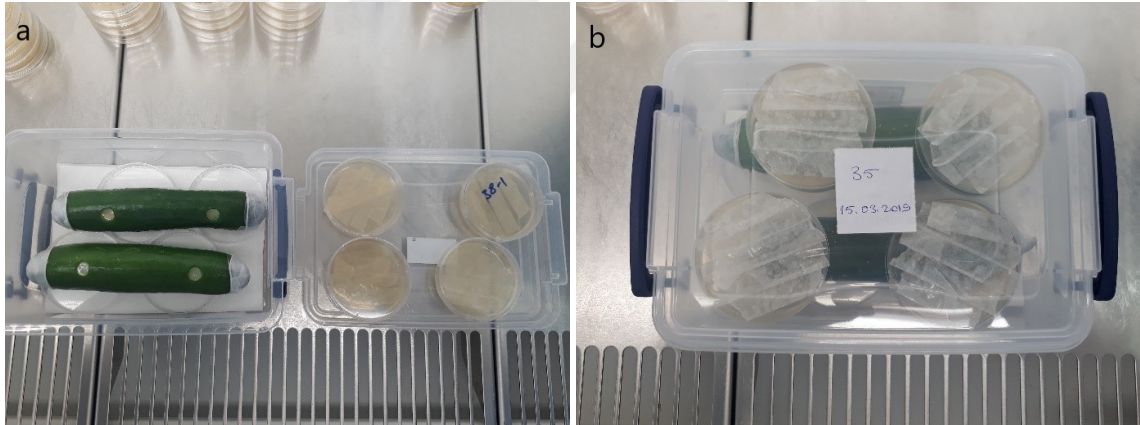
In vitro koşullar altında yürütülen uçucu bileşik denemelerinde etkili bulunan bakteri türlerinin laboratuvar ortamında gerçekleştirilen çalışması, uygun koşullar altında hıyar meyveleri üzerinde yürütülmüştür. Meyveler yüzey dezenfeksiyonu için %2 sodyum hipoklorit içine 2 dakika boyunca daldırılmış ve steril saf su ile durulanarak kurumaya bırakılmıştır. Hıyar meyvelerine bir mantar delici yardımıyla yaralar açılmış (0.5 cm derinlik ve 1.5 cm çapta, her meyvede 2 yara olacak şekilde), açılan yaraların yüzeyine fungusun 3 mm çapında miselyum diskleri konulmuştur (Şekil 3. 15.). Bakteriler ise TSA besiyerine aktarılmış ve 60 mm çaplı petri kaplarına çizimi yapılmıştır (Şekil 3. 16.). Daha sonra hıyar meyvesi ve bakteri türleri ağzı kapalı kaplarda aynı ortamda 10 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3. 17.). Negatif kontrol olarak, açılan yaralı bölgeye sadece fungus miselyumu uygulanmıştır. Ayrıca, kontrol olarak sadece bakteri bulunan ortama, fungus patojeni olmaksızın hıyar meyvesi konulmuştur. 10 gün sonra meyve üzerindeki lezyon büyüklükleri dijital kumpasla ölçülmüştür.



Şekil 3. 18. Fungusun açılan yara yüzeylerine aktarılması (a,b)



Şekil 3. 19. Bakterilerin TSA besiyerine aktarılması



Şekil 3. 20. Hazırlanan hıyar meyvelerinin ve aktarılan bakterilerin son görünümü (a,b)

3.11. İstatistik Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen veriler, SAS istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklar LSD testi ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

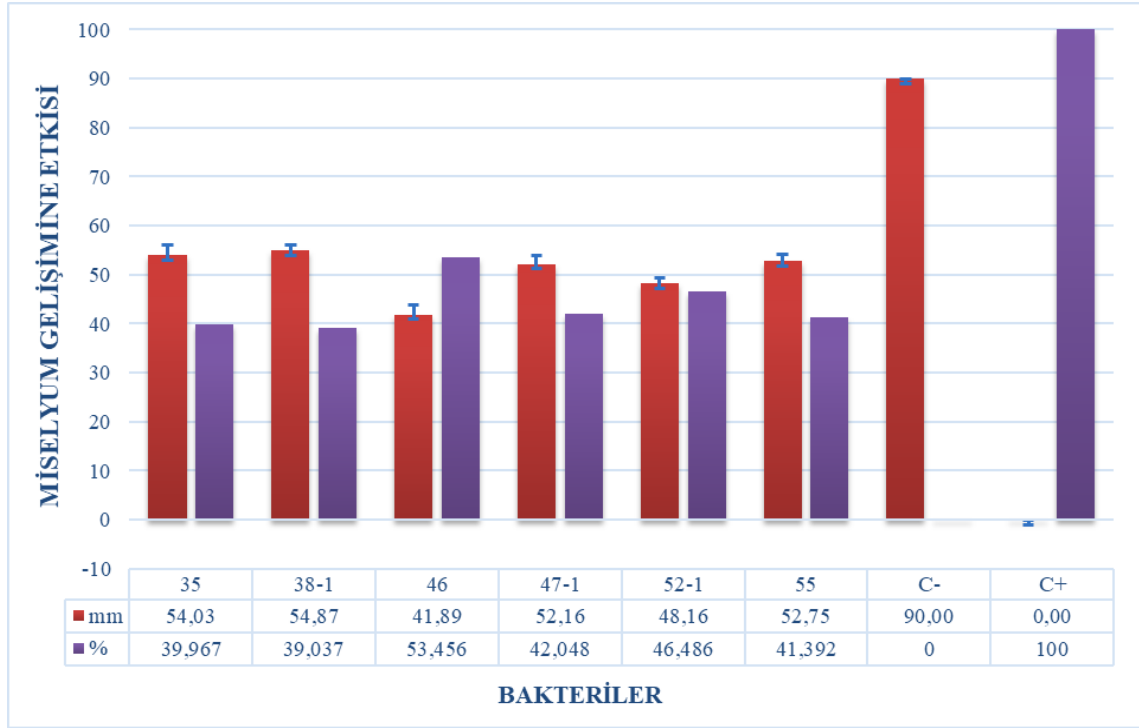
Bacillus sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10, *B. thuringiensis* L14, *B. anthracis*, *B. amyloliquefaciens* B11 ve *Pseudomonas alcaligenes* W5-8 tarafından üretilen uçucu organik bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin test edilmesi amacıyla, bitkiler üzerinde önemli zarar oluşturan patojen *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı antifungal aktiviteleri *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında test edilmiştir.

4.1. *In vitro* Testler

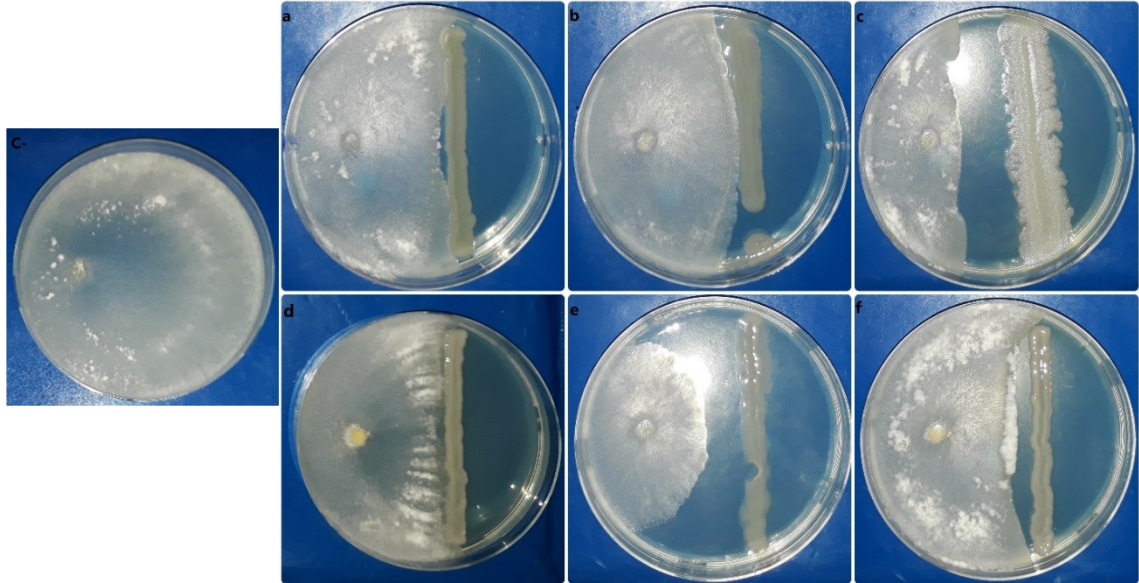
In vitro koşullar altında, çalışmamızda kullanılan bakteri türlerinin *Sclerotinia sclerotiorum*'un miselyum gelişimine, sklerot yapılarına ve bakterilerin salgılamış oldukları uçucu bileşiklerin fungusu karşı etkinliği araştırılmıştır.

4.1.1. Bakteri türlerinin fungusun miselyum gelişimi üzerine antagonistik etkisi

Antagonistik etki bir organizmanın çeşitli metabolik enzimler salgılayarak diğer bir organizmanın gelişimini engellemesi olayıdır. Bakteri türlerinin *Sclerotinia sclerotiorum*'un miselyum gelişimine etkisini belirlemek amacıyla, fungus kültürlerinden alınan miselyum diskler besi ortamında bakterilerle inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre test edilen bütün bakteri suşlarında *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimine karşı değişen oranlarda antagonistik etki gözlenmiştir. Denememizde görülen bu antagonistik etkiler ise fungusun miselyum gelişimini sınırlandırmış ve havai miselyum gelişimlerine yol açtığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda negatif kontrolde ve *Pseudomonas alcaligenes* suşunda sklerot gelişimi gözlenirken diğer suşlar üzerinde sklerot gelişimi gözlenmemiştir. Çalışmamızda elde edilen bulgular ise Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4. 1. Bakteri suşlarının fungusun miselyum gelişimine etkisi (35: *Bacillus* sp., 38-1: *Paenibacillus polymyxa*, 46: *B. thrungiensis*, 47-1: *B. anthracis*, 52-1: *B. amyloliquefaciens*, 55: *Pseudomonas alcaligenes*, C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)



Şekil 4. 2. Bakteri suşlarının fungusun miselyum gelişimini engellemesi (C-: Negatif kontrol, a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thrungiensis*, d: *B. anthracis*, e: *B. amyloliquefaciens*, f: *Pseudomonas alcaligenes*)

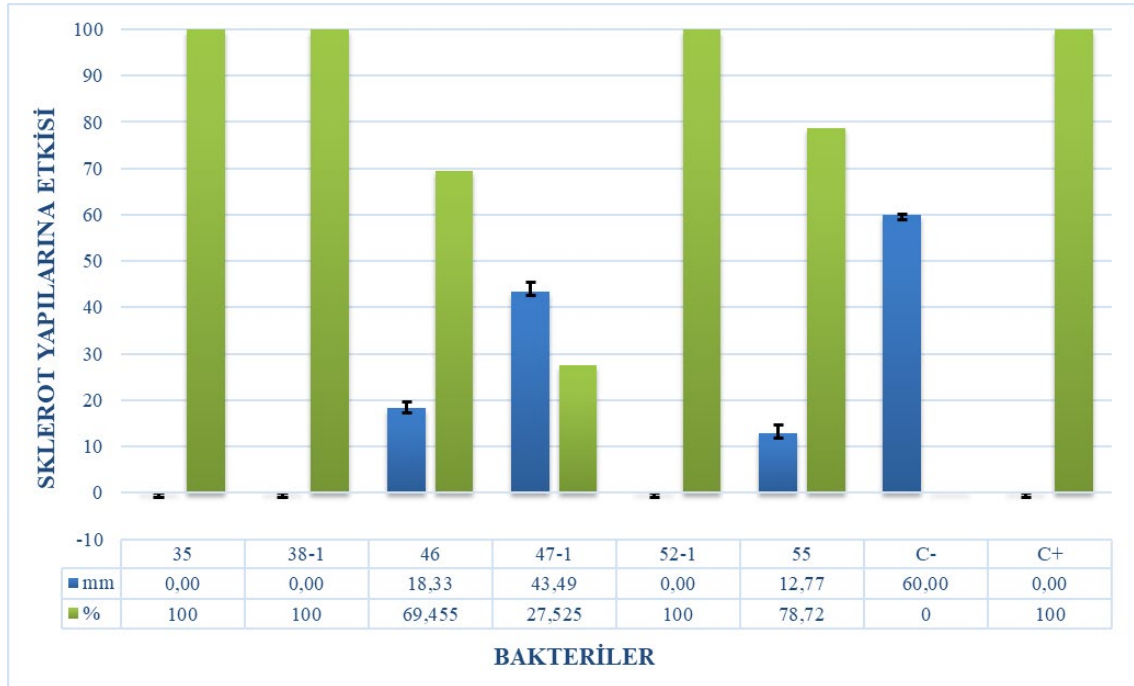
S. sclerotiorum'un miselyum gelişimi üzerine bakteri suşlarının etkisi sonucunda elde edilen verilere göre; miselyum gelişimi üzerinde en etkili olan ve %50'nin üzerinde etki gösteren tek suş *Bacillus thuringiensis* (%53.46) olarak belirlenmiştir. Bunu %46.49 ve %42.05'lik engelleme oranlarıyla sırasıyla *B. amyloliquefaciens* ve *B. anthracis* suşları takip etmiştir (bkz. Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1). En düşük inhibisyon oranları ise sırasıyla %39.04 ve %39.97 ile *P. polymyxa* ve *Bacillus* sp. suşlarında görülmüştür (bkz Şekil 4.2). Denememize benzer özellik gösteren bir araştırmada 300 bakteri izolatından 9'unun, *S. sclerotiorum*'un apotesyum oluşumunu önemli ölçüde baskıladığı tespit edilmiştir. *Serratia plymuthica* suşu olarak tanımlanan izolatının, yüksek konsantrasyonlarda apotesyum oluşumunun tamamen bastırılmasında oldukça etkili olduğu ve ayrıca ascosporların çimlenmesini ve *S. sclerotiorum*'un hiflerinin büyümesini güçlü bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir (Thaning ve ark., 2001). Yapılan bir çalışma ile *B. amyloliquefaciens* suşunun *S. sclerotiorum*'un misel ve sklerot büyümesini engellediği tespit edilmiştir. *In vivo* şartlar altında ise *S. sclerotiorum* ile aşılانmış kabak, domates ve patlıcan fidelerinin %80'inden fazlasını koruduğu tespit edilmiştir (Abdullah ve ark., 2008). Başka bir çalışmada ise hasat sonrası mango meyvelerinde antraknoz hastalığına neden olan *Colletotrichum gloeosporioides* patojeninin zararını minimuma indirmek için *Bacillus* suşları (*B. pumilus* ve *B. thuringiensis*) ile *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında mücadele edilmiştir. *In vitro* testlerin sonucunda *B. pumilus* ve *B. thuringiensis* suşları fungusun misel büyümesini sırasıyla %88.87 ve %80.07 oranlarında engellemiştir. *In vivo* testlerde ise hastalığın inhibisyon oranları sırasıyla %94.28 ve %87.06 olarak belirtilmiştir (Zheng ve ark., 2013).

Çizelge 4. 1. Bakteri suşlarının fungusun miselyum gelişimine etkisi

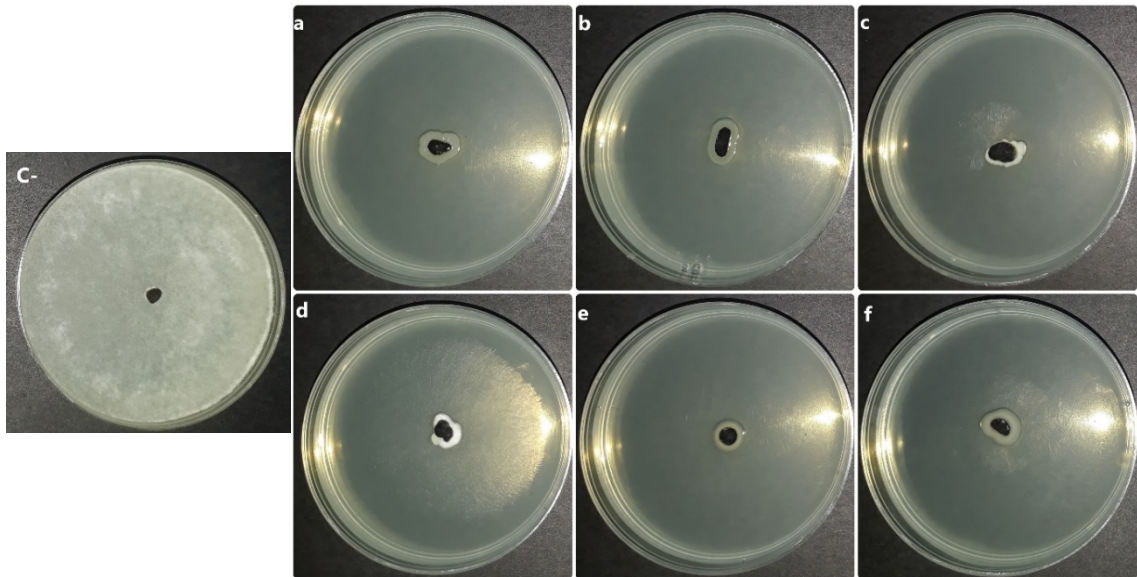
Bakteriler	<u>Miselyum Gelişimine Etkisi</u>	
	mm	% Engelleme Oranı
<i>Bacillus</i> sp. SWU8-1 (35)	54.03b±1.98	39.967
<i>Paenibacillus polymyxa</i> RS-10 (38-1)	54.87b±1.24	39.037
<i>Bacillus thrungiensis</i> L14 (46)	41.89c±1.89	53.456
<i>Bacillus anthracis</i> X19 (47-1)	52.16b±1.85	42.048
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B11 (52-1)	48.16bc±1.10	46.486
<i>Pseudomonas alcaligenes</i> W5-8 (55)	52.75b±1.49	41.392
C-	90.00a±0.00	0
C+	0.00d±0.00	100

4.1.2. Bakteri türlerinin fungusun sklerot yapılarına etkisi

Bakteri suşlarının fungusun sklerot yapılarına etkisini belirlemek amacıyla *Sclerotinia sclerotiorum*'dan elde edilen sklerotlar antagonistik bakteri süspansiyonları ile muamele edilmiş ve bu sklerotların PDA içeren besiyeri üzerine ekimleri yapılmıştır. Çalışmalar sonucunda görülen değerler istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Bu istatistiki değerlerin sonuçları Şekil 4.3 ve Çizelge 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4. 3. Bakteri suşlarının *S. sclerotiorum*'un sklerot yapısına etkisi (35: *Bacillus* sp., 38-1: *Paenibacillus polymyxa*, 46: *B. thrungiensis*, 47-1: *B. anthracis*, 52-1: *B. amyloliquefaciens*, 55: *Pseudomonas alcaligenes*, C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)



Şekil 4. 4. Antagonistik bakteriler ile muamele edilmiş sklerotların PDA besiyerinde gelişimi (C-: Negatif kontrol, a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thrungiensis*, d: *B. anthracis*, e: *B. amyloliquefaciens*, f: *Pseudomonas alcaligenes*)

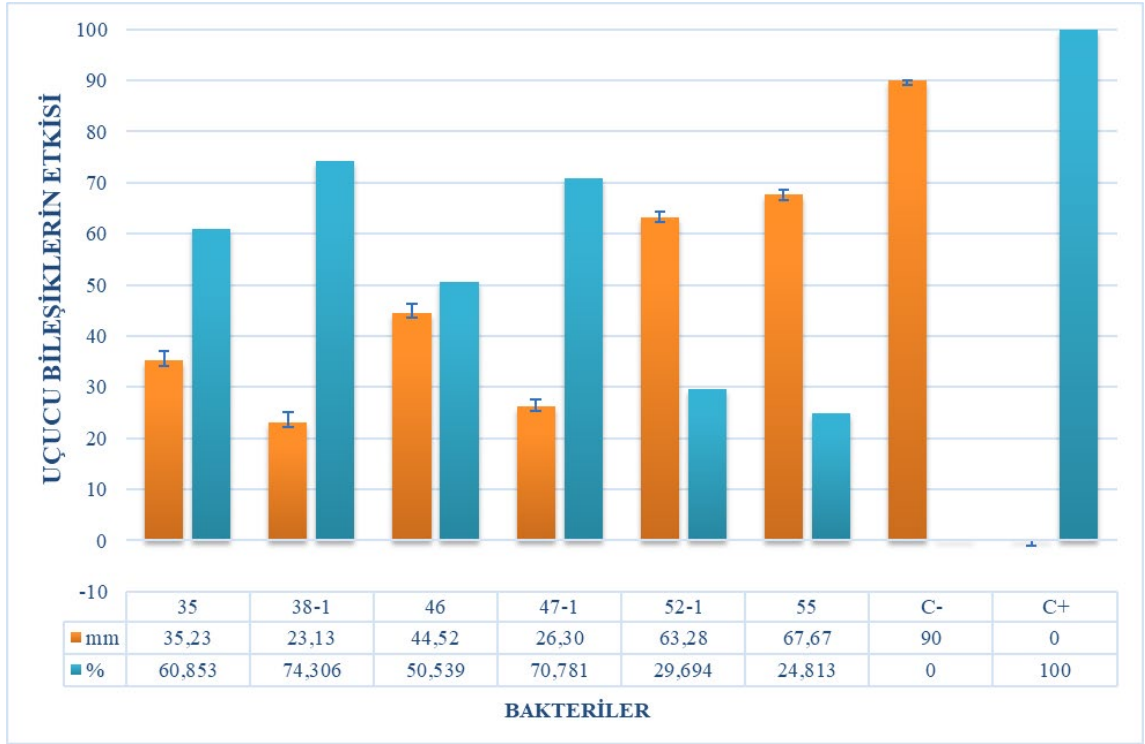
Denememiz sonucunda elde edilen verilere göre; *Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa* ve *B. amyloliquefaciens* suşları ile muamele edilmiş sklerotların fungusun gelişimini tamamen (%100) engellediği görülmektedir. Bu üç suşa ek olarak *Pseudomonas alcaligenes* ve *B. thrungiensis*'inin de sırasıyla %78.72 ve %69.45'lik oranında sklerot gelişimini engellediği kaydedilmiştir. En düşük etki ise %27.52'lik engelleme oranı ile *B. antracis*'de tespit edilmiştir (Şekil 4.3, 4.4 ve Çizelge 4.2). Yapılan bir çalışmada, içerisinde *Pseudomonas* türlerinin de bulunduğu bazı bakteriyel antagonistlerin tarla koşullarında yapraklarda *S. sclerotiorum* askosporlarının çimlenmesini engellediği tespit edilmiştir (Savchuk, 2002). Başka bir çalışmada ise bazı *Pseudomonas* türlerinin (*P. fluorescens*, *P. corrugata*, *P. chlororaphis*, *P. aurantiaca*) salgıladığı uçucu organik bileşiklerin, *S. sclerotiorum*'un askospor çimlenmesini %54-90 oranında inhibe ettiği tespit edilmiştir (Fernando ve ark., 2005). Leclerc ve ark. (2005), *B. subtilis* ve *B. amyloliquefaciens* türlerinin, toprak kaynaklı patojenlerin sebep olduğu bitki hastalıklarının biyolojik kontrolünde kullanılabilir olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan bir denemede *B. amyloliquefaciens* suşunun *Brassica napus* (kanola) bitkisinin yapraklarını *S. sclerotiorum* enfeksiyonundan tamamen koruduğu tespit edilmiştir. *In vitro* denemelerde ise, *B. amyloliquefaciens*'in hücre süspansiyonu (10^8 CFU/ml) uygulamasının, hastalık insidansını %83.3 oranında düşürdüğü kaydedilmiştir. Bir çalışmada, *Bacillus* ve *Pseudomonas* suşlarından elde edilen uçucu organik bileşiklerin *in vitro* koşullarda *S. sclerotiorum* izolatının büyümesini engellediği bildirilmiştir (Giorgio ve ark., 2015). Başka bir çalışmada, *B. subtilis*'in *Alternaria tenuis* ve *Botrytis cinerea* patojenleri üzerindeki antagonistik aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda 5 günlük inkübasyon sonrasındaki kültür plakalarında, *B. subtilis* suşu patojenlere (*A. tenuis* ve *B. cinerea*) karşı önemli derecede antagonistik aktivite (sırasıyla %81.32 ve %83.45) göstermiştir (Zhang ve ark., 2019). Gerçekleştirilen farklı bir çalışmada ise *Pseudomonas* türlerinin *S. sclerotiorum* üzerinde fungistatik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Veselova ve ark., 2019).

Çizelge 4. 2. Bakteri suşlarının *S. sclerotiorum*'un sklerot yapısına etkisi

Bakteriler	<u>Sklerot Yapılarına Etkisi</u>	
	mm	% Engelleme Oranı
<i>Bacillus</i> sp. SWU8-1 (35)	0.00e±0.00	100
<i>Paenibacillus polymyxa</i> RS-10 (38-1)	0.00e±0.00	100
<i>Bacillus thrungiensis</i> L14 (46)	18.33c±1.31	69.455
<i>Bacillus anthracis</i> X19 (47-1)	43.49b±1.89	27.525
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B11 (52-1)	0.00e±0.00	100
<i>Pseudomonas alcaligenes</i> W5-8 (55)	12.77d±1.98	78.72
C-	60.00a±0.00	0
C+	0.00e±0.00	100

4.1.3. Bakteri türlerinin uçucu bileşiklerinin fungusa etkisi

Bakterilerin üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı etkinliğinin araştırıldığı bu aşamada; iki ayrı petri kabında bulunan PDA ve TSA besiyerlerine sırasıyla fungus ve bakteri örneklerinden ekim yapılmış ve bu petri kapları üst üste gelecek şekilde kapatılıp parafinlenmiştir. İnkübasyon sonucunda fungusun gelişim oranları belirlenmiştir (Şekil 4.5. ve Çizelge 4.3.).

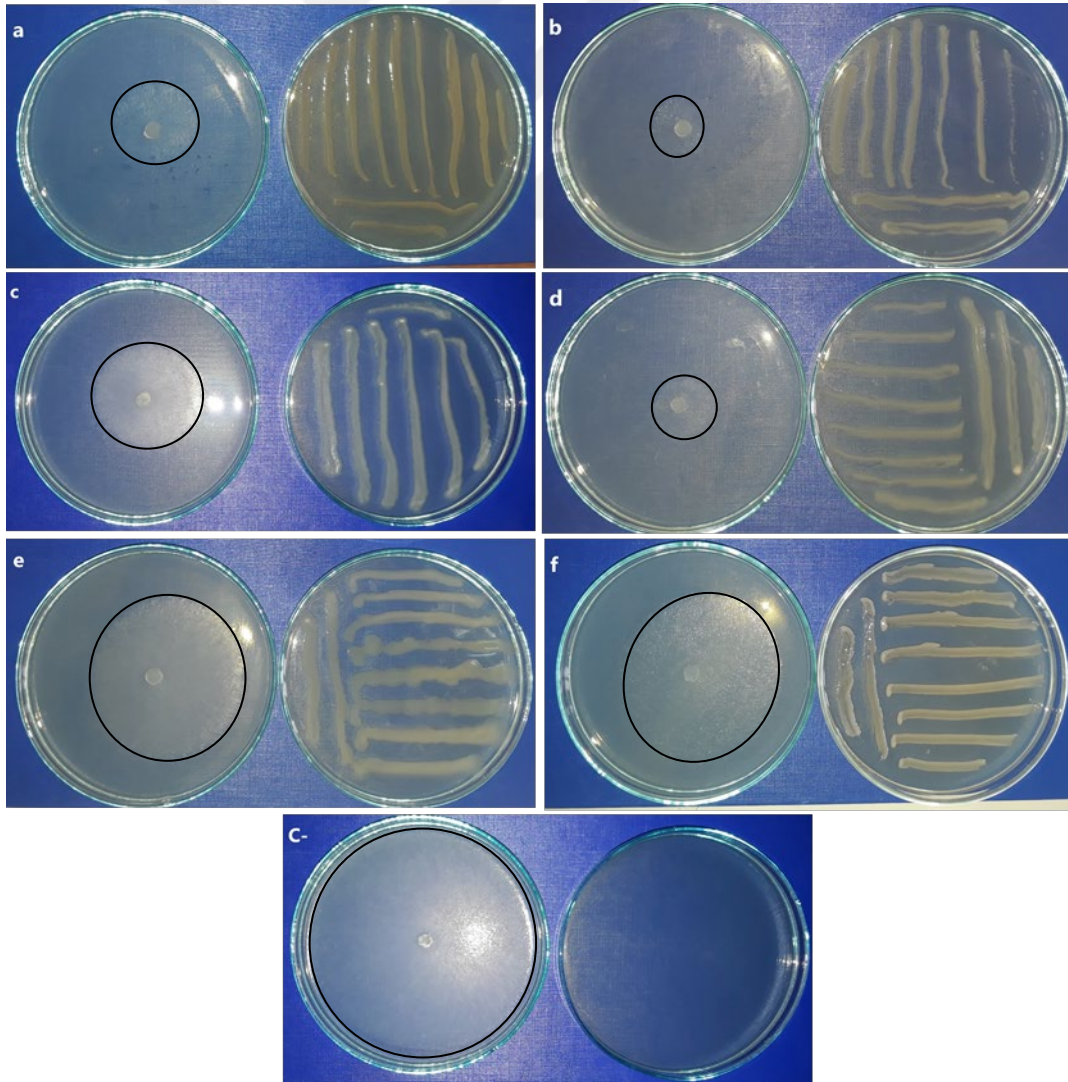


Şekil 4. 5. Bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin *S. sclerotiorum*'a karşı etkisi (35: *Bacillus* sp., 38-1: *Paenibacillus polymyxa*, 46: *B. thrungiensis*, 47-1: *B. anthracis*, 52-1: *B. amyloliquefaciens*, 55: *Pseudomonas alcaligenes*, C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)

Çizelge 4. 3. Bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin fungusa etkisi

Bakteriler	Uçucu Bileşiklerin Etkisi	
	mm	% Engelleme Oranı
<i>Bacillus</i> sp. SWU8-1 (35)	35.23d±1.84	60.853
<i>Paenibacillus polymyxa</i> RS-10 (38-1)	23.13e±1.97	74.306
<i>Bacillus thrungiensis</i> L14 (46)	44.52c±1.84	50.539
<i>Bacillus anthracis</i> X19 (47-1)	26.30e±1.21	70.781
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> B11 (52-1)	63.28b±1.10	29.694
<i>Pseudomonas alcaligenes</i> W5-8 (55)	67.67b±1.05	24.813
C-	90.00a±0.00	0
C+	0.00f±0.00	100

Bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu bileşiklerin fungusa etkisini araştırdığımız bu denemenin sonuçlarına göre; 6 suşun 4'ünde (*Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*, *B. thrungiensis*, *B. anthracis*,) %50'nin üzerinde engelleme görülmüştür (bkz. Şekil 4.5., 4.6.). En yüksek engelleme oranı %74.31 ile *P. polymyxa* suşunda görülmüştür. Bu suşu %70.78'lik engelleme oranı ile *B. anthracis* takip etmiştir. Bu aşamada en düşük etkiler %24.81 ve %29.69'luk oranla sırasıyla *Pseudomonas alcaligenes* ve *B. amyloliquefaciens* suşlarında görülmüştür (bkz. Çizelge 4.3.) Yapılan çalışmalarla, *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi biyolojik ajanların *S. sclerotiorum*'a karşı etkisi kanıtlanmış ve uygulamaya geçirilmiştir (Elad ve Stewart, 2004). Bir çalışmada, laboratuvar ortamında *B. amyloliquefaciens* suşu *S. sclerotiorum* patojenine karşı antagonistik aktivite göstermiş ve sera koşullarında da domates kurşuni küfü, hıyar ve kabak küllemesine karşı antagonistik aktivite gösterdiği saptanmıştır (Ji ve ark., 2013).



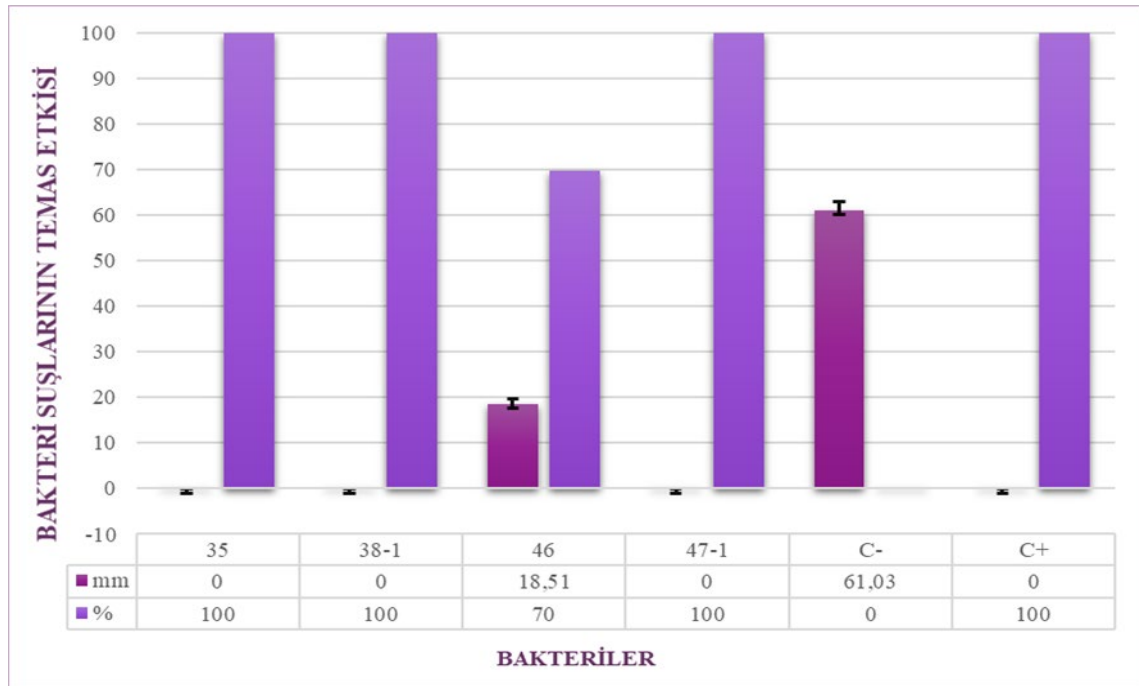
Şekil 4. 6. Bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin fungusun gelişimine etkisini gösteren sonuçlar (a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thrungiensis*, d: *B. anthracis*, e: *B. amyloliquefaciens*, f: *Pseudomonas alcaligenes*, C-: Negatif kontrol)

4.2. In vivo Testler

Çalışmamızda kullanılan ve *in vitro* testler sonucunda etkinliği belirlenmiş 6 adet bakteri suşundan en etkili olarak görülen 4 bakteri suşunun (*Bacillus* sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10, *B. thrungiensis* L14, *B. anthracis*) *in vivo* koşullarda etkinlikleri belirlenmiştir. Bu amaçla bakterilerin *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı temas (kontakt) etkisi ve uçucu organik bileşiklerin buhar etkisinin aktiviteleri hıyar meyvesi üzerinde belirlenmiştir.

4.2.1. *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı bakteri suşlarının temas etkisi

In vivo koşullar altında, önceden etkinliği belirlenmiş 4 bakteri suşundan elde edilen bakteriyel süspansiyonlar ve PDA ortamında geliştirilen *Sclerotinia sclerotiorum* izolatu, hıyar meyvesi üzerinde açılan yaralara sırası ile uygulanmış ve inkübasyona bırakılan hıyar meyvelerinin gelişimi günlük olarak takip edilmiştir. Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler Şekil 4.7. ve Çizelge 4.4.'de verilmiştir.



Şekil 4. 7. *In vivo* koşullar altında *Sclerotinia sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının temas etkisi (35: *Bacillus* sp., 38-1: *Paenibacillus polymyxa*, 46: *B. thuringiensis*, 47-1: *B. anthracis*, C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)

Çizelge 4. 4. *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı bakteri suşlarının temas etkisi

Bakteriler	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 'a Karşı Bakteri Suşlarının Temas Etkisi	
	mm	% Engelleme Oranı
<i>Bacillus</i> sp. SWU8-1 (35)	0.00c±0.00	100
<i>Paenibacillus polymyxa</i> RS-10 (38-1)	0.00c±0.00	100
<i>Bacillus thuringiensis</i> L14 (46)	18.51a±1.11	70
<i>Bacillus anthracis</i> X19 (47-1)	0.00c±0.00	100
C-	61.03b±1.90	0
C+	0.00c±0.00	100

Elde edilen sonuçlara göre test edilen bakteri suşlarından 3'ünde (*Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*, *B. anthracis*) %100 engelleme görülürken *B. thuringiensis* suşunda %70'lik bir engelleme görülmüştür (Çizelge 4.4). Aynı zamanda *B. thuringiensis* suşunun uygulandığı hıyar meyvesi üzerindeki yaralarda eser miktarda sklerot oluşumunda görülmüştür. Bu sklerot oluşumlarının bakterilerin hastalığın gelişimi üzerine oluşturduğu strese bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (Şekil 4.8). Yapılan bir denemede, 72 adet bakteri türünün *S. sclerotiorum*'un gelişimini engelleme düzeyleri araştırılmış ve gelişimin en yüksek oranda *Bacillus* izolatları tarafından engellendiği tespit edilmiştir (Soylu ve ark., 2002). Benzer bir çalışmada *Sclerotinia* bitki patojeninin kontrolünde bakterilerden; *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp. türlerinin biyolojik silah olarak kullanıldıkları belirtilmiştir (Bora, 2002). Bir çalışmada ise içerisinde *Bacillus* sp. ve *B. thuringiensis*'in de bulunduğu toplam 11 izolatın *Alternaria panax* ve *Colletotrichum gloeosporioides* patojenlerine karşı antagonistik aktiviteleri ölçülmüştür. Çalışma sonucunda %83 ila 90 arasında üstün engelleme oranları görülmüştür (Lee ve ark., 2012). Rahman ve ark. (2016), hardal bitkisine ve bitkinin yapraklarına içerisinde *B. amyloliquefaciens*'in de bulunduğu sekiz farklı *Bacillus* suşu enfekte ederek iki ayrı

Çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışma sonucunda *S. sclerotiorum*'un verdiği zarar % 90'a kadar azalmıştır.

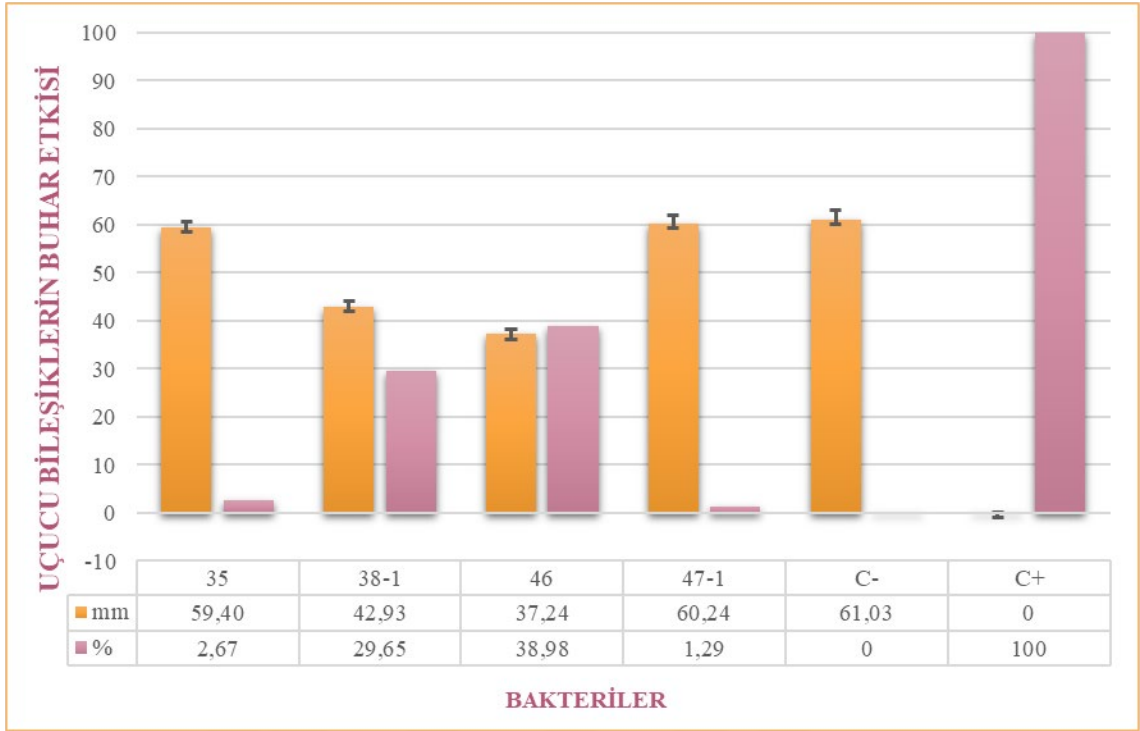


şekil 4. 8. Hıyar meyvesi üzerinde *S. sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının temas etkisi uygulaması (C+: pozitif kontrol, C-: negatif kontrol, a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thuringiensis*, d: *B. anthracis*)

In vivo şartlar altında elde ettiğimiz bu değerler gösteriyor ki, test ettiğimiz bakteri suşlarının neredeyse tamamının *S. sclerotiorum*'un gelişimini %100'e varan oranlarda engellediği ve bu hastalıkla mücadele de etkin bir yol olarak kayıtlara geçebileceği belirlenmiştir.

4.2.2. *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi

In vivo testlerin ikinci aşamasında, etkinliği belirlenen bakteri suşlarının ortama salgıladıkları uçucu organik bileşiklerin kapalı ortamda *Sclerotinia sclerotiorum*'un gelişimine olan etkisi araştırılmıştır. Çalışmamız sonucunda elde edilen veriler şekil 4.9 ve izelge 4.5'de verilmiştir.



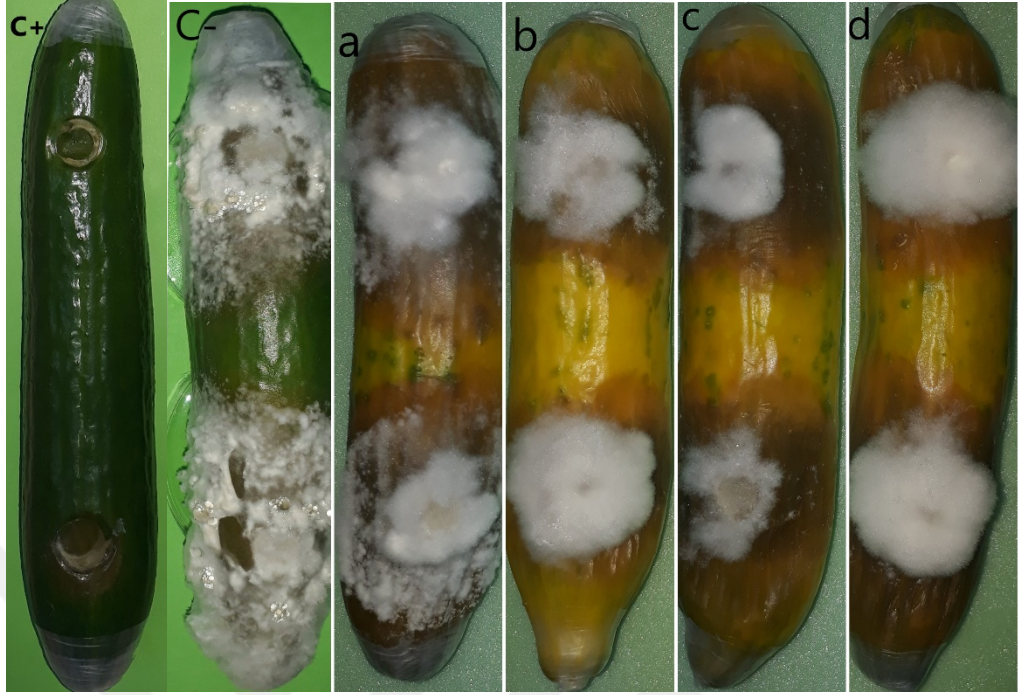
Şekil 4. 9. *In vivo* koşullar altında *S. sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının ürettiği uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi (35: *Bacillus* sp., 38-1: *Paenibacillus polymyxa*, 46: *B. thuringiensis*, 47-1: *B. anthracis*, C-: Negatif kontrol, C+: Pozitif kontrol)

Deneme sonucunda elde edilen verilere göre en yüksek engelleme oranı %38.98 ile *Bacillus thuringiensis* suşunda görülmüştür. En düşük engelleme oranı ise sırasıyla %1.29 ve %2.67 ile *Bacillus anthracis* ve *Bacillus* sp. suşlarında görülmüştür (Çizelge 4.5). Yapılan benzer çalışmalarla, *Bacillus* suşlarının *Sclerotinia*'nın bitkilerde oluşturduğu zararlara karşı iyi bir antagonistik özelliğe sahip oldukları kanısına varılmıştır (Paulitz ve Belanger, 2001). Farklı bir çalışmada, yenedünya meyvesi (*Eriobotrya japonica*) üzerinde hasat sonrası sık rastlanılan 5 bitki patojenine (*Fusarium oxysporum*, *Botryosphaeria* sp., *Trichoderma atroviride*, *Colletotrichum gloeosporioides* ve *Penicillium expansum*) karşı *B. thuringiensis*'in ürettiği uçucu organik bileşiklerin antagonistik etkisi araştırılmıştır. Üretilen uçucu organik bileşikler hasattan sonra meyvenin 10 gün taze kalmasını sağlarken aynı zamanda miselyum gelişiminde *Botryosphaeria* sp.'de %47, *P. expansum* ve *T. atroviride* patojenlerinde yaklaşık olarak %10 ile %20 oranlarında engelleme görülmüştür. Ve *C. gloeosporioides*'de de %10'dan az bir engelleme oranı

tespit etmişlerdir (He ve ark., 2020). Benzer bir çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* tarafından üretilen uçucu organik bileşikler ile, *S. sclerotiorum*'un gelişimi takip edilmiştir. Bu çalışmanın *in vitro* kısmında *S. cerevisiae* tarafından salgılanan uçucu organik bileşikler ile patojen fungus petri kaplarında yapay bir atmosfere tabi tutulmuştur. *In vivo* kısmındaki çalışmada ise patojenle kontamine olmuş fasulye tohumları, kapalı cam kaplarda uçucu organik bileşikler ile birlikte fümige edilmiştir. *In vitro* denemelerin sonucunda, 6 uçucu organik bileşikten 2'sinin (2-methyl-1-butanol ve 3-methyl-1-butanol) fungusun misel büyümesini tamamen inhibe ettiği tespit edilmiş, *in vivo* deneylerde ise fasulye tohumlarının, dört günlük fümigasyondan sonra *S. sclerotiorum* insidansında %75'lik bir azalma gösterdiği belirtilmiştir (Fialho ve ark., 2011).

Çizelge 4. 5. *Sclerotinia sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi

Bakteriler	Uçucu Organik Bileşiklerin Buhar Etkisi	
	mm	%
<i>Bacillus</i> sp. SWU8-1 (35)	59.4a±1.35	2.67
<i>Paenibacillus polymyxa</i> RS-10 (38-1)	42.93b±1.07	29.65
<i>Bacillus thuringiensis</i> L14 (46)	37.24b±1.04	38.98
<i>Bacillus anthracis</i> X19 (47-1)	62.24a±1.82	1.29
C-	61.03a±1.90	0
C+	0.00c±0.00	100



Şekil 4. 10. Hıyar meyvesi üzerinde *S. sclerotiorum* izolatına karşı bakteri suşlarının üretmiş olduğu uçucu organik bileşiklerin buhar etkisi uygulaması (C+: pozitif kontrol, C-: negatif kontrol, a: *Bacillus* sp., b: *Paenibacillus polymyxa*, c: *B. thuringiensis*, d: *B. anthracis*)

Bu aşama sonucunda kaydedilen verilere göre; bir önceki temas etkisinin araştırıldığı aşamada %100 engellemeye sahip suşların denemenin bu aşamasında çok düşük seviyelerde inhibisyon oranlarına sahip olduğu görülmektedir. *In vivo* koşullardaki bu denemelerin farklı uygulanış biçimleri aynı suşların aynı hastalık üzerindeki sonuçlarının farklı gelişebileceğini göstermektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sclerotinia sclerotiorum (Lib.) de Bary'a karşı bazı bakteri türlerinin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen bu çalışmada, Antalya ili seralarında yetişen hıyar bitkilerinden izolasyonu yapılan *S. sclerotiorum* izolatının kontrolünde kullanılmak üzere Kırşehir ili tarım alanlarından bakteriler izole edilmiş ve tür teşhisleri yapılmıştır. Tür teşhisi yapılan bakterilerden 6 tanesi (*Bacillus* sp. SWU8-1, *Paenibacillus polymyxa* RS-10, *B. thuringiensis* L14, *B. anthracis*, *B. amyloliquefaciens* B11 ve *Pseudomonas alcaligenes* W5-8) tarafından açığa çıkarılan uçucu organik bileşikler karakterize edilmiş ve bileşiklerin bitki patojeni fungus *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal aktiviteleri *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında test edilmiştir.

Çalışma sonucunda, laboratuvar denemelerinde (*in vitro*) ortaya çıkan sonuçlar bazı uçucu organik bileşiklerin (*Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus amyloliquefaciens*) patojen üzerinde %100'e varan engelleme oranlarına sahip olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda da bazı uçucu organik bileşiklerin (*Bacillus* sp., *Paenibacillus polymyxa*, *Bacillus anthracis*) hıyar meyvesi üzerinde (*in vivo*) gelişim gösteren patojeni %100'e varan oranlarda engellediği görülmektedir.

Sclerotinia sclerotiorum'un sklerot yapılarının uzun yıllar doğada canlı kalabilmesinden dolayı bu patojen ile mücadelede sklerotların etkinliğinin baskılanması ve patojenin gelişiminin sıfıra indirilmesi hedeflenmelidir. Bu amaçla piyasada bulunan kimyasal içerikli pestisitler/fungusitler yerine alternatif mücadele yöntemlerine (bitkisel kökenli pestisitler, biyolojik mücadele, biyoteknik mücadele) yönelinmelidir. Hastalıkla savaşında devamlı kimyasal mücadele uygulandığı takdirde hastalığın eğilimi azalmak yerine patojen direnç kazanıp tersi yönde etki yaratacak ve kimyasal mücadele yöntemleri önümüzdeki yıllarda giderek etkinliğini kaybedecektir. Bunun yanı sıra kimyasal mücadelenin faydasından ziyade zararlarının daha çoğunlukta olduğu yapılan araştırmalarla kanıtlanmaktadır. Kimyasal mücadele yöntemleri ile patojenlerin gelişimi engellenirken çevreye, doğaya ve tüm canlılara verdiği zararlar unutulmamalıdır. Bu sebeple, hastalık ve zararlılarla mücadelede kullanılan alternatif mücadele yöntemleri aynı zamanda pestisitlerin verdiği zararları da ortadan kaldırmamıza yardımcı olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abdullah, M.T., Ali N.Y. ve Suleman, P., 2008. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. Crop Prot., 27(10),1354–1359.
- Adams, P. B. ve Ayers, W. A., 1979. Ecology of *Sclerotinia* Species. Phytopathology, 69(8), 896-899.
- Agrios, G. N., 1997. Plant Pathology. Academic Pres, California, 635 p.
- Alabouvette, R., P. Lemanceau ve C. Steinberg., 1996. Biological Control of Fusarium Wilts : Opportunities for Developing A Comercial Product.
- Altınok, H. H., Dikiltaş, M. ve Yildiz, H. N., 2013. Potential of *Pseudomonas* and *Bacillus* isolates as biocontrol agents against *fusarium* wilt of eggplant. Biotechnol. Biotechnol. Equip., 27 (4), 3952-3958.
- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. ve Lipman, D. J., 1990. Basic local alignment search tool. J. Mol. Biol. , 215(3), 403-410.
- Andersen, G. L., Simchock, J. M., ve Wilson, K. H., 1996. Identification of a region of genetic variability among *Bacillus anthracis* strains and related species. J. Bacteriol., 178(2), 377-384.
- Andrews, J.H., 1992. Biological control of the phyllosphere. Annu. Rev. Phytopathol., 30, 603–605.
- Anonim, 2019a. Sebzelerde Beyaz Çürüklük. <https://www.sorhocam.com/etiket.asp?sid=4947&sebzelerde-beyaz-curukluk-sclerotinia-sclerotiorum> (14.05.2019).
- Anonim, 2019b. *Bacillus* sp. <https://tr.wikipedia.org/wiki/Bacillus>
- Anonim, 2020a. *Bacillus thuringiensis*. <https://global.britannica.com/science/Bacillus-thuringiensis>. (18.09.20)
- Anonim, 2020b. *Bacillus thuringiensis*. https://tr.wikipedia.org/wiki/Bacillus_thuringiensis. (18.09.20)
- Arguelles-Arias, A., Ongena, M., Halimi, B., Lara, Y., Brans, A., Joris, B. ve Fickers, P., 2009. *Bacillus amyloliquefaciens* GA1 as a source of potent antibiotics and other secondary metabolites for biocontrol of plant pathogens. Microb. cell factories, 8(1), 63.
- Asari, S. Y., 2015. Studies on plant-microbe interaction to improve stress tolerance in plants for sustainable agriculture. Plant Biol., Swedish University of Agricultural Sciences (Vol. 2015, No. 76).
- Asari, S., Matzén, S., Petersen, M. A., Bejai, S. ve Meijer, J., 2016. Multiple effects of *Bacillus amyloliquefaciens* volatile compounds: plant growth promotion and growth inhibition of phytopathogens. FEMS Microbiol. Ecol., 92(6), fiw070.
- Ayers, W. A. ve Adams, P. B., 1981. Mycoparasitism and its application to biological control of plant diseases. Biol. control in crop production, 91-103.
- Bafana, A., Chakrabarti, T. ve Devi, S.S., 2008. Azoreductase and dye detoxification activities of *Bacillus velezensis* strain AB. Appl. Microbiol. Biotechnol., 77(5), 1139–1144.
- Bardin, S.D. ve Huang, H.C., 2001. Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. Can. J. Plant Pathol., 23(1), 88-98.

- Berg, G., Knaape, C., Ballin, G., ve Seidel, D., 1994. Biological control of *Verticillium dahliae* Kleb. by natural occurring rhizosphere bacteria. Arch. Phytopath. Pflanz., 29(3), 249-262.
- Bolton, M. D., Thomma, B. P. ve Nelson, B. D., 2006. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. Mol. plant pathol., 7(1), 1-16.
- Bora, T., 2002. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaşta gelişmeler ve Türkiye’de durum. *Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi*, 1-14s.
- Cernava, T., Aschenbrenner, I.A., Grube, M., Liebminger, S. ve Berg, G., 2015. A novel assay for the detection of bioactive volatiles evaluated by screening of lichen-associated bacteria. Front. Microbiol., 6, 398.
- Chaiyawan, N., Taveeteptakul, P., Wannissorn, B., Ruengsomwong, S., Klungsunya, P., Buaban, W. ve Itsaranuwat, P., 2010. Characterization and probiotic properties of *Bacillus* strains isolated from broiler. Thai J. Vet. Med., 40, 207–214.
- Chen, B., Zhang, Y., Rafiq, M.T., Khan, K.Y., Pan, F., Yang, X. ve Feng, Y., 2014. Improvement of cadmium uptake and accumulation in *Sedum alfredii* by endophytic bacteria *Sphingomonas* SaMR12: effects on plant growth and root exudates. Chemosphere, 117, 367–373.
- Chen, X., Scholz, R., Borriss, M., Junge, H., Mögel, G., Kunz, S. ve Borriss, R., 2009. Difficidin and bacilysin produced by plant-associated *Bacillus amyloliquefaciens* Dars efficient in controlling fire blight disease. J. biotechnol., 140(1-2), 38-44.
- Cheng, W., Yang, J., Nie, Q., Huang, D., Yu, C., Zheng, L., Cai, M., Thomashow, L.S., Weller, D.M., Yu, Z. ve Zhang, J., 2017. Volatile organic compounds from *Paenibacillus polymyxa* KM2501-1 control *Meloidogyne incognita* by multiple strategies. J. biotechnol., 7(1), 1-11.
- Cristea, G., Illiescu, H., Opera, M. ve Teodorescu, T., 1985. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, Pathogen of Sunflower White Rot, Parasitic on Some Medicinal and Aromatic Species. Buletinul-de-Protectia-Planteor, 1-2, 25-33.
- Dandurishvili, N., Toklikishvili, N., Ovadis, M., Eliashvili, P., Giorgobiani, N., Keshelava, R., Tediashvili, M., Vainstein, A., Khmel, I., Szegedi, E. ve Chernin, L., 2011. Broad-range antagonistic rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Serratia plymuthica* suppress *Agrobacterium* crown gall tumours on tomato plants. J. Appl. Microbiol., 110(1), 341-352.
- Del Rio, L.E., Martinson, C.A. ve Yang, X.B., 2002. Biological control of *Sclerotinia* stem rot of soybean with *Sporidesmium sclerotivorum*. Plant Dis., 88, 1352- 1356.
- Effmert, U., Kalderas, J., Warnke, R. ve Piechulla, B., 2012. Volatile mediated interactions between bacteria and fungi in the soil. J. Chem. Ecol., 38(6), 665–703.
- Elad, Y. ve Stewart, A., 2004. Microbial control of *Botrytis* spp. pp. 223-236. In: *Botrytis: Biology, Pathology and Control* (Eds: Elad, Y., Williamson, P., Tudzynski, P., Delen, N.) Kluwer Academic Publishers, London.
- FAO (Food and Agriculture Organization), Statistics, 2006. Available online at: <http://www.faostat.fao.org/faostat/>.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2019. Hıyar üretim miktarı. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

- Faria, D.C., Dias, A.C., Melo, I.S. ve de Carvalho Costa, F.E., 2013. Endophytic bacteria isolated from orchid and their potential to promote plant growth. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 29(2), 217–221.
- Favel, D., 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 337–359.
- Fernando, W. D., Ramarathnam, R., Krishnamoorthy, A. S. ve Savchuk, S. C., 2005. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil Biol. Biochem.*, 37(5), 955–964.
- Fernando, W.G.D. ve Linderman, R., 1994. Inhibition of *Phytophthora vignae* and root rot of cowpea by soil bacteria. *Biol. Agric. Hortic.*, 12(1), 1–14.
- Fialho, M. B., Moraes, M. H. D. D., Tremocoldi, A. R. ve Pascholati, S. F., 2011. Potential of antimicrobial volatile organic compounds to control *Sclerotinia sclerotiorum* in bean seeds. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, 46(2), 137–142.
- Fiddaman, P. J. ve Rossall, S., 1994. Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*. *J. Appl. Bacteriol.*, 76(4), 395–405.
- Fischer, C.Y., Lognay, G.C., Detrain, C., Heil, M., Grigorescu, A., Sabri, A., Thonart, P., Haubruge, E. ve Verheggen, F.J., 2015. Bacteria may enhance species association in an ant–aphid mutualistic relationship. *Chemoecology*, 25(5), 223–232.
- Fischer-Le Saux, M., Viallard, V., Brunel, B., Normand, P. ve Boemare, N. E., 1999. Polyphasic classification of the genus *Photorhabdus* and proposal of new taxa: *P. luminescens* subsp. *luminescens* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *akhurstii* subsp. nov., *P. luminescens* subsp. *laumondii* subsp. nov., *P. temperata* sp. nov., *P. temperata* subsp. *temperata* subsp. nov. and *P. asymbiotica* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 49(4), 1645–1656.
- Flores-Carrero, A., Paniz-Mondolfi, A. ve Araque, M., 2016. Nosocomial bloodstream infection caused by *Pseudomonas alcaligenes* in a preterm neonate from Mérida, Venezuela. *J. Clin. Neonatol.*, 5(2), 131.
- Gao, Z., Zhang, B., Liu, H., Han, J. ve Zhang, Y., 2017. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. *Biol. Control*, 105, 27–39.
- Garibaldi, A., Minuto, A. ve Gullino, M. L., 2001. First Report of *Sclerotinia sclerotiorum* on *Calendula officinalis* in Italy. *Plant Dis.*, 85(4), 446.
- Gezer, J., 2014. *Sclerotinia sclerotiorum*’ a Karşı Bitkisel Kökenli Uçucu Bileşiklerin Antifungal Etkileri. (Yüksek Lisans Tezi), Mustafa Kemal Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Hatay.
- Giorgio, A., De Stradis, A., Lo Cantore, P. ve Iacobellis, N. S., 2015. Biocide effects of volatile organic compounds produced by potential biocontrol rhizobacteria on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Front. Microbiol.*, 6, 1056.
- Gossen, B. D., Rimmer, S. R. ve Holley, J. D., 2001. First report of resistance to benomyl fungicide in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Dis.*, 85(11), 1206–1206.
- Gotor-Vila, A., Teixidó, N., Di Francesco, A., Usall, J., Ugolini, L., Torres, R. ve Mari, M., 2017. Antifungal effect of volatile organic compounds produced by *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 against fruit pathogen decays of cherry. *Food Microbiol.*, 64, 219–225.
- Gracia-Garza, J., Reedeler, R. ve Paulitz, T., 1997. Degradation of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* by fungus gnats (*Bradysia coprophila*) and the biocontrol fungi *Trichoderma* spp. *Soil Biol. Biochem.*, 29(2), 123–129.

- Gu, Y. Q., Mo, M. H., Zhou, J. P., Zou, C. S. ve Zhang, K. Q., 2007. Evaluation and identification of potential organic nematicidal volatiles from soil bacteria. *Soil Biol. Biochem.*, 39(10), 2567-2575.
- Gurtler, H., Pedersen, R., Anthoni, U., Christophersen, C., Nielsen, P.H., Wellington, E.M., Pedersen, C. ve Bock, K., 1994. Albaflavenone, a sesquiterpene ketone with a zizaene skeleton produced by a streptomycete with a new rope morphology. *Journal Antibiot.*, 47(4), 434-439.
- Gutterson, N., Ziegler, J.S., Warren, G.J. ve Layton, T.J., 1988. Genetic determinants for catabolite induction of antibiotic biosynthesis in *Pseudomonas fluorescens* HV 37a. *J. Bacteriol.*, 170(1), 380–385.
- Handelsman, J. ve Stabb, E.V., 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *The Plant Cell*, 8(10), 1855–1869.
- He, C. N., Ye, W. Q., Zhu, Y. Y. ve Zhou, W. W., 2020. Antifungal activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus methylotrophicus* and *Bacillus thuringiensis* against five common spoilage fungi on loquats. *Molecules*, 25(15), 3360.
- Howell, C.R. ve Stipanovic, R.D., 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology*, 69(5), 480–482.
- Huang, H. ve Kokko, E., 1993. *Trichothecium roseum*, a mycoparasite of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Can. J. Bot.*, 71(12), 1631–1638.
- Ivanova, N., Sorokin, A., Anderson, I., Galleron, N., Candelon, B., Kapatral, V. ve Chu, L., 2003. Genome sequence of *Bacillus cereus* and comparative analysis with *Bacillus anthracis*. *Nature*, 423(6935), 87-91.
- James, D.W. ve Gutterson, N.I., 1986. Multiple antibiotics produced by *Pseudomonas fluorescens* HV 37A and their differential regulation by glucose. *Appl. Environ. Microbiology*, 52(5), 1183–1189.
- Ji, S. H., Paul, N. C., Deng, J. X., Kim, Y. S., Yun, B. S. ve Yu, S. H., 2013. Biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against fungal plant diseases. *Mycob.*, 41(4), 234-242.
- Kai, M., Hausteine, M., Molina, F., Petri, A., Scholz, B. ve Piechulla, B., 2009. Bacterial volatiles and their action potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 81(6), 1001–1012.
- Kang, S.H., Cho, H., Cheong, H., Ryu, C., Kim, J.F. ve Park, S., 2007. Two bacterial entophytes eliciting both plant growth promotion and plant defense on pepper (*Capsicum annuum* L.). *J. Microbiol. Biotechnol.*, 17(1), 96–103.
- Kanner, D., Gerber, N.N. ve Bartha, R., 1978. Pattern of phenazine pigment production by strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriology*, 134(2), 690–692.
- Klasse, H. J., 1995. Control of *Sclerotinia sclerotiorum* by using calcium cyanamide fertilizer (PERLKA). VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 26-29 Eylül, Adana, s.244-246.
- Kohn, L. M., 1979. A monographic revision of the genus *Sclerotinia*. *Mycotaxon*, 9(2), 365-444.
- Kolstø, A. B., Tourasse, N. J. ve Økstad, O.A., 2009. What sets *Bacillus anthracis* apart from other *Bacillus* species?. *Annual review of microbiology*, 63, 451-476.
- Kotan, R., Dikbas, N. ve Bostan, H., 2009. Biological control of post harvest disease caused by *Aspergillus flavus* on stored lemon fruits. *Afr. J. Biotechnol.*, 8(2), 209-214.

- Koumoutsis, A., Chen, X. H., Henne, A., Liesegang, H., Hitzeroth, G., Franke, P., Vater, J. ve Borriss, R., 2004. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. *J. Bacteriol.*, 186(4), 1084-1096.
- Köhl, J., Gerlagh, M. ve Grit, G., 2000. Biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Ulocladium atrum* in different production systems of cyclamen. *Plant Dis.*, 84(5), 569-57.
- Kukla, M., Plociniczak, T. ve Piotrowska-Seget, Z., 2014. Diversity of endophytic bacteria in *Lolium perenne* and their potential to degrade petroleum hydrocarbons and promote plant growth. *Chemosphere*, 117, 40-46.
- Kurt, Ş. ve Erkılıç, A., 1997. Marul'da beyaz çürüklüğe (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) karşı sarmısak ekstraktı ve Iprodione'un etkinliğinin belirlenmesi. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13, 111-119.
- Lal, S. ve Tabacchioni, S., 2009. Ecology and biotechnological potential of *Paenibacillus polymyxa*: a minireview. *Indian J. Microbiol.*, 49(1), 2-10.
- Leclere, V., Bechet, M., Adam, A., Guez, J.S., Wathelet, B., Ongena, M., Thonart, P., Gancel, F., Chollet-Imbert, M. ve Jacques, P., 2005. Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities. *Appl. Environ. Microb.*, 71(8), 4577-4584.
- Lee, H. J., Park, K. C., Lee, S. H., Bang, K. H., Park, H. W., Hyun, D. Y., Kang, S. W., Cha, S. W. ve Chung, I. M., 2012. Screening of antifungal *Bacillus* spp. against *Alternaria* blight pathogen (*Alternaria panax*) and anthracnose pathogen (*Colletotrichum gloeosporioides*) of ginseng. *Korean J. Med. Crop Sci.*, 20(5), 339-344.
- Li, X.-Y., Mao, Z.-C., Wu, Y.-X., Ho, H.-H. ve He, Y.-Q., 2014. Comprehensive volatile organic compounds profiling of *Bacillus* species with biocontrol properties by head space solid phase microextraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Biocontrol Sci. Technol.*, 25(2), 132-143.
- Loper, J.E. ve Buyer, J.S., 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surfaces. *Mol. Plant Microbe In.*, 4(1), 5-13.
- Mansour, T., A., Nida, Y., A. ve Patrice, S., 2008, Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *J. Crop Prot.*, 27(10), 1354-1359.
- Martens, J., Seaman. G. ve Atkinson. G (Eds.), 1994. Diseases of Field Crops in Canada. The Canadian Phytopathological Society Canada, 160 pp.
- Mckee, N. D. ve Robinson, P. M., 1988. Production of volatile inhibitors of germination and hyphal extension by *Geotrichum candidum*. *Transactions of the British Mycological Society*, 91(1), 157-160.
- Meldau, D. G., Long, H. H. ve Baldwin, I. T. (2012). A native plant growth promoting bacterium, *Bacillus* sp. B55, rescues growth performance of an ethylene-insensitive plant genotype in nature. *Frontiers in plant science*, 3, 112.
- Melzer, M. S., Smith, E. A. ve Boland, G. J., 1997. Index of Plant Hosts of *Sclerotinia minor*. *Can. Journal of Plant Pathol.*, 19(3), 272-280.
- Mendes, R., Garbeva, P. ve Raaijmakers, J.M., 2013. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37(5), 634-663.
- Meng, Q., Jiang, H. ve Hao, J.J., 2016. Effects of *Bacillus velezensis* strain BAC03 in promoting plant growth. *Biol. Control*, 98, 18-26.

- Mohammadi, A., Hashemi, M. ve Hosseini, S. M., 2016. Integration between chitosan and *Zataria multiflora* or *Cinnamomum zeylanicum* essential oil for controlling *Phytophthora drechsleri*, the causal agent of cucumber fruit rot. LWT-Food Science and Technology, 65, 349-356.
- Nam, M. H., Park, M. S., Kim, H. G. ve Yoo, S. J., 2009. Biological control of strawberry Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* using *Bacillus velezensis* BS87 and RK1 formulation. J. Microbiol. Biotechn., 19(5), 520-524.
- Nandhini, S., Sendhilvel, V. ve Babu, S., 2012. Endophytic bacteria from tomato and their efficacy against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, the wilt pathogen. J. Biopesticides, 5(2), 178-185.
- O'Mahony, M. M., Dobson, A. D., Barnes, J. D. ve Singleton, I., 2006. The use of ozone in the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminated soil. Chemosphere, 63(2), 307-314.
- Oedjijono, M., Line, A. ve Dragar, C., 1993. Isolation of bacteria antagonistic to a range of plant pathogenic fungi. Soil Biol. Biochem., 25(2), 247-250.
- Onaran, A. ve Yanar, Y., 2009. Türkiye’de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary Üzerinde Yapılan Çalışmalar. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2(2), 75-80.
- Onaran, A., 2009. Antalya İlinde seralarda yetiştirilen hıyarlarda görülen beyaz çürüklük etmeni *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary’un yaygınlığı, tanılanması, miselyum uyumluluk grupları, patojenitesi ve biyolojik kontrolü üzerine araştırmalar.
- Onaran, A. ve Yanar, Y., 2011. Screening bacterial species for antagonistic activities against the *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary causal agent of cucumber white mold disease. Afr. J. Biotechnol., 10(12), 2223-2229.
- Paul, B., 1999. Suppression of *Botrytis cinerea* causing the grey mould disease of grapevine by an aggressive mycoparasite, *Pythium radiosum*. FEMS Microbiology Letters, 176(S), 25-30.
- Paulitz, T. C. ve Bélanger, R. R., 2001. Biological control in greenhouse systems. Annual review of phytopathology, 39(1), 103-133.
- Pavlo, A., Leonid, O., Iryna, Z., Natalia, K. ve Maria, P.A., 2011. Endophytic bacteria enhancing growth and disease resistance of potato (*Solanum tuberosum* L.). Biol. Control, 56, 43-49.
- Perestrelo, R., Silva, C.L., Rodrigues, F., Caldeira, M. ve Camara, J.S., 2016. A powerful approach to explore the potential of medicinal plants as a natural source of odor and antioxidant compounds. J. Food Sci. Technol., 53, 132-144.
- Pickett, M. J. ve Greenwood, J. R., 1986. *Pseudomonas alcaligenes* and *Pseudomonas testosteroni*: Characterization and identification. Current Microbiology, 13(4), 197-201.
- Popova, A.A., Koksharova, O.A., Lipasova, V.A., Zaitseva, J.V., Katkova- hukotskaya, O.A., Eremina, S.Iu., Mironov, A.S., Chernin, L.S. ve Khmel I.A., 2014. Inhibitory and toxic effects of volatiles emitted by strains of *Pseudomonas* and *Serratia* on growth and survival of selected microorganisms, *Caenorhabditis elegans*, and *Drosophila melanogaster*. BioMed Research International.
- Purdy, L. H., 1979. *Sclerotinia sclerotiorum* history, Diseases and Symptomatology, Host Range, Geographic Distribution, and Impact. Phytopathology, 69, 875-880.
- Rahman, M. M. E., Hossain, D. M., Suzuki, K., Shiiya, A., Suzuki, K., Dey, T. K., Nonaka, M. ve Harada, N., 2016. Suppressive effects of *Bacillus* spp. on mycelia, apothecia and sclerotia formation of *Sclerotinia sclerotiorum* and potential as

- biological control of white mold on mustard. *Australas. Plant Pathol.*, 45(1), 103-117.
- Raza, W., Yuan, J., Ling, N., Huang, Q. ve Shen, Q., 2015. Production of volatile organic compounds by an antagonistic strain *Paenibacillus polymyxa* WR-2 in the presence of root exudates and organic fertilizer and their antifungal activity against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Biol. Control* 80, 89–95.
- Raza, W., Ling, N., Yang, L., Huang, Q. ve Shen, Q., 2016. Response of tomato wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* to the volatile organic compounds produced by a biocontrol strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-9. *Scientific reports*, 6(1), 1-13.
- Rothrock, C.S. ve Gottlieb, D., 1984. Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopicus* var *geldanus* to *Rhizoctonia solani* in soil. *Can. J. Microbiol.*, 30, 1440–1447.
- Rybakova, D., Rack-Wetzlinger, U., Cernava, T., Schaefer, A., Schmuck, M. ve Berg, G., 2017. Aerial warfare: a volatile dialogue between the plant pathogen *Verticillium longisporum* and its antagonist *Paenibacillus polymyxa*. *Frontiers in plant science*, 8, 1294.
- Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Wei, H. X., Paré, P. W. ve Kloepper, J. W., 2003. Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(8), 4927-4932.
- Saile, E. ve Koehler, T.M., 2006. *Bacillus anthracis* multiplication, persistence, and genetic exchange in the rhizosphere of grass plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 72:3168–74.
- Savchuk, S., 2002. Evaluation of biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* on canola (*Brassica napus*) in the laboratory, in the greenhouse and in the field. MSc Thesis Dissertation, University of Manitoba.
- Schulz-Bohm, K., Martín-Sánchez, L. ve Garbeva, P., 2017. Microbial volatiles: small molecules with an important role in intra-and inter-kingdom interactions. *Front. Microbiol.*, 8, 2484.
- Senghor, A., Liang, W.L. ve Ho, W., 2007. Integrated control of *Colletotrichum gloeosporioides* on mango fruit in Taiwan by the combination of *Bacillus subtilis* and fruit bagging. *Biocontrol Sci. Technol.* 9: 575-580.
- Shivaramaiah, S., Pumford, N.R., Morgan, M.J., Wolfenden, R.E., Wolfenden, A.D., Torres-Rodríguez, A., Hargis, B.M. ve Téllez, G., 2011. Evaluation of *Bacillus* species as potential candidates for direct-fed microbials in commercial poultry. *Poult. Sci. J.*, 90, 1574–1580.
- Soylu, S., Soylu, E. M., Bozkurt, A. ve Yiğitbaş, H., 2002. Farklı bölgelerde yetiştirilen biberlerin rhizosferlerinden izole edilen bakteri izolatlarının toprak kökenli fungal patojenlerin gelişimi üzerine olan etkinliklerinin *in vitro* koşullarında belirlenmesi. *Türkiye 5. Biyolojik mücadele kongresi bildirileri*, 391-399s. Erzurum.
- Spraker, J., Jewell, K., Roze, L., Scherf, J., Ndagano, D., Beaudry, R. ve Keller, N. P., 2014. A volatile relationship: profiling an inter-kingdom dialogue between two plant pathogens, *Ralstonia solanacearum* and *Aspergillus flavus*. *J. Chem. Ecol.* 40, 502–513.
- Suzuki, M., Suzuki, S., Matsui, M., Hiraki, Y., Kawano, F. ve Shibayama, K., 2013. Genome sequence of a strain of the human pathogenic bacterium *Pseudomonas alcaligenes* that caused bloodstream infection. *Genome Announc.*, 1(5).

- Tanji, Y., Hori, K., Yamamoto, S. ve Unno, H., 2000. Characterization of Phage Encoded Lysis Proteins and Its Applications for Cell Disruption. In *Progress in Biotechnology* (Vol. 16, pp. 207-211). Elsevier.
- Thaning, C., Welch, C.J., Borowicz, J.J., Hedman, R. ve Gerhardson, B., 2001. Suppression of *Sclerotinia sclerotiorum* apothecial formation by the soil bacterium *Serratia plymuthica*: identification of a chlorinated macrolide as one of the causal agents. *Soil Biol. Biochem.*, 33, 1817–1826.
- Thomashow, L.S. ve Weller, D.M., 1988. Role of a phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici*. *J. Bacteriol.*, 170, 3499–3508.
- Timmusk, S., Grantcharova, N. ve Wagner, E. G. H., 2005. *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 7292–7300. doi: 10.1128/AEM.71.11.7292-7300.2005
- Tjamos, E. C., Tsitsigiannis, D. I., Tjamos, S. E., Antoniou, P. P. ve Katinakis, P., 2004. Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarized soils as biocontrol agents against *Verticillium dahliae* of solanaceous hosts. *Eur. J. Plant Pathol.*, 110(1), 35-44.
- Tu, J., 1985. Tolerance of white bean (*Phaseolus vulgaris*) to white mold (*Sclerotinia sclerotiorum*) associated with tolerance to oxalic acid. *Physiol. Plant Pathol.*, 26, 111–118.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) verileri, 2019. Hıyar (sofralık, turşuluk) ekim alanı. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) verileri, 2020. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2020-33737>
- Valenstein, P., Bardy, G. H., Cox, C. C. ve Zwadyk, P., 1983. *Pseudomonas alcaligenes* endocarditis. *Am. J. Clin. Pathol.*, 79(2), 245-247.
- Veselova, M. A., Plyuta, V. A. ve Khmel, I. A., 2019. Volatile Compounds of Bacterial Origin: Structure, Biosynthesis, and Biological Activity. *Microbiology*, 88(3), 261-274.
- Vincent, M.N., Harrison, L.A., Brackin, J.M., Kovacevich, P.A., Mukerji, P., Weller, D.M. ve Pierson, E.A., 1991. Genetic analysis of the antifungal activity of a soilborne *Pseudomonas aureofaciens* strain. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 2928–2934.
- Vogel G., (1996), Des. Hanbuch, Speziellen Gemuesebaues, vol. 1127, Seiten: Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.
- Wang, C., Wang, Z., Qiao, X., Li, Z., Li, F., Chen, M., Wang, Y., Huang, Y. ve Cui, H., 2013. Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces albobiflavus* TD-1. *FEMS Microbiol. Lett.* 341, 45–51.
- Weller, D.M. ve Cook, R.J., 1986. Increased growth of wheat by seed treatments with *fluorescens* pseudomonads, and implications of Phytium control. *Can. J. Plant Pathol.* 8:328-334.
- Wu, Y., Yuan, J., Raza, W., Shen, Q. ve Huang, Q., 2014. Biocontrol traits and antagonistic potential of *Bacillus amyloliquefaciens* strain NJZJSB3 against *Sclerotinia sclerotiorum*, a causal agent of canola stem rot. *J. Microbiol. Biotechn.*, 24(10), 1327-1336.
- Yanar, Y., 1997. Pathogenesis of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary on Pepper (*Capsicum annum* L.) (Ph.D. Thesis), Ohio State Uni., 136 p.

- Yanar, Y. ve Miller, S.A., 2003. Resistance of pepper cultivars and *Capsicum* spp. accessions to *Sclerotinia sclerotiorum*. Plant Dis. 87:303-307.
- Yang, Z., Guo, H. ve Zhang, X., 2008. Study on the control of peach post-harvest diseases using *Bacillus subtilis*. China Fruits. 23: 35-38.
- Yuan, J., Raza, W., Shen, Q. ve Huang, Q., 2012. Antifungal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 volatile compounds against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. Appl. Environ. Microbiol., 78(16), 5942–5944.
- Yuen, G.Y., Godoy, G., Steadman, J.R., Kerr, E.D. ve Craig, M.L., 1991. Epiphytic colonization of dry edible bean by bacteria antagonistic to *Sclerotinia sclerotiorum* and potential for biological control of white mold disease. Biological Control, 1, 293–301.
- Zamioudis, C., Korteland, J., Van Pelt, J.A., van Hamersveld, M., Dombrowski, N., Bai, Y., Hanson, J., Van Verk, M.C., Ling, H.Q., Schulze-Lefert, P. ve Pieterse, C.M., 2015. Rhizobacterial volatiles and photosynthesis-related signals coordinate MYB72 expression in Arabidopsis roots during onset of induced systemic resistance and iron-deficiency responses. Plant J., 84, 309–322.
- Zizzerini, A. ve Tosi, L., 1985. Observations on the antagonistic activity of some fungi and bacteria against *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary. Difesa delle Piante, 8(2), 163-168.
- Zhang, X., Liu, X., Wang, Q., Chen, X., Li, H., Wei, J. ve Xu, G., 2014. Diesel degradation potential of endophytic bacteria isolated from *Scirpus triqueter*. Int. Biodeterior. Biodegradation, 87, 99–105.
- Zhang, J.-X., Gu, Y.-B., Chi, F.-M., Ji, Z.-R., Wu, J.-Y., Dong, Q.-L. ve Zhou, Z.-S., 2015. *Bacillus amyloliquefaciens* GB1 can effectively control apple valsa canker. Biol. Control, 88, 1–7.
- Zhang, S., Zheng, Q., Xu, B. ve Liu, J., 2019. Identification of the fungal pathogens of postharvest disease on peach fruits and the control mechanisms of *Bacillus subtilis* JK-14. Toxins, 11(6), 322.
- Zheng, M., Shi, J., Shi, J., Wang, Q. ve Li, Y., 2013. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic *Bacillus* strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. Biol. Control, 65(2), 200-206.