

38787.

**TURUNÇGİLLERDE Phytophthora citrophthora (Smith ve Smith)
Leonian 'NIN POPULASYON DİNAMİĞİ, KÖK İNFEKSİYONLARI VE BİYOLOJİK
MÜCADELESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

NEVİN BAŞPINAR

**Ç. Ü.
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**ADANA
MART 1995**

Bu tez Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.

Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından Bitki Koruma Anabilim Dalında
DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.



Başkan : Prof. Dr. Ahmet ÇINAR



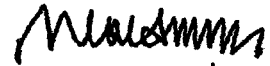
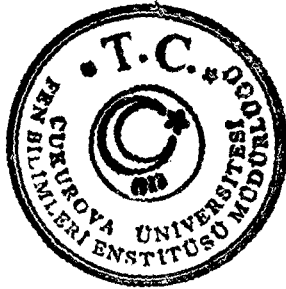
Üye : Prof. Dr. Haluk SORAN

Üye : Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ



Kod No : 293

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.



Prof. Dr. Ural DİNÇ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

ÇİZELGE LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	V
RESİM LİSTESİ	VII
ÖZ	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Etmenin İzolasyonu ve Patojenitesi İle İlgili Çalışmalar	5
2.2. Populasyon Dinamiği İle İlgili Çalışmalar	7
2.3. Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Yöntem	18
3.2.1. Etmenin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenitesi İle İlgili Çalışmalar	18
3.2.2. Populasyon Dinamiği	19
3.2.2.1. Örneklerin Alınıp Değerlendirilmesi	19
3.2.2.2. Birim Hacimdeki Propagül Sayısı İle Hastalık Çıkışı Arasındaki İlişkinin % Kök Enfeksiyonu Olarak Saptanması.....	20
3.2.3. Biyolojik Mücadele İle İlgili Çalışmalar	21
3.2.3.1. Toprakta ve Kök Yüzeyindeki Antagonistlerin Saptanması.....	21
3.2.3.2. Antagonistik İlişkilerin İncelenmesi	22
3.2.3.2.1. İkili Kültür Çalışmaları.....	22
3.2.3.2.2. Antibiyotik Üretimi	23
3.2.3.2.3. Sıvı Kültürde Bakterilerin Antagonistik Etkileri	24
3.2.3.3. Antagonistlerin Saksı Çalışmaları.....	24
3.2.3.4. Antagonistlerin Tanılamaları	26
3.2.4. Ortamların İçerikleri.....	29

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	33
4.1. Etmenin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenitesi İle İlgili Çalışmalar	33
4.2. <i>Phytophthora citrophthora</i> 'nın Populasyon Dinamiği	36
4.2.1. Örneklerin Alınıp Değerlendirilmesi	36
4.2.2. Birim Hacimdeki Propagül Sayısı İle Hastalık Çıkışı Arasındaki İlişkinin % Kök Enfeksiyonu Olarak Saptanması	48
4.3. Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar	55
4.3.1. Toprak ve Kök Yüzeyindeki Antagonistlerin Saptanması	55
4.3.2. Antagonistik İlişkilerin İncelenmesi	75
4.3.2.1. İkili Kültür Çalışmaları.....	75
4.3.2.2. Antibiyotik Üretimi	83
4.3.2.3. Sıvı Kültürde Bakterilerin Antagonistik Etkileri	86
4.3.3. Antagonistlerin Saksı Çalışmaları.....	87
4.3.4. Antagonistlerin Tanımlanmaları	95
5. SONUÇLAR.....	99
ÖZET	103
SUMMARY	105
KAYNAKLAR	107
TEŞEKKÜR.....	115
ÖZGEÇMİŞ	116

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge no	Sayfa no
1. <i>Phytophthora citrophthora</i> izolatlarının limon meyvelerindeki patojeniteleri	35
2. <i>Phytophthora citrophthora</i> ' nın limon bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmaları.....	38
3. <i>Phytophthora citrophthora</i> ' nın turunc kök yüzeyi üzerindeki populasyon dalgalanmaları.....	40
4. Adana ve Erdemli' ye ait bazı iklim verileri.....	43
5. Çalışmanın yürütüldüğü limon bahçelerinin toprak analiz sonuçları.....	45
6. Kaba limon çöğürlerine uygulanan kök inokulasyonları	49
7. Sonbahar ve ilkbahar dönemlerinde bahçe topraklarındaki <i>Phytophthora citrophthora</i> ' nın inokulum düzeylerine göre % kök infeksiyonları	52
8. Limon bahçe toprağı ile orman toprağından izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	57
9. Turunc ve ökaliptus kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	62
10. Limon bahçe toprağı ile orman toprağından izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	66
11. Turunc ve ökaliptus kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	67
12. Antagonist fungus izolatlarının <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı in vitroda ikili kültürde engellemesi (%).....	76
13. <i>Trichoderma</i> spp.' nin <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı in vitroda ikili kültürde engellemesi	77
14. Toprak ve kök izolasyonları sonucunda elde edilen antagonist bakterileri izolatlarının <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı ikili kültürde engellemeleri..	79

15. Rutin olmayan çıkışlardan izole edilen antagonist bakteri izolatlarının ikili kültürde <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engellemeleri	81
16. Antagonist fungus izolatlarının gliotoksin fermentasyon sıvı kültür sonucunda <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engellemeleri.....	83
17. Antagonist bakteri izolatlarının agar-halka yönteminde <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engellemeleri:.....	85
18. Rutin olmayan çıkışlardan izole edilen antagonist bakteri izolatlarının agar-halka yönteminde <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engellemeleri	85
19. Antagonist bakteri izolatlarının PD sıvı kültürde <i>Phytophthora citrophthora</i> ' nın gelişmesini engellemeleri.....	87
20. Antagonist bakteri izolatlarının saksı çalışmalarında <i>Phytophthora citrophthora</i> ' dan oluşan % kök infeksiyon oranları ve patojene karşı % koruyucu etkilerinin üçüncü ay değerlendirmesi	89
21. Antagonist bakteri izolatlarının saksı çalışmalarında U2 uygulamasında <i>Phytophthora citrophthora</i> ' dan oluşan % kök infeksiyon oranları ve patojene karşı % koruyucu etkilerinin altıncı ay değerlendirmesi	90
22. Antagonist bakteri izolatlarının saksı çalışmalarında <i>Phytophthora citrophthora</i> ' nın toprakta bulunma yoğunluğu (propagül/cm ³ toprak). 91	
23. Antagonist fungus izolatlarının saksı çalışmalarında <i>Phytophthora citrophthora</i> ' dan oluşan % kök infeksiyon oranları ve patojene karşı % koruyucu etkileri	94
24. Antagonist fungus izolatlarının saksı çalışmalarında <i>Phytophthora citrophthora</i> ' nın toprakta bulunma yoğunluğu (propagül/cm ³ toprak). 95	
25. Antagonist mikroorganizmalar	96
26. Antagonist bakterileri tanılama testleri	96

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil no	Sayfa no
1. <i>Phytophthora citrophthora</i> 'nın limon bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmaları.....	39
2. <i>Phytophthora citrophthora</i> 'nın turunç kök yüzeyi üzerindeki populasyon dalgalanmaları.....	41
3. Büyük Kapılı' daki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	58
4. Yakapınarı' ndaki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	59
5. Karabucak orman toprağından izole edilen antagonist fungusların populasyon dalgalanmaları	60
6. Büyük Kapılı' daki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları	63
7. Yakapınarı' ndaki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları	64
8. Karabucak orman ağaçlarının kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların populasyon dalgalanmaları	65

9. Büyük Kapılı' daki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	69
10. Yakapınarı' ndaki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları.....	70
11. Karabucak orman toprağından izole edilen antagonist bakterilerin populasyon dalgalanmaları.....	71
12. Büyük Kapılı' daki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları	72
13. Yakapınarı' ndaki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları	73
14. Karabucak orman ağaçlarının kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin populasyon dalgalanmaları	74

RESİMLİSTESİ

Resim no	Sayfa no
1. <i>Phytophthora citrophthora</i> 'nın gövdede oluşturduğu zamklanma	34
2. Patojenite tehti sonucunda limon meyvelerinde <i>Phytophthora citrophthora</i> tarafından oluşturulan kahverengi çürüklük	34
3. Kaba limon çöğürlerinde kök çürüklüğü.....	50
4. Kök çürüklüğü gösteren limon ağacının genel görünüşü.....	54
5. Antagonist T-4 (<i>Trichoderma hamatum</i>) izolatının <i>Phytophthora citrophthora</i> 'yı in vitroda ikili kültürde engelleme etkisi.....	76
6. Antagonist <i>Trichoderma</i> izolatlarının in vitroda ikili kültürde <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engelleme etkileri.....	78
7. Antagonist bakteri izolatlarının in vitroda ikili kültürde <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engellemeleri.....	82
8. Antagonist fungus izolatlarının gliotoksin fermentasyon sıvı kültür sonucunda <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engellemeleri.....	84
9. Antagonist bakteri izolatlarının agar-halka yönteminde <i>Phytophthora citrophthora</i> ' yı engellemeleri.....	86
10. Saksı çalışmalarının yürütüldüğü klima odasının genel görünüşü	92

ÖZ

Bu çalışmada, turunçgillerde gövde zamklanması, kök çürüklüğü ve meyve infeksiyonlarına neden olan *Phytophthora citrophthora* 'nın turunçgil bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmaları, kök infeksiyonları ve antagonistlerinin saptanması amaçlanmıştır.

Bahçe topraklarındaki etmen populasyonu, yağışın bol ve sıcaklığın patojen gelişmesi için uygun olduğu koşullarda ner zaman artış göstermiş, uygun olmayan koşullarda ise azalmıştır. Tüm bahçelerde Haziran ayında yükselen inokulum düzeyi, Temmuz-Ağustos aylarında azalmış, Eylül-Ekim aylarında yeniden artarken, Aralık ve Mayıs ayları arasındaki dönemde inokulumda düşüşler saptanmıştır.

Doğada etmen tarafından neden olunan kök infeksiyonlarını saptamak amacıyla yapılan çalışmalarda Nisan ve Mayıs aylarında saptanan % kök infeksiyonları Aralık ve Ocak aylarına göre daha yüksek olmuştur. Kontrollü koşullarda buna paralel yürütülen çalışmada ise bu oranlar doğadakine göre biraz daha yüksek gerçekleşmiştir.

Gerek in vitro ve gerekse saksı çalışmalarında antagonistik etki gösteren funguslar *Penicillium* sp., *Aspergillus niger* , *A. ochraceus* , *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma pseudokoningii* , *T. viride* , *T. hamatum* , *T. harzianum* olarak tanımlanmıştır. İzole edilen 12 antagonist bakteri izolatından ikisi *Pseudomonas* cinsine dahil edilmiştir. Ayrıca tüm bakteri izolatlarına bazı tanılama testleri uygulanarak biyokimyasal özellikleri saptanmıştır.

ABSTRACT

Investigations on root infections caused by *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian, and its population dynamics and biological control

Investigation of population changes, root infection, and antagonistic microorganisms of *Phytophthora citrophthora*, which causes gummy trunk, root rot, and brown rot of fruit, was aimed.

The population of pathogen in orchard soil has increased when appropriate temperature and precipitation occurred. Inoculum in soil has decreased with adverse effect of climatic factors. The inoculum has increased in June, but decreased in July and August, and although it increased partly in September and October, inoculum occurred in the lowest level between December and May.

It was determined % root infection occurred in higher level in April and May than did in December and January. Higher infection rates observed in laboratory when compared with field.

Penicillium sp., *Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma pseudokoningii*, *T. viride*, *T. hamatum*, and *T. harzianum* were determined both in vitro and pot trials. Two of bacteria isolates from 12 isolated antagonistic bacteria were included into *Pseudomonas* genus. In addition, all bacteria isolates were treated by some identification tests to determine some biochemical characteristics.

1. GİRİŞ

Türkiye' de toplam turunçgil üretimi 1991 yılında 1.695.500 ton olup, en fazla üretim 1.495.137 ton' la Akdeniz Bölgesi' nde gerçekleşmiştir. Bu, toplam turunçgil üretiminin % 88.18' ini oluşturmaktadır (ANONYMOUS, 1994).

Dünyada turunçgil üretiminin yapıldığı her ülkede gerek fungal, gerek bakteriyel ve gerekse mikoplazma ve virüs kökenli bir çok hastalık verim ve kaliteyi olumsuz etkilemektedir. Fungal kökenli hastalık etmenlerinden en önemlileri ise *Phytophthora* cinsine ait bazı türlerdir.

WATERHOUSE (1963)' a göre 43 *Phytophthora* türü fungus, insan beslenmesinde büyük öneme sahip tarla bitkilerinde, süs bitkileri ve orman ağaçlarında, subtropik ve tropik meyvelerde, yumuşak çekirdekli böğürtlen türü meyvelerde ve çok değerli tropik bitkilerde önemli zararlara neden olmaktadır.

Turunçgillerde ise *P. citrophthora* , *P. nicotiana* var. *parasitica*, *P. citricola*, *P. syringae*, *P. hibernalis*, *P. palmivora* etkili olmaktadır (KLOTZ, 1978). Bunlar içinde en önemli olanlar ise *P. citrophthora* ve *P. nicotiana* var. *parasitica*, türleridir.

Fawcett (1911), Florida ve Kaliforniya'da yaptığı surveyde turunçgillerde gövde zamklanmasına neden olarak *Phytiacystis* (*Phytophthora citrophthora*)'yı ilk kez rapor etmiştir.

Ülkemizde ise *P. citrophthora* türünün varlığı 1958 yılından bu yana bilinmektedir (KAREL, 1958). Ancak ÇINAR (1974), *P. citrophthora* 'nın turunçgil ağaçlarında gummosise neden olduğunu bildirirken, SALIH (1974 a, b) ise bölgede bu türün yanında *P. hibernalis* 'inde turunçgillerde etkili olduğunu bildirmiştir. GÜNCÜ (1983) ise, turunçgillerde gummosise neden olarak *P. citrophthora* 'yı tanımlamış, ancak diğer türlere ait bir bulgu ortaya koymamıştır. ÇINAR (1976), yaptığı surveyde İçel bölgesinde tüm turunçgil ağaçlarının % 24'ünün, Adana bölgesinde ise % 22.4'ünün *P. citrophthora* ile bulaşık olduğunu bildirmiştir

Hastalık etmeni fungus toprakta yaşar. Bulaşık toprak ve nemli topraklarda devamlı vardır (ROSEDALE, 1943; STOLTY, 1960). Kışın yağmurlar sonucu toprakta oluşan su içinde fungusun zoosporları oluşur. Zoosporlar yağmur damlalarının etkisi

ile çevreye sıçrayarak yayılma olanağı bulurlar. Bu husus özellikle kışın meyve infeksiyonlarında büyük öneme sahiptir. Kök ve kökboğazının inokulasyonu için ağacın bu kesimlerinin çeşitli etmenlerle ve toprak işleme aletleri ile yaralanması yeterlidir. Ancak limon gibi duyarlı bitkilerin gövdelerinde herhangi bir mekanik yara oluşmadan da infeksiyonlar görülmektedir. İnfeksiyonlar daha çok kışın ve bahara doğru zoosporlarla olur. Ülkemizde önem kazanan *P. citrophthora* 26-28°C de iyi gelişir, 4°C altında ve 36°C' nin üstünde aktivitesini yavaşlatır, optimum pH isteği ise 6'dır (GÖKSEDEF, 1980).

P. citrophthora 'nın turuncgil ağaçlarındaki zararı 3 farklı tipte görülmektedir.

Bunlar;

1. Meyvelerde (Kahverengi çürüklük)
2. Gövdede (Gummosis)
3. Köklerde (Kök ve kökboğazı çürüklüğü).

Meyve infeksiyonları sonucunda kendilerine has bir kokuya sahip olan hastalıklı meyvelerin kabukları deri şeklini alır ve renkleri kızıla çalan kahverengine dönüşür.

Hastalığın en çok görülen semptomu, genellikle duyarlı kalemelerin toprak yüzeyine yakın olan gövde kısmında hastalıklı kabuğun varlığı ve zamk akıntısıdır.

Etmen, sıcaklık ve topraktaki su durumunun uygun olduğu koşullarda kılcal kökleri de hastalandırır. Besin alan köklerin çürümesiyle ağaçların yeşil aksamı ve tacı zayıflar. Sonuçta meyve büyüklüğü azalır, verim düşer ve tüm ağaç kuruyabilir. Kök çürüklüğü semptomlarını fark etmek genellikle zor olmasına karşın, yaprak ve meyvelerin küçülmesi uyarıcı semptomlar olarak algılanmalıdır (MENGE, 1990). Kök infeksiyonları farkedilmediğinde veya gerekli önlemler alınmadığında, çok önemli boyutlarda zararlanmalar ortaya çıkabilmektedir. Fungusun 1 cm³ bahçe toprağında 10-15 propagül oranında bulunması halinde kök çürüklüğü nedeniyle % 20-40 oranında kayıplar oluşabilmektedir ki, bu durum bir bahçe için çok önemli bir sorundur (TIMMER ve GRAHAM, 1990).

Günümüzde *Phytophthora* kök çürüklüğüne karşı düzenli sulama aralıkları ile

uygun sulama, orta tekstürlü ve derin topraklara dikim, dayanıklı anaç kullanımı toprağın fiziksel yapısının iyileştirilmesi, sakızlanmış bölgelerin temizlenip % l'lik potasyum permanganat uygulanması ve bunların yanısıra sistemik fungusitlerle yeşil aksam püskürtmeleri ve ağaçların taç izdüşümündeki toprağa fungusitlerin verilmesi gibi önlemler alınabilmektedir (ANONYMOUS, 1984; SALERNO ve CUTULI, 1985). Son yıllarda metalaxyl ve fosetyl-al isimli iki sistemik etkili madde ile bu hastalığın kontrolünde başarılı sonuçlar alındığı rapor edilmektedir (FEICHTENBERGER, 1990; DAVINO ve Ark., 1990; TUSET ve PORTILLA, 1990; McKENZIE, 1988).

Bunlar gibi çok spesifik fungusitlere tam bağımlılık, bu gibi hastalıkların savaşımında istenilmeyen bir durumdur. Çünkü bu fungusitler ekonomik değildir, ayrıca yoğun kullanımları söz konusu olursa, bundan etkilenen *P. citrophthora* çok kısa bir zaman sürecinde dayanıklı ırklar oluşturabilir (SERRHINI ve Ark., 1985; NEEMA ve Ark., 1985; LUCAS ve Ark., 1990). Ayrıca bu olumsuzluklara doğal ekosistemi bozan ilaç kalıntı problemide eklendiğinde bu hastalığa karşı daha geniş bir perspektif içerisinde yaklaşım gösterilmeli ve diğer savaşım yöntemlerinden de yararlanılmalıdır. Patojen toprak kökenli olduğundan biyolojik mücadelenin öncelikle toprakta başlaması gerekmektedir. BAKER ve COOK (1974)' un da bildirdiği gibi, topraktaki mikrobiyal antagonizm bitkinin toprak üstü aksamındaki mikrobiyal antagonizmden daha başarılıdır. Patojen popülasyonu toprakta baskı altına alınabildiği takdirde, toprak üstü aksamını infekte edecek olan inokulum kaynağında da bir azalma olabilecektir. Çok sayıda antagonist bakteri, fungus ve aktinomiset' in *Phytophthora* spp.' ne karşı antagonistik etkileri bilinmektedir (MACIEJOWSKA ve WILLIAMS, 1961; BROADBENT ve BAKER, 1974 a,b; KNAUSS, 1976; MALAJCZUK ve Ark., 1977; MALAJCZUK, 1981; DEDE ve BİÇİCİ, 1987; DARVAS ve BEZIDUENHOUT, 1988; MENGE, 1990; TUSET ve Ark., 1990; GERRETSON-CORNEL, 1991). Ancak bunun için hastalıkla ilgili bir çok biyolojik ve ekolojik temel parametrelere gerek duyulmaktadır. *P. citrophthora* ' nın turuncgil bahçe topraklarında saptanacak olan popülasyon dalgalanmaları ile ilgili veriler, hastalığın savaşımında uygun zamanlama ile gerekli önlemleri almayı, bunun sonucunda da gerek kök, gövde ve gerekse meyve

infeksiyonlarına karşı daha başarılı bir mücadeleye olanak sağlayacaktır.

Bu nedenlerle, bu çalışma ele alınmış olup, *P. citrophthora* 'nın Çukurova' daki turuncgil bahçe topraklarında populasyon dalgalanmaları, henüz saptanmamış olan kök infeksiyonlarının durumu ve biyolojik mücadelesine ışık tutacak verileri saptamak amacıyla fungusun, topraktaki diğer mikroorganizmalarla ilişkileri incelenmiştir.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Etmenin İzolasyonu ve Patojenitesi ile İlgili Çalışmalar

Canlı ve aktif gelişen miselyum içeren yeni infektelenmiş taze bitki dokularından *Phytophthora* spp. ' nin izolasyonu oldukça kolaydır. Ancak *Phytophthora* ' nın eski, çürümüş veya kurumuş kök ve diğer bitki organlarından hastalığın ileri dönemlerinde izolasyonu veya özellikle düşük populasyon içeren doğal infekteli topraklardan izolasyonu oldukça zordur.

Değişik bitki kısımlarının (örneğin meyve, tohum, fide, kotiledon, yapraklar ve duyarlı konukçu bitkinin yaprak diskleri) tuzak olarak kullanılışı topraktan hedef *Phytophthora* ' nın selektif izolasyonunu sağlar.

KLOTZ ve De WOLFE (1958) limon ve portakal meyvelerini su ile doyurulmuş toprağın yüzeyine yerleştirdikten sonra 20° C' de 4 gün veya daha uzun süre inkübe ederek *P. syringae* ve *P. citrophthora* ' yı topraktan izole etmişlerdir.

TSAO (1960) 25 ml toprağa ilave ettiği 150 ml suya limon meyvelerini yarıya kadar daldırıp 25° C' de 6 gün inkübe ederek *P. citrophthora* ' yı izole etmiş ve etmenin turuncgil topraklarında sayısal değerlendirilmeleri için kullanılabileceğini bildirmiştir.

Temel ortam olan mısır unu agar ortamına pimaricin-penicillin-polymyxin (PPP) ilave edilmesi ile *P. citrophthora*, *P. parasitica* ve *Pythium* gibi toprak kökenli fungus türlerinin infekteli turuncgil köklerinden ve *P. cinnamomi* ' nin avakado köklerinden doğrudan izolasyonu için avantajlı seçici ortam elde edilmiştir (ECKERT ve TSAO, 1962).

P. parasitica ' nın patojenitesi üzerinde yapılan bir sera çalışmasında, zoospor süspansiyonu ile inoküle edilmiş tatlı portakal ve limon fidanlarının odunlaşmış köklerinde hiç infeksiyon görülmez iken, buna karşın dış kabuk boyunca yaralar açılarak yapılan inokulasyonlarda infeksiyonun olduğu bildirilmiştir. Kök bölgesine verilen inokulum yoğunluğu 0.5×10^4 - 8.0×10^4 zoospor/ml arasında olup, kullanılan inokulum miktarı ise 200-400 ml arasında değişmiştir. İnokulasyonda gövde kalınlığı 15' mm' yi geçmeyen fidanlar kullanılmış ve kök boğazına halka boru geçirilerek

parafinle sabitleştirildikten sonra bu borular içerisine inokulum süspansiyonu verilmiştir. Fungus henüz gelişmemiş, genç ve yaralanmamış köklerde de infeksiyon yapmıştır (WHITESIDE, 1971).

P. cinnamomi, *P. cryptogea* ve *P. drechsleri* izolatlarının patojenitelerini saptamak için 6-12 aylık Douglas-fir fidanları kullanılmıştır. Hazırlanan inokulum süspansiyonu bir karakterde fidanlar şaşırtılmadan önce toprağa karıştırılmış, diğer bir karakterde ise inokulum, bitkiler şaşırtıldıktan sonra bitki köklerinin hemen bitişiğindeki çukurlara dökülmüştür. Tüm fidanlar 3 ay süre ile sera koşullarında 16 saat aydınlanma ve 20-25° C sıcaklıkta tutulmuştur. Hastalık şiddeti aşağıda gösterilen skala ile ölçülmüştür.

0: % 0-10' luk kök çürümesi

1: % 10-40' lık " "

2: % 40-70' lik " "

3: % 70-100 " "

Bir veya daha yüksek hastalık şiddeti gösteren bitkilerden *Phytophthora* reizole edilmiştir (PRATT ve Ark., 1976).

Toprakta bulunan zoospor varlığını belirlemek için THOMSON ve ALLEN (1976)' nın yaptıkları çalışmada yaprak tuzak yöntemi ve P₁₀VP seçici ortamı kullanılmıştır. Buna göre 5 gram toprak 125 ml' lik erlenmayerlere konulmuştur. Üzerine 2 cm geçecek şekilde destile su konularak içerisine yaprak diskleri atılmış ve 25° C' de inkübe edilmiştir. Sonuçta zoosporların 36 saat içinde su üzerinde yüzen yaprak disklerini hızla penetre ettiğini saptamışlardır.

MASAGO ve Ark., (1977) BNPRA+HMI (Benomyl 10 mg/l; Nystatin 25 mg/l; PCNB 25 mg/l; Rifampisin 10 mg/l; Ampicilin 500 mg/l; Hymexazol 25 yada 50 mg/l dozunda) seçici ortamı ile topraktan ve bitki dokularından *Phytophthora* spp.' nin izolasyonunda başarılı olmuşlardır.

TSAO ve GUY (1977) temel ortam olan CMA' a (Mısır unu agar 17 g/l) pimarisin 10 mg/l, vancomycin 200 mg/l ve 100 mg/l PCNB içeren P₁₀VP ortamına 50 mg hymexazol ilave ederek *P. citrophthora*, *P. parasitica* ve *P. cinnamomi* ' yi

topraktan ve bitki dokularından başarılı bir şekilde izole etmiştir. P₁₀VP' ye ilave edilen 50 mg/ml hymexazol (3-hydroxy-5-methyl-isoxozde), birçok *Pythium* ve *Mortierella* spp.' ni inhibe etmiştir.

JEFFERS ve MARTIN (1986) Pythiceae familyası fungusların izolasyonu için standart seçici ortam olan P₁₀VP (Pimaricin 10 mg/l; Vancomycin 200 mg/l; PCNB 100 mg/l içeren mısır unu agar) ile bu ortamın bir modifikasyonu olan P₅ARP (Pimaricin 5 mg/l; Vancomycin yerine Ampicillin 250 mg/l; Rifampicin 10 mg/l; PCNB 100 mg/l) içeren seçici ortamını karşılaştırmışlardır. Ayrıca, *Phytophthora* türlerinin sayısal olarak saptanması çalışmalarında istenmeyen *Pythium* kolonilerinin engellenmesi için her iki ortama da 50 mg/ l hymexazol ilave etmişlerdir. Sonuçta P₅ARP seçici ortamı ile daha fazla sayıda *Phytophthora* kolonisi izole etmeyi başarmışlardır.

TIMMER ve Ark. (1988), KANWISHER ve MITCHELL (1978)' in PARP seçici ortamının içeriğinde kullanılan Ampicillin'i 250 mg/l yerine 125 mg/l olarak ve ortama 25 mg/l Hymexazol ilave ederek, bu ortamları *P. parasitica* ' nın populasyon dinamiğini saptama çalışmalarında başarıyla kullanmışlardır.

2.2. Populasyon Dinamiği İle İlgili Çalışmalar

Toprak örneklerinin alınmasında bahçe içerisindeki en uygun bölgenin yada toprak derinliğinin ne olması gerektiğini, ya da bir kere toplanan toprakların nasıl korunması ve araştırmalarda kullanılmak üzere nasıl hazırlanması gerektiği konusunda değişik çalışmalar yapılmıştır.

CHEE ve NEWHOOK (1965) örneklerin kurutulduktan sonra 28 saat süreyle % 20 nemde tutulması gerektiğini, IANNOV ve GROGANE (1977) ise işlemlere başlamadan önce toprak örneklerinin tarla kapasitesinde 7 gün süreyle inkübe edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. TSAO (1983) topraktaki inokulum düzeyini saptamak için, toprak örneğinin bir ön nemlendirmeye bırakılmasının yapay bir populasyon artışına neden olabileceği gerekçesiyle sakıncalı olduğunu belirterek, örneklerin ağacın taç izdüşümünde olacak şekilde, kuzey ve güney yönlerinden en az 3-5 cm derinlikteki kök bölgesinden toplanması gerektiğini ve örneklerin çok kısa bir süre için oda sıcaklığında korunabileceğini bildirmiştir.

KANWISHER ve MITCHEL (1978) *P. parasitica* var. *nicotianae* 'nın topraktaki inokulum yoğunluğunu saptamak için PARP seçici ortamını (Pimaricin 10 mg, Ampicillin 250 mg, Rifampisin 10 mg, PCNB 100 mg, Difcomısır unu 17 g, saf su 1000 ml) kullanmışlar ve etmenin izolasyonu için yöntem bildirmişlerdir. Bitkinin rizosfer toprağından alınıp harman haline getirilmiş topraktan 20 g örnek alınmış, % 0.25' lik su-agar ile 1:10 oranında seyreltilmiş ve 1 ml' lik kısımlar halinde içinde PARP seçici ortamı içeren petrilere ekim yapılmıştır. 25° C sıcaklık ve karanlıkta 48 saat inkübasyondan sonra toprak süspansiyonu agar yüzeyinden az akan çeşme suyu ile yıkanmış ve fungal koloniler sayılmıştır.

VON BROEMSEN (1979) yaptığı çalışmada ise infeksiyon şiddetinin populasyon düzeyine bağlı olmaksızın dalgalanma gösterebileceğini bildirmiştir. Toprak doygunluğu ve oksijen düzeyindeki azalma konukçuyu daha duyarlı hale getirebilmektedir. Böylece, hastalık potansiyeli patojen populasyonundan bağımsız olarak artabilmektedir. Bunun tersi ise, yani yüksek *Phytophthora* populasyonuna karşın, düşük hastalık potansiyelinin olduğu da saptanmıştır. Bu farklılık konukçu dayanıklılığının yüksek olması veya patojen ırkı ya da üreme şekli ile açıklanabilmektedir.

WESTE (1983) *Phytophthora* 'nın gerek miseliyal gelişmesi, çevreye uyumu üreme oranı, zoospor, oospor, klamidöspor üretimi ve yayılışında önem kazanan karakteristik özelliklerin ve gerekse sıcaklık, nem, ışık, toprak pH' sı ve diğer toprak özelliklerinin populasyon değişiminde birbiriyle sıkı ilişkili olarak etkileşimde bulunmakta olduğunu bildirmiştir. Bildirilen bu faktörler zaman zaman öne çıkarak, inokulumu baskı altına alabildiği gibi, çoğu zaman da patojen aktif olmuş ve artan populasyonuyla tüm faktörlere hakim olmayı başarmıştır.

TIMMER ve Ark. (1988) etmenin populasyon düzeyinin saptanmasında turunçgil bahçelerinden aldıkları toprak örneklerini seçici ortam içeren petri kutularına aynı gün ekmişler ve bunun yanısıra 1-12 günler arasında da ekim yaparak değişik depolama koşullarının (örnekler plastik kaplarda saklanmış ve nem bahçeden getirildiği düzeyde korunmuş, önce havada kurutulmuş sonra oda sıcaklığında hava ile

kurutulmuş, havanın bağıl nemine terkedilmiş, toprak su ile iyice doyurulmuş, topraklar oda sıcaklığında bekletilmiş ve örnekler önce kurutulup sonra nemlendirilmiş) etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak toprağın kurutulması propagül sayılarını çok alt düzeylere düşürmüştür ve toprak yeniden nemlendirilse bile propagül yoğunluğunda bir artış olmamıştır. Hava ile kurutma zoospor, misel ve diğer duyarlı yapıların yok olmasına neden olmuştur. Toprağın neme doyurulması propagül yoğunluğunu fazla etkilememiş, sadece bir denemede yoğunluğun aniden arttığı saptanmıştır ki, bu da zoospor üretiminin artmasından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Çalışmada, oda sıcaklığı ya da buna yakın sıcaklıkta toprağın 1-2 gün süreyle bekletilmesinin en uygun koşul olduğu bildirilmiştir.

Florida' daki turuncgil bahçelerinde *P. parasitica* ' nın populasyon dalgalanmalarını saptamak amacıyla en uygun örnekleme zamanının, sıcaklık ve nemin propagül yoğunluğuna etkileri belirlenmiş ve *P. parasitica* ' nın bahçe içerisindeki dağılışı hakkında da bulgular ortaya konulmuştur. Mevsimsel değişimler, toprak sıcaklığı ve toprak nemi gibi faktörler örneklemelerde elde edilen propagül yoğunluğuna etki etmemiş, ancak populasyon düzeyinde yıllar arasında farklılık görülmüştür. Ayrıca propagüllerin bahçe içindeki dağılımının çok değişkenlik göstermiş olduğu ve belirli bölgelerde kümелendiği bildirilmiştir. Bu çalışmada patojen populasyonu bahçe içinde damlama sulama borularının geçtiği bölgede ve 23 cm' lik toprak derinliğinde en yüksek düzeyde olmuştur (TIMMER ve Ark., 1989).

Diğer bir çalışmada alttan yağmurlama, üstten yağmurlama, karık ve damlama sulama olmak üzere 4 farklı sulama sisteminin *P. citrophthora* ' nın Kütiken limon ağaçlarında infeksiyon oluşumu ve topraktaki hastalık potansiyeli üzerine etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar *P. citrophthora* ' nın en fazla alttan yağmurlama sisteminde infeksiyona neden olduğunu göstermiştir. Bunu sırasıyla karık, üstten yağmurlama izlemiş ve en az infeksiyon damla sulama sisteminde ortaya çıkmıştır. Yine *P. citrophthora* ' nın topraktaki hastalık potansiyeli en fazla alttan yağmurlamadan elde edilmiş, bunu üstten yağmurlama, karık ve damla sulama sistemleri izlemiştir. *P. citrophthora* ' ya karşı kullanılabilecek en uygun sulama sisteminin damla ve karık sulama sistemleri olduğu görülmüştür (ERKILIÇ ve Ark., 1993).

Diğer benzer bir çalışmada, sulama sistemlerinin farklılığı, ayrıca kök sisteminin gelişmesini etkilemiş, buna bağlı olarak da kök infeksiyonları etkilenmiştir. Nitekim karık usulü sulamada kılcal kökler daha fazla oluşmakta, bu da kök infeksiyonları için patojeni teşvik etmektedir. Damla sulamada ise besleyici köklerin aşırı gelişmesi engellendiğinden kök infeksiyonları azaltılmaktadır (FELD ve Ark., 1990).

P. citrophthora 'nın popülasyon dinamiğine sulama zamanının etkisi Doğu Sicilya' da 3 bahçede incelenmiştir. Sulamadan 24 saat sonra inokulum düzeylerinde önemli artışlar ortaya çıkmıştır. Yaz boyunca bir bahçede *P. citrophthora* popülasyonu taç izdüşümündeki 0.1 g toprakta 15 propagülden daha çok olmuştur ki, bu değerler kök infeksiyonu için eşik olarak kabul edilmiştir (MAGNANO ve Ark., 1990).

TIMMER ve GRAHAM (1990) birçok çalışma sonucuna dayanarak, bahçelerde cm^3 topraktaki 5 propagül için düşük, 5-15 propagül için orta ve 15 propagülden fazla ise yüksek popülasyon kabul edilebileceğini, fungusit uygulamalarına temel oluşturmak için yapılan çalışmalarda cm^3 ' de 10-15 propagül bulunması halinde kök çürüklüğündeki artışın % 20-40 oranında olduğunu bildirmişlerdir.

1984-1987 yıllarında Sicilya' daki 3 farklı bölgede topraktaki *Phytophthora* popülasyonunu saptamak için BNPRAH selektif ortamı ve toprak seyreltme plaka metodu kullanılmıştır. Topraktan elde edilen izolatlar morfolojik ve kültürel özelliklerine göre PAGE ile tanımlanmıştır. Topraktan sadece *P. citrophthora* izole edilmiştir. Bu çalışmada *P. citrophthora* popülasyonu havanın serinlemeye başladığı dönemlerde artış göstermiş ve buna karşın geç sonbahar ile yaz ortası arasındaki dönemde her zaman düşüş göstermiş olup mevsimsel değişmelerin toprak sıcaklığına ve nemine bağlı olduğu belirlenmiştir. Kahverengi meyve çürüklük epidemileri, popülasyon yoğunluğunun 20 propagül/g toprak düzeyinden daha yüksek olduğu durumlarda ortaya çıkmıştır (MAGNANO ve Ark., 1988).

Topraktaki *P. parasitica* popülasyonundaki değişiklikleri izlemek ve sulamalar arasındaki kısa ve uzun süreli aralıklara sahip sulama dönemi boyunca bu

dalgalanmalara katkıda bulunan propagül tiplerini saptamak amacıyla yapılan çalışmada turunçgil ağaçları karık ve damlama sulama ile sulanmış ve rizosferden *P. parasitica* popülasyonu, sulamadan sonra 12 günlük bir periyod boyunca, selektif bir ortamla, toprak seyreltme yöntemi ile izlenmiştir. *P. parasitica*'nın popülasyon sayısı sulamadan önceki gün 17 propagülden, uzun süreli karık sulamadan iki gün sonra 70 propagüle yükselmiştir. Popülasyonlar, kısa süreli damlama sulama ile ise 71 propagülden 93 propagüle kadar yükselmiştir. *P. parasitica*'nın siyah ve çok papilli sporangiumu ve dayanıklı oosporları yıl boyunca, klamidosporlar ise Aralık ayından Nisan ayına kadar gözlenmiştir (LUTZ ve MENGE, 1991).

Topraktaki besin elementleri düzeylerinin, toprak tuzluluğunun ve pH'ının *Phytophthora* türleri tarafından oluşturulan hastalık şiddeti üzerinde etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar da yapılmıştır. ANDERSEN (1951) yüksek tuzluluğun *P. cinnamomi*'yi olumsuz etkilediğini bulmuştur. BINGHAM ve Ark. (1958) laboratuvarında yaptıkları denemelerde yüksek orandaki besin elementleri ile yüksek tuzluluk derecesinin *Phytophthora* üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Sonuçta avakado fidanlarının *P. cinnamomi* ile bulaştırılmasından sonra yüksek oranda N, P, K ve tuzluluk içeren solusyonlarda tutulduklarında hastalık şiddetinin azaldığı belirlenmiştir. Burada tuzluluk oranının yüksek olmasının hastalığın azalmasında etkili olduğu sanılmaktadır. APPLE (1961) ve Mc CARTER (1965) tarafından yapılan denemelerde ise, araştırmacılar yüksek tuzluluğun *P. parasitica* var. *nicotianae*'nin neden olduğu tütün çiçek sapı çürüklüğünü arttırdığını saptamışlardır.

Turunçgillerde kök çürüklüğünün gelişmesine tuzun etkisinin incelendiği bir çalışmada, kök çürüklüğünün topraktaki tuzluluk oranı artışına bağlı olarak arttığı ortaya konulmuştur. Troyer fidanları 1 hafta süreyle tuzlu toprakta yetiştirilerek *P. parasitica* ile bulaştırıldığında köklerin % 30'u infektelenmiş ve çürümüştür. Oysa ki tuzlu olmayan toprakta aynı şekilde etkilenmeye bırakıldığında köklerdeki çürüme % 10 olmuştur. Toplam kök gelişimi ve yeni kök oluşumu Troyer fidanlarının tuzlu toprakta yetiştirilmeleri halinde oldukça azalmıştır. Sonuçlar göstermektedir ki, kök gelişiminin azalması tuzlu koşullarda görülen yüksek hastalık oranının oluşmasında etkin olmuştur (BLAKER ve Ark., 1986).

Yüksek toprak tuzluluğu ve sulama suyundaki tuzun fazlalığı turunçgil anacı olarak kullanılan kaba limon, turunç, troyer citrange üzerinde *P. citrophthora* ' dan kaynaklanan gövde çürüklüğünü artırmıştır. In vitro' da yüksek tuzluluk patojen gelişimini hızlandırmamış olmasına karşın tuzlu koşullardaki hastalık artışı doğrudan doğruya tuzun patojene olan olumsuz etkisinden değil, fakat konukçunun dayanıklılığını azaltması nedeniyle olduğu bildirilmiştir (SULISTYOWATI ve Ark., 1992).

Toprak pH' sının kök çürüklüğü üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada avakado fidanları birkaç hafta süreyle pH 3' den 8' e kadar değişen H iyonu konsantrasyonuna ayarlı nitrat veya amonyum formundaki azot içeren sıvı kültürler içerisinde birkaç hafta süreyle beslenmiştir. Bu kültürler içerisine *P. cinnamomi* ilave edilmiş ve bunun sonucunda oluşan kök çürüklüğü gözlenmiştir. Kök çürüklüğü pH 3' den 8' e kadar değişen tüm kültürlerde ortaya çıkmıştır. PH ' sı 3 olan çözeltide ise hastalık gelişimi saptanmamıştır. Kültürlerin pH' sı 3.5' dan daha düşük bir düzeye düşürülmesine tepki olarak, hastalıklı konukçu bitki köklerinin oranında dikkate değer bir azalma olmuştur. Konukçulara verilen N tipinin hastalık gelişmesinde bir etkisinin olmadığı ortaya çıkarılmıştır (BINGHAM ve Ark., 1954).

Genel olarak pH yükseldikçe *Phytophthora* spp.' den kaynaklanan enfeksiyon şiddetinde bir artış ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle toprağa sülfür karıştırılarak pH düşürüldüğünde hastalığın kontrolü sağlanabilmektedir. PH' nın 4.5-4.8' in altına düşürülmesi ile *P. infestans* ' ın neden olduğu patates mildiyösu, *P. parasitica* var. *nicotianae* ' nın neden olduğu tütün siyah sap çürüklüğü hastalığı engellenmiştir. Ancak pH' daki bu düşüş tütünün yaprak kalitesini olumsuz yönde etkilediğinden bu uygulama önerilmemektedir. Yine pH' nın 3' e düşürülmesi avakadolarda zarar yapan *P. cinnamomi* ' nin kontrolünü sağlarken diğer taraftan avakadonun gelişmesini olumsuz yönde etkilemiştir (ELFAHL ve CALVERT, 1976).

Avakado fidanlarında kök çürüklüğüne neden olan *Phytophthora* ile konukçu beslenmesi arasındaki ilişkinin saptanması amacıyla yapılan çalışmada N, P, K' nin değişik oranlarda, diğer besin elementlerinin üniform olarak verildiği besin

kültürlerinde avakado fidanları geliştirilmiştir. Tüm tekerrürlerde *P. cinnamomi* enfeksiyonu oluşmuş, ancak yüksek konsantrasyonda N ve K kullanılan yerlerde enfeksiyon gecikmiştir. Bu gecikme etkisinin N ve K' dan çok, daha ziyade genel tuz konsantrasyonundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Topraktaki katyonların yüzdelerindeki değişimler, avakado köklerindeki *Phytophthora* ' nın gelişmesine herhangi bir etkiye bulunmamıştır (BINGHAM ve Ark., 1958).

Phytophthora hastalığına Ca' un doğrudan etkisi olduğuna dair bazı sonuçlar vardır. CaCl₂ olarak, Ca' un ortama küçük bir ilavesi yapıldığında *P. capsici* ' nin neden olduğu biber yanıklığı sonucu ölen bitki sayısında artışlar olduğu kaydedilmiştir. Tütün sap çürüklüğü hastalığı ile ilgili olarak topraktaki hastalık etmeni üzerinde yapılan araştırmalarda ise Ca ve Mg' un hastalığın artmasına neden olduğu saptanmıştır (WILLS ve MOORE, 1969; MUCHOVEJ ve Ark., 1980).

ÇINAR ve TUZCU (1976) *P. citrophthora* ' ya karşı turuncgil anaçlarının dayanıklılığı konusunda yaptıkları bir çalışmaya göre, çeşitleri dayanıklıdan duyarlıya göre; Citrumela CRC 1452, Native sour orange, Trifoliata, Macrophylla, Yuzu, Brazilian sour orange, Rangpur lime, Taiwanica, Duncan grapefruit, Florida rough lemon, Volkamariana, Native sweet orange, Savage citrange olarak sıralamışlardır.

P. nicotiana var. *parasitica* ' nın kladosporeleriyle bulaşık toprakta, kök çürüklüğüne karşı anaçların dayanıklılığının araştırıldığı bir çalışmada turunç, Ridge Pineapple, Sweet Orange, Cleopatra mandarin, Carrizo sitrange anaçları duyarlı olurken, Trifoliata orange ve Swingle citrumela dayanıklı olmuştur. Dayanıklı olan anaçların *P. nicotiana* var. *parasitica* ' nın bulunduğu koşullarda köklerini yenilediği gözlenmiştir (GRAHAM, 1990).

TIMMER ve GRAHAM (1990)' nın bildirdiğine göre Swingle citrumela ve Trifoliata *Phytophthora* ' ya karşı dayanıklı olup, tatlı portakal ise duyarlıdır. Ayrıca turunç, Kaba limon, Kleopatra mandarini ve Carizo citrange kabuk zararlanmalarına dayanıklı olduğu halde kök çürüklüğüne oldukça duyarlıdır.

P. citrophthora ve *P. parasitica* tarafından neden olunan kök çürüklüklerine karşı turunç, kaba limon ve volkamer limon anaçlarının duyarlılıklarında mevsimsel değişikliklerin incelendiği çalışmada kökler yaralanarak yapay inokulasyon yapılmıştır. Köklere gerek *P. citrophthora* ve gerekse *P. parasitica* inokulumu verildiğinde, Ocak-Şubat ayları arasında, Temmuz-Aralık ayları arasındaki döneme göre daha çabuk lezyonlar oluşmuştur. Yıllık olarak ortalamalar hesaplandığında turunç köklerindeki lezyonların büyüklüğü diğer iki anaca göre daha fazla olmuştur. Bunun tersi olarak, her üç anaca aşılı lizbon limonunun sürgün lezyonları arasında bir farklılık saptanmamıştır (MATHERON ve MATEJKA, 1993).

2.3. Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar

Toprak patojenlerinin genel olarak baskı altına alınması esas olarak biyolojik faktörlere dayanmaktadır ki, bunlar bakteri, aktinomisetes ve funguslardır.

Antagonist bakteriler:

BROADBENT ve BAKER (1974 a, b), MALAJCZUK ve Ark. (1977) *Phytophthora* zoosporlarının toprak bakterileri tarafından etkilendiğini ortaya koymuşlardır.

MALAJCZUK (1981) yaptığı in vitro çalışmalarda lysis olmuş *Phytophthora* hiflerinden izole edilen *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Streptomyces* türlerinin *Phytophthora* spp. ' ne karşı antagonistik etki gösterdiğini bildirmiştir.

DARVAS ve Ark. (1988) avakado' ların kök bölgesinde doğal olarak bulunan farklı *Bacillus* türlerinin in vitro da *P. cinnamomi* ' ye karşı antagonistik etki gösterdiğini ve değişik antagonist bakterilerin hücre süspansiyonlarının gövdeye enjeksiyonu yoluyla biyolojik kontrol uygulamalarının mümkün olduğunu bildirmişlerdir.

Kaliforniya' da turunçgil kök çürüklüğüne neden olan *P. citrophthora* üzerinde yapılan araştırmalarda hem toprak hem de petri kaplarındaki *Phytophthora* hifleriyle yakın ilişki halinde olan *Pseudomonas putida* adlı bakteri keşfedilmiştir. Bu bakteri seradaki fidanlarda kök çürüklüğü hastalığının kontrolünü sağlamıştır. *P. putida* ' nın turunçgillerdeki *Phytophthora* hifleri üzerinde büyüme yeteneği en önemli özelliğidir. Bu şekilde hif üzerindeki gelişme turunçgil kök çürüklüğü hastalığının

kontrolünde biyolojik kontrol ajanı olarak bu bakteriye çok önemli bir potansiyel kazandırmıştır (MENGE, 1990).

AKTEKE (1993) ise *P. citrophthora* ' ya karşı in vitro' da etkili bulunduğu antagonistlerin saksı çalışmalarında *Bacillus* spp.' nin patojene karşı koruyucu etkilerini meyve infeksiyonları ve gövde zamklanmasında % 50 olarak saptamıştır.

Antagonist Aktinomisetler:

KNAUSS (1976) tarafından yapılan bir çalışmada Florida topraklarından antagonist etki gösteren *Streptomyces* spp. Herr' s triple-agar-layer tekniği ile izole edilerek *Pythium* ve *Phytophthora* spp.' ne karşı antagonistik etkileri araştırılmıştır. *S. venezuelae* ' nin iki kültürü ve *S. lavendula* ' nın 1 kültürü *Pythium splendens* ' e, *Phytophthora palmivora* ve *P. parasitica* ' ya karşı yüksek düzeyde antagonistik etki göstermiştir.

GERRETSON-CORNEL (1991) in vitroda *P. cinnamomi* ' yi engelleyen rizosferden elde edilen aktinomisetlerin etkinliğini araştırmıştır. Bu çalışmada 9 *Streptomyces* türü, çok kuvvetli antagonistik etki göstermiş olup, 5-15 mm arasında inhibisyon zonu oluşturmuştur.

AKTEKE (1993) ise Aktinomisetlerin *P. citrophthora* ' nın neden olduğu meyve infeksiyonlarına karşı % 58.3-83.4, gövde zamklanmasına karşı % 50.1 koruyucu etki gösterdiğini bildirmiştir.

Antagonist Funguslar:

MACIEJOWSKA ve WILLIAMS (1961) antagonist funguslar üzerinde yaptıkları çalışmada *Phytophthora* spp.' ne karşı antagonistik etki gösteren funguslar olarak *Trichoderma* spp.' ne büyük şans tanırken bunu *Aspergillus*, *Memnoniella*, *Penicillium*, *Spicaria*, *Scopulaniopsis* ve *Thielavia* ' nın izlediğini bildirmişlerdir. Bu fungusların tümünün ya kök yüzeyi üzerinde büyüyen saprofitik floradan elde edilen izolatlar ya da bitki rizosferine yerleşik mikroorganizmalar olduğu bildirilmiştir.

TSAO (1977)' nin turunçgillerde kök çürüklüğüne neden olan fungusların biyolojik kontrolü üzerinde yaptığı çalışmada, içinde *P. citrophthora* ve *P. parasitica* 'nın da yer aldığı birçok *Phytophthora* türünün gelişmeleri toprak bakterileri, aktinomisetler ve funguslar tarafından engellenmiştir. Tavuk gübresi, yonca unu içeren ve değişik organik maddelerin ilave edildiği karışım, *P. parasitica* ile bulaşık toprağa verildiğinde, sporangiumların zoospor fırlatma yetenekleri ve toprakta patojen inokulum potansiyeli azalmıştır. Ayrıca 17 ppm veya daha yüksek konsantrasyonda amonium solusyonu içinde *P. cinnamomi* 'nin sporangium ve zoosporlarının *P. parasitica* 'nin klamidospore ve zoosporlarının gelişmesinin büyük ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Ancak bu çalışmada bitki artıkları ile toprağın iyileştirilmesi *Phytophthora* hastalıklarının kontrolünde başarılı olmasına karşın sonuçlar deneysel olup, saksı çalışmalarından öteye gitmemiştir.

P. citrophthora 'ya karşı *Trichoderma* spp. ile yapılan antagonistik etki çalışmalarında gerek in vitro' da ve gerekse in vivo denemelerde *T. viride* , *T. hamatum* , *T. harzianum* ve *T. pseudokoningii* yüksek düzeyde antagonistik etki göstermiş ve ağaçlarda zamlanma simptomlarının gelişmesini azaltmıştır (DEDE ve BİÇİCİ, 1987).

GEES ve COFFEY (1989) *P. cinnamomi* 'nin biyolojik mücadelesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, her bahçede seçilen 3 ağacın her birinin kök bölgesi civarından 4 yönünden kök parçalarını da içerecek şekilde toprak örnekleri almışlardır. Bir ağacın 4 yönünden alınan topraktan yapılan karışımdan rastgele 1 gram kök ayrılmış ve 99 ml steril destile suya bırakılarak 10 dakika çalkalayıcıda çalkalanmış ve bu sudan seyreltme serileri hazırlanmıştır. Bunlardan alınan 1 ml örnek King-B ortamı içeren petrilere konulmuş, daha sonra gelişen bakteri kolonileri yeast-dekstrozu agar ortamına aktarılmıştır. Yine 1 ml örnek bu kez funguslar için Martin ortamına ekilmiştir. İkili kültür çalışmalarından geçen ve antagonistik etki gösterenlerle daha sonrada saksı denemelerine geçilip % kök enfeksiyonu olarak sonuçlar verilmiştir. Sökülen kökler yıkanıp 1 cm' lik kesitler halinde kesilmiş ve rastgele 20 parça CMA+PARPH üzerine ekilmiş, 24° C' de 36-48 saat inkübasyondan sonra % kök enfeksiyonu saptanmıştır. In

vitro çalışmalarda 2 *Trichoderma* türü, *T. hamatum* ve *Myrothecium roridum* fungusları *P. cinnamomi* 'ye karşı antagonistik etki göstermiş, buna karşın bakteriler herhangi bir antagonistik etki göstermemiştir. Bu antagonist funguslarla yapılan saksı çalışmalarında kök infeksiyonu kontrolde % 77.9 olarak gerçekleşirken, bu oran *Trichoderma* türlerinde % 50-60' a, *M. roridum* uygulamasında ise % 4.7' ye kadar düşmüştür.

Ispanya' da turunçgillerde kök çürüklüğü ve gövde zamklanma etmeni olan *P. nicotiana* var. *parasitica* 'nın biyolojik mücadelesi ile ilgili bir çalışmada toprak kökenli bir fungus olan *Myrothecium roridum* ' un kuvvetli bir antagonistik etki gösterdiği saptanmıştır. *M. roridum* selülotik aktiviteye sahip kozmopolit bir toprak hypomycetes' i olup, *Phytophthora* ' lara karşı çok etkin bir toksin üretmektedir. In vitroda kültür filtratları ile yapılan çalışmada *M. roridum* , *P. nicotiana* var. *parasitica* 'nın miseliyal gelişmesine % 77 oranında engellemiştir. Washington Navel portakallarının ve Klemantin mandarinlerinin gövdelerine *M. roridum* ' un miseliyal agar diskleriyle yapılan inokulasyondan 7-10 gün sonra *Phytophthora* tarafından oluşturulan lezyonların tamamen durduğu ve herhangi bir aktivitenin olmadığı saptanmıştır. Ayrıca doğada farklı turunçgil türlerine yapılan kök inokulasyonlarından 21 gün sonra yine *P. nicotiana* var. *parasitica* 'nın neden olduğu kök çürüklüğü % 26.2-32.6 oranında azalırken kontrolde bir azalma olmamıştır (TUSET ve Ark., 1990).

P. citrophthora 'nın antagonistleri üzerinde AKTEKE (1993) tarafından yapılan çalışmada da in vitroda etkili bulunan *Trichoderma* spp. saksı çalışmalarında meyve infeksiyonlarına karşı % 50.0-58.3, gövde zamklanmasına karşı % 33.33 koruyucu etki sağlamıştır.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Simptom gösteren ağaç gövde ve meyveleri ile köklerden izole edilen etmen izolatları, alınan toprak ve kök örnekleri, bu örneklerden izole edilen antagonist mikroorganizma izolatları, limon meyveleri ve fidanları, laboratuvar araç gereçleri ve mikroorganizmaların gelişmeleri için kullanılan besi yerleri, çalışmanın materyallerini oluşturmaktadır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Etmenin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenitesi ile İlgili Çalışmalar

Etmenin izolasyonu, symptom gösteren ağaçların bulunduğu bahçelerden alınan toprak, kök ve bitki doku örneklerinden bilinen mikolojik yöntemlerle yapılmıştır. İzolasyonlarda PCNB eklenmiş PDA, P₁₀VP+HMI ve PARP+HMI seçici ortamları kullanılmıştır. Toprak izolasyonlarında toprak sulandırma yöntemi kullanılmıştır.

Etmenin tanısı WATERHOUSE (1963), WATERHOUSE ve WATERSONE (1964)' a göre yapılmıştır. Tanılama için *P. citrophthora* PDA ve PARPH ortamında geliştirilmiştir. Karakteristik belirgin radyal gelişimi ve koloni rengi gibi morfolojik özellikleri makroskobik olarak incelenmiştir. Bölmesiz ve kaba hif yapısı, sporangioforların düzensiz dallanması, sporangiumların sık sık hif ortasında ve limon şeklinde oluşu ve papillanın varlığı, hareketli zoosporları, oospor oluşturmaması gibi özellikleri agar ve su kültürlerinden alınan preparatlarla mikroskopta incelenmiştir (WATERHOUSE, 1963; WATERHOUSE ve WATERSONE, 1964). Ayrıca limon meyveleriyle patojenite çalışmaları yapılmıştır.

İnokulum süspansiyonu SCHIFFMANN- NADEL ve COHEN (1968)' e göre hazırlanmıştır. Etmen izole edilip saflaştırıldıktan sonra karanlıkta 9 gün 25-26°C de geliştirilmiş ve her petri kültüre 10 ml çeşme suyu konup 22-24°C de 5 gün ışıktaki tutulmuştur. Işıklı periyotta bol miktarda sporangium oluşturduktan sonra kültürler 15 °C 'de 4 saat soğuk şokuna bırakılıp bol miktarda zoospor çıkışı sağlanmıştır.

Meyvelerin kaba kiri ılık suyla temizlendikten sonra % 70' lik alkolle yüzey sterilizasyon yapılmıştır. Daha sonra meyveler yatık pozisyonda 2 ml zoospor süspansiyonu içeren saat camlarına konularak 25-26°C' de 5 gün geliştirildikten sonra, kahverengi hasta alanlar cetvelle ölçülerek değerlendirilmiştir. Virülenslik yönünden bir sıralama yapılarak, en yüksek virülenslik gösteren izolat diğer çalışmalarda kullanılmıştır.

3.2.2. Populasyon Dinamiği

3.2.2.1. Örneklerin Alınıp Değerlendirilmesi

P. citrophthora ' nın bahçe topraklarındaki populasyon dinamiğinin saptanması için 3 bulaşık (Büyük Kapılı, Davultepe, Tömük) ve 3 sağlıklı limon bahçesi (Şihmurat, Yakapınarı ve Kale) seçilmiş ve her bahçeden 3' er ağaç işaretlenmiştir. Her ağaçtan alınan toprak ve kök örnekleri ayrı değerlendirilmiştir.

Her ağacın taç izdüşümüne giren toprak rizosfer bölgesinden 15 cm derinlikten 6 noktadan toprak ve kök örneği alınmıştır. Topraktaki populasyon yoğunluğunun belirlenmesi TIMMER ve Ark. (1988)' nın yöntemine göre yapılmış ve PARP+HMI seçici ortamı kullanılmıştır. Buna göre bir ağacın altından 6 noktadan 15 cm derinlikten alınan toprak harman yapıp 3 mm' lik elekten geçirilerek 10 cm³ toprak, 90 ml % 0.25' lik su agar içerisinde seyreltilmiştir. Çalkalayıcıda 10 dakika çalkalandıktan sonra her petriye 1 ml gelecek şekilde PARP+HMI ortamı yüzeyine yayılmıştır. Daha sonra petrilere 25° C sıcaklıkta 48 saat karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkubasyondan sonra toprak süspansiyonu ortam yüzeyinden az akan çeşme suyu ile yıkanarak uzaklaştırılmış ve 25 ° C' de 3 gün inkübe edilerek gelişen *P. citrophthora* kolonileri sayılmıştır. Ancak bu yöntemle göre *P. citrophthora* kolonileri çok az sayıda izole edilebilmiştir. Bu nedenle kullanılan su-agar %1' lik hazırlanmış ve petrilere verilen 1 ml örnek ortam yüzeyine damlalar halinde verilerek yöntem modifiye edilmiştir. Bu modifikasyon yöntemle daha iyi bir işlevlik kazandırdığı için çalışma bu şekilde sürdürülmüştür. Alınan toprak örnekleri laboratuvara getirildikten sonra 1-2 gün içinde değerlendirilmiş ve örnekler bu süre içerisinde oda sıcaklığında tutulmuştur.

Kök örneklerinin değerlendirilmesi GEES ve COFFEY (1989)' un yöntemine göre yapılmıştır. Ağacın taç izdüşümünden 6 noktadan alınıp harmanlanan kök parçaları çeşme suyunda yıkanıp temizlenmiştir. Bu kök yığınınından rastgele 1 g kök ayrılmış 99 ml steril destile su içerisine konulmuştur. Çalkalayıcıda 10 dakika süre ile çalkalandıktan sonra süspansiyondan 1 ml alınıp PARP+HMI seçici ortamına yayılmıştır. 5 gün 25° C' de inkübe edilen petrilerde koloni sayımları yapılmıştır.

3.2.2.2. Birim Hacimdeki Propagül Sayısı İle Hastalık Çıkışı Arasındaki İlişkinin % Kök Enfeksiyonu Olarak Saptanması

Kök izolasyonlarında PRATT ve Ark. (1976) ve toprak izolasyonlarında TIMMER ve ark. (1988)' dan yararlanılmıştır. Bunun için iki farklı deneme kurulmuştur:

a) Toprak, kum, torf (1:1:1) oranında karıştırılmış ve sterilizasyondan sonra toprak 2 kg gelecek şekilde 15 cm çaplı ve 20 cm yüksekliğindeki plastik tüplere doldurulmuştur. Daha sonra 3-4 aylık kaba limon çöğürlerine aşağıda belirtilen uygulamalar yapılarak plastik tüplere şaşırtılmıştır. Yapılan uygulamalar;

-Çöğürler 40.000 zoospor/ml yoğunluğundaki inokulum süspansiyonuna ayrı gruplar olarak 8 ve 18 saat sürelerle daldırılarak bekletilmiş ve daha sonra şaşırtılmıştır (8 SKD, 18 SKD).

-Çöğürler yine 8 ve 18 saat aynı yoğunluktaki süspansiyona daldırılarak bekletilmiş ve şaşırtıldıktan hemen sonra kök bölgesine 50 ml inokulum verilmiştir (8 SKD+İ, 18SKD+İ).

-Çöğürler şaşırtıldıktan hemen sonra kök bölgesine 50 ml inokulum verilmiştir (İ).

-Kontrol bitkilere ise bu uygulamalar sadece su ile yapılmıştır (K).

Çalışma 5 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Bitkiler klima odasında; 25±1° C ve %85±5 nem, 16 saat 11.000 lüks ışık 8 saat karanlık koşullarda 3 ay süre ile bekletilmiştir. Daha sonra bitkiler sökülüp kök

sistemlerini topraktan arındırmak için yıkanmıştır. Besleyici kökler 1 cm' lik parçalar halinde kesilmiş ve rastgele 20 parça seçilerek seçici ortama (PARP+HMI) ekimi yapılmıştır. Sıcaklığın 25° C olduğu koşullarda 5 gün inkübe edildikten sonra kök parçalarında gelişen koloniler sayılmış ve sonuçlar % Kök Enfeksiyonu olarak verilmiştir. Ayrıca her grup için cm³ topraktaki inokulum yoğunluğu, bitkilerin söküldüğü gün toprak izolasyonu yapılarak belirlenmiştir.

b) Steril toprakta yetiştirilen 3-4 aylık kaba limon çöğürleri çalışmanın yapıldığı bahçelerdeki işaretli ağaçlar altına 5' er bitki gelecek şekilde şaşırtılmıştır. Aynı tarihte, çöğürlerin şaşırtıldığı ağaç altındaki topraklardan 3' er saksılık toprak alınarak kaba limon çöğürleri şaşırtılıp kontrollü koşullarda 2 ay süre ile tutulmuştur. Yine bahçelerden getirilen topraklar otoklavda steril edilerek çöğürler şaşırtılıp, kontrol bitki olarak değerlendirilmek üzere kontrollü koşullarda bekletilmiştir. İki aylık süre sonunda gerek bahçedeki ve gerekse kontrollü koşullarda bekletilen çöğürler sökülerek PRATT ve Ark. (1976)' nın bildirdiği yöntemle göre kök izolasyonları yapılmıştır.

Böylece toprağın inokulum düzeyi ile hastalığın % kök enfeksiyonu olarak çıkışı arasındaki ilişki kurulabilmiştir. Deneme ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde kurulup değerlendirilmiştir.

3.2.3. Biyolojik Mücadele İle İlgili Çalışmalar

3.2.3.1. Toprakta ve Kök Yüzeyindeki Antagonistlerin Saptanması

P. citrophthora ' ya karşı antagonistik etki gösteren bakteri ve fungus izolatları;

1- Sağlıklı görünen limon bahçesinden alınan toprak ve kök örneklerinden (Yakapınarı),

2- *P. citrophthora* ile bulaşık, ancak sağlıklı görünen ağaç altlarından alınan toprak ve kök örneklerinden (Büyük Kapılı),

3- Organik maddece zengin okaliptus orman toprağından alınan toprak ve kök örneklerinden izole edilmiştir.

Toprak izolasyonları toprak sulandırma yöntemine göre yapılmıştır. Bunun için her bahçeden 3' er ağaç işaretlenmiş ve herbir ağaçtan alınan toprak örneği ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Bir ağacın taç izdüşümü altındaki 15 cm derinliklerdeki 4 noktadan alınan toprak polietilen torba içerisine konulmuştur. Laboratuvara getirilen toprak bir gün havalandırılmıştır. Bir ağaçtan alınan toprak örneği 3 mm' lik elekten geçirilerek, 10 g toprak 90 ml destile su içerisine konulmuş ve çalkalayıcıda 10 dakika süre ile çalkalanmıştır. Daha sonra 9 ml steril su içeren tüplere 1' er ml aktararak değişik seyreltmeler elde edilmiştir. Funguslar için 10^{-4} seyreltmeden alınan 1 ml süspansiyon petri yüzeyine yayılmış ve üzerine 45°C ye kadar soğutulmuş Medium-2 ortamı dökülmüştür. Bakteriler için ise 10^{-6} seyreltmeden alınan 1 ml süspansiyon petri yüzeyine yayılmış ve üzerine King-B ortamı dökülmüştür. Kolonilerin gelişmesi için petriler 25°C de 4 gün inkübe edilmiş ve daha sonra da sayımlar yapılmıştır. Makroskobik olarak ayırım gösteren kolonilerden saflaştırmalar yapılmış ve eğik kültürlerle stoklanarak (PDA, NA ve YDCA ortamı içeren eğikler) $+4^{\circ} \text{C}$ de saklanmıştır. Her ay tekrarlanan bu izolasyonlar yıl boyunca devam etmiştir. Bu arazi çıkışlarına ek olarak farklı bakteri izolatları toplamak amacıyla değişik bahçelere rutin olmayan çıkışlar da yapılmıştır. Laboratuvara getirilen bu örnekler yukarıda açıklandığı gibi toprak ve kök izolasyonları yapılarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.2. Antagonistik İlişkilerin İncelenmesi

3.2.3.2.1. İkili Kütür Çalışmaları

İzole edilen mikroorganizmaların antagonistik etkieri öncelikle iki koloni arasında oluşan inhibisyon zonu veya kontrole göre patojenin koloni çapındaki gerileme ölçüsü dikkate alınarak belirlenmeye çalışılmıştır. Fungusların antagonistik etkisini saptamak için 5 günlük kültürden alınan diskler (5 mm), patojen diski ile birlikte, PDA içeren petri kabına çap doğrultusunda 6 cm uzaklıkta olacak şekilde karşılıklı ekilmişlerdir. 25°C de inkübe edilen kültürlerin antagonistik açıdan değerlendirilmesi 7., 10. ve 14. gün yapılmıştır (TURCHETTI, 1982).

Bakterilerin ikili kültür çalışmalarında, bakterilerin 3. gün ve patojenin 5. gün kültürleri kullanılmıştır. Çap doğrultusunda 6 cm aralıkla, bakteri çizgi şeklinde, patojen ise 5 mm disk olarak PDA içeren petri kabına yerleştirilmiştir. Daha sonra 25° C' de inkübe edilerek 7., 10. ve 14. günlerdeki değerleri kaydedilmiştir (TURCHETTI, 1982).

Fungusların değerlendirilmelerinde patojen yarıçapının 3 cm' den fazla gelişmesine izin veren izolatlar elenmiştir. Bakterilerde ise 0.5 cm' nin altında engelleme. zonu oluşturanlar elenmiştir.

3.2.3.2.2. Antibiyotik Üretimi

İkili kültür çalışmalarından sonra antagonistlerin etkileri antibiyotik üretimleri açısından bir kez de agar-halka yöntemi ile çalışılmıştır (TURHAN, 1981; WILLIAMS, 1962). Petri kabının altına daire şeklinde kesilmiş selofan ve üzerine alüminyum borudan 7 cm çapında ve 1 cm yüksekliğinde olacak şekilde kesilmiş bir halka yerleştirilerek petriler otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra alüminyum halkanın içine yarı yüksekliğine kadar PDA ortamı dökülmüştür. Besi ortamının tüm yüzeyi öze yardımıyla bakteri ön kültürü ile inoküle edildikten sonra 25° C' de 3 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda steril bir pens ile alüminyum halka ortamları birlikte ters çevrilerek selofan kağıt dışarı alınmış ve üstte kalan yüze 3 patojen diski eklenmiştir. 25° C' de 5 gün inkübe edildikten sonra patojenin kaç cm çapında bir gelişme gösterdiği, kontrole göre değerlendirilmiştir. Fungal antagonist izolatlar için ise aynı şekilde hazırlanan ve steril edilen petrilere ortam (PDA) alüminyum halka yüksekliğinde döküldükten sonra bir pens ile selofan tutularak ters çevrilmiştir. Selofan kağıt üzerine antagonist izolatın bir diski ekilmiş, 25° C' de antagonistin gelişme hızına bağlı olarak 4-5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda antagonist adayı kültür ile birlikte selofan dışarı alınmış ve agar yüzeyine 3 patojen diski ekilmiştir. Değerlendirmenin yapılacağı gün (5. gün) antagonist fungusun halka üstünde ve etrafında bulaşmalara yol açtığı görülmüştür. Bu nedenle funguslar agar-halka ile değerlendirilmemiş, antibiyotik üretilip üretilmedikleri "Gliotoksin Fermentasyon Sıvı Ortamı" ile tekrar çalışılmıştır.

Hazırlanan gliotoksin fermentasyon sıvı ortamı 250' lik erlenmayerlere 100' er ml koyularak otoklavda steril edilmiştir. Daha sonra antagonist fungusun 5 günlük kültüründen alınan 5 mm' lik iki disk, sıvı ortam içeren erlenmayere konulmuştur. Erlenmayerler 25° C sıcaklıkta, 120 devir/dakika çalışan çalkalayıcıda 10 gün çalkalanmıştır. Bu süre sonunda sıvı kültür önce cam elyafı, daha sonra milipor filtreden (0.45 mm) geçirilerek filtre ile sterilizasyon uygulanmıştır. Otoklav edildikten sonra 45° C' ye kadar soğutulmuş PDA ortamına, sıvı kültür 1/10 oranında eklenerek, her petriye 15 ml' lik ortam dökülmüştür. Petri içindeki ortam katılaştıktan hemen sonra, ortaya gelecek şekilde 5 mm çapındaki patojen diski eklenmiştir. Petriler 25° C' de inkübe edilerek 7. günde değerlendirilmiştir.

3.2.3.2.3. Sıvı Kültürde Bakterilerin Antagonistik Etkileri

Hazırlanan PD (Patates, Dekstroz) sıvı ortamı 150 ml' lik erlenmayerlere 80 ml gelecek şekilde konulmuştur. 48 saatlik bakteri kültüründen alınan bir öze dolusu bakteri, *P. citrophthora* 'nın 7 günlük kültüründen alınan bir disk, erlenmayer içerisindeki sıvı kültüre aşılanmıştır. Sıvı kültür içerisindeki gelişmeler kontrole göre 7. ve 14. günde değerlendirilmiştir.

3.2.3.3. Antagonistlerin Saksı Çalışmaları

Laboratuvar çalışmalarında etkili bulunan antagonist mikroorganizmaların, patojenin hastalık oluşturmalarını engelleyici etkileri saksı denemeleriyle araştırılmıştır. Toprak:kum:torf (1:1:1) oranında karıştırılmış ve sterilizasyondan sonra toprak 15 cm çap ve 20 cm yüksekliğindeki plastik tüplere 2 kg gelecek şekilde doldurulmuştur. Bakteri ön kültürleri inkübasyonunun 3. gününde, her petri 100 ml su ile yıkanarak alınmış, süspansiyon yoğunluğu 1.5×10^8 hücre/ml olarak ayarlanmıştır.

Patojen süspansiyonu ise 40.000 zoospor/ml ' ye ayarlanmıştır. Süspansiyon saksılara 100 ml olarak verilmiştir. Denemelerde kullanılacak 3-4 aylık kaba limon çöğürleri aşağıdaki uygulamalara göre fidan tüplerine şaşırtılmıştır.

K1: Limon çöğürleri şaşırtılırken kök bölgesine 100 ml su verilmiştir (Negatif kontrol).

K2: Limon çöğürleri şaşırtılırken kök bölgesine 100 ml zoospor süspansiyonu verilmiştir (Pozitif kontrol)

K3: Sadece bakteri süspansiyonu (100 ml) çöğürlerin kök bölgesine verilerek şaşırtılmıştır.

U1: Zoospor süspansiyonu ve bakteri süspansiyonu aynı anda 100' er ml olarak kök bölgesine verilerek şaşırtılmıştır.

U2: Önce 100 ml bakteri süspansiyonu çöğürlerin kök bölgesine verilerek şaşırtılmıştır, bir hafta sonra da kök bölgesine 100 ml zoospor süspansiyonu verilmiştir.

Çöğürler $25\pm1^{\circ}$ C, % 80 ± 5 orantılı nem, 16 saat 11.000 lüks ışık ve 8 saat karanlık aydınlatma koşulları sağlayan bir klima odasında 3 ay bekletilmiş ve daha sonra değerlendirme yapılmıştır. Önce antagonist ve bir hafta sonra patojenin verildiği karakter, aynı koşullarda ayrıca 6 ay bekletilerek sonuçlar değerlendirilmiştir.

Fungal antagonistler için mısır unu-perlit (15 g perlit; 8 g mısır unu; 40 ml destile su) yapay ortamları hazırlanmıştır. Erlenlere (500 ml' lik) konulup steril edilen ortamlara 3' er adet 5 mm' lik antagonist diski inokule edilmiştir. İnokulasyondan sonra kültürler 25° C sıcaklıkta 3 hafta süreyle inkübe edilmiştir. Antagonistler toprağa bulaştırılırken mısır unu perlit ortamından % 1-2 W/W olacak şekilde toprağın 5 cm' lik üst katı bulaştırılmıştır. Patojen inokulumu ise 40.000 zoospor/ml yoğunlukta, saksılara 100 ml gelecek şekilde uygulanmıştır. Karakterler antagonist bakterilerde uygulandığı gibi düzenlenmiştir. Uygulamalardan sonra saksılar $25\pm1^{\circ}$ C, % 80 ± 5 orantılı nem, 16 saat 11.000 lüks ışık ve 8 saat karanlık aydınlatma koşullarına sahip klima odasında 6 ay süreyle tutulmuştur. PRATT ve Ark. (1976)' nın bildirdiği yöntemle göre 6.ayda kök izolasyonları yapılmış ve % kök infeksiyon oranları saptanmıştır. Ayrıca saksı topraklarındaki patojenin inokulum yoğunluğunu belirlemek için de TIMMER ve Ark. (1988)' nın bildirdiği yöntem, kullanılan su agar % 1' lik hazırlanarak ve petrilere verilen 1 ml' lik örnek, ortam yüzeyine damlalar halinde

verilerek modifiye edilmiş ve toprak izolasyonları bu modifikasyona göre yapılmıştır. Antagonistlerin % koruyucu etkileri ABBOT' a göre değerlendirilmiştir.

3.2.3.3. Antagonistlerin Tanılanmaları

Antagonistik etki gösteren izolatların cins veya tür düzeyinde tanıları yapılmaya çalışılmıştır. *Aspergillus* spp. PDA, MEA, CSA ortamlarında geliştirilmiştir. Gelişme süresince koloninin rengi, şekli, gelişme hızı kleistotesium veya sklerot oluşturup oluşturmama gibi özellikleri makroskobik olarak incelenmiş ve daha sonra konidial başların rengi, şekli ve büyüklükleri, konidiofor, vesikül, fialid ve fialokonidilerin morfolojik özellikleri mikroskobik olarak incelenmiştir (DOMSCH ve Ark., 1980). *Trichoderma* spp. ise PDA ve MEA ortamlarında geliştirilmiş ve gelişme süresince 5., 7., 10. ve 14. günlerde gelişme hızı, koloni rengi makroskobik olarak incelenmiştir. Yine gelişmenin belirli dönemlerinde konidioforların dallanma şekilleri, fialid ve fialokonidilerin morfolojik özellikleri, steril hiflerin varlığı mikroskobik olarak incelenmiştir (DOMSCH ve Ark., 1980).

Penicillium sp., *Mucor* sp. ve *Rhizopus* sp. ise PDA ortamında geliştirilmiş, koloni rengi ve gelişmeleri makroskobik olarak incelenmiştir. Spor ve hif yapıları da mikroskop altında belirlenmiştir.

Bakterilerin tanılanması amacıyla floresan pigment oluşumu, tütünde aşırı duyarlılık, potasyum hidroksit, oksidaz, nişasta hidrolizasyonu, levan oluşumu, arginindehidrolaz, patates çürüklüğü testleri yapılmıştır.

Floresan Pigment Oluşumu

Kültürler King-B ortamına çizilerek 25° C' de 48 saat inkübe edildikten sonra floresan renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (KING ve Ark., 1954).

Tütünde Aşırı Duyarlılık (HSR) Testi

Bakteri kültürlerinin 10⁷ hücre/ml yoğunluktaki süspansiyonları hazırlanmıştır. Tütün bitkisi (*Nicotiana glutinosa*) 3-4 yapraklı dönemde iken

yaprağın alt yüzüne damar aralarına bakteri süspansiyonu injekte edilmiştir. İnoküle edilen alanlar 24-48 saat sonra incelenerek oluşan nekrotik görünüm pozitif olarak değerlendirilmiştir (KLEMENT ve GOODMAN, 1967).

Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

KOH solusyonu % 3' lük taze olarak hazırlanmıştır. Solusyondan alınan 1 damla lam üzerine damlatılmış ve 48 saatlik bakteri kültürü platin özeyle alınarak lam üzerine dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında eğer bir sünme oluşumu gözleniyor ise test pozitif sonuç vermiş olarak değerlendirilmiş, kültür gram negatif bakteri olarak tanılanmıştır (KLEMENT ve Ark., 1990).

Oksidaz Testi

Taze hazırlanan % 1' lik, N;N;N-Tetramethyl-1,4- phenylenediammonium dichlorid eriyiğinden steril filtre kağıdına 1-2 damla damlatılmış ve 48 saatlik bakteri kültürü bir platin özeyle alınarak, ıslak filtre kağıdı üzerine çizilerek verilmiştir. 5-10 saniye içinde eğer koyu mor renk gelişimi oluyorsa, sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir (KOVAKS, 1956).

Nişasta Hidrolizasyon Testi

Nutrient agar 5.6 g, nişasta 0.4 g ve 200 ml destile su içeren ortam otoklav edildikten sonra petrilere dökülmüştür. Bakteri kültürü 48 saatlik gelişmeden sonra ortam üzerine çizilmiş ve 25° C ' de 48 saat inkübe edilmiştir. Hazırlanan Lugol eriyiği (1 g iyot, 2.0 g KI, 300 ml destile su) ortam üzerinde gelişen kültürlerle dökülmüştür. Bakteri kolonilerinin etrafında oluşan açık renkli alanlar pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (LELLIOT ve STEAD, 1987).

Jelatin Hidrolizasyon Testi

Litrede 3 g yeast ekstrakt, 5 g pepton, 120 g jelatin içeren ortam pH 7 olacak şekilde hazırlanıp, tüplere 9 ml konularak otoklav edilmiştir. Otoklavdan sonra tüp

içindeki katılaşılan ortamlara 48 saatlik bakteri kültüründen nokta inokulasyon yapılmıştır. 25° C' de 7 gün inkübe edilen kültürler değerlendirilmeden önce +4° C 30 dakika bekletilmiştir. Buzdolabından çıkarılan tüpler içindeki ortamlarda görülen sıvılaşma pozitif sonuç vermiştir. Negatif kontrol amacıyla aşılınmamış tüpler kullanılmıştır (MISAGHI ve GROGAN, 1969).

Levan Oluşumu

% 5' lik NSA (Nutrient Sukroz Agar) ortamına floresan *Pseudomonas* kültürleri çizilmiştir. Daha sonra 25° C' de 3-4 gün inkübe edilmiştir. Kalın, beyaz, konveks ve mukoid koloni gelişmeleri pozitif olarak değerlendirilmiştir (LELLIOTT ve STEAD, 1987).

Arginindehidrolaz Testi

Litrede 1 g pepton, 5 g NaCl, 0.3 g K₂HPO₄ , 10 g L(+) Arginin HCl, 0.01 g fenol red, 3 g agar içeren ortam pH 7.2 olacak şekilde hazırlanmış, daha sonra tüplere 3' er ml konularak steril edilmiştir. 24 saatlik bakteri kültürü ile nokta inokulasyonu yapıldıktan sonra tüplerin üzeri steril vaspas (1 ölçü vazelin, 3 ölçü likid parafin) eriyiği ile kapatılmıştır. Kültürlerden 25° C' de bir haftalık bir inkübasyondan sonra kırmızıdan vişne rengine dönenler pozitif olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak bir tüp aşılınmamıştır (LELLIOT ve STEAD, 1987).

Patates Çürüklüğü Testi

Patatesler yıkanıp temizlendikten sonra, kurutulmuş ve % 96' lık alkolle yüzey sterilizasyon yapılmıştır. Daha sonra steril bir bistüri yardımıyla kabukları soyulmuştur. Steril ıslak filtre kağıdı içeren steril petri içine kabuğu soyulmuş 1 cm kalınlığındaki patates dilimleri yerleştirilmiştir. Steril bir iğne ile patates dilimleri üzerine 3' er adet çentik açılmıştır. Daha sonra 48 saatlik bakteri kültüründen hazırlanan süspansiyondan (10⁷ hücre/ml) 1-2 damla çentiklere damlatılmıştır. Bunlar 25° C' de 7 gün inkübe edildikten sonra değerlendirme yapılmıştır. İnoküle edilen

bölgenin çevresindeki yumuşama pozitif olarak değerlendirilmiştir (LELLIOT ve STEAD, 1987).

3.2.4. Ortamların İçerikleri

1. PDA

Patates	250.0 g
Dekstroz	20.0 g
Agar	15.0 g
Destile su	1000 ml

Gerektiği zaman 45 °C soğutulup (% 75) PCNB 1.0 g eklenecek

2. P₁₀ VP+HMI

Pimaricin	10.0 mg
Vancomycin	200.0 mg
PCNB	100.0 mg
Hymexazol	50.0 mg
Mısır unu agar	17.0 g
Destile su	1000 ml

1000 ml mısır unu agar 45°C soğutulup pimaricin, vancomycin, PCNB ve hymexazol ilave edilmiştir. Pimarisin yerine 35 mg nystatin ve 10 mg benomyl konulabilir (TSAO ve GUY, 1977).

3. PARP+HMI

Pimaricin	10.0 mg
Ampicilin	125.0 mg
Rifampicin	10.0 mg
PCNB	100.0 mg
Mısır unu agar	17.0 g
Hymexazol	25.0 mg
Destile su	1000 ml

4. Medium-2

Glikoz	10.0 g
NaNO ₃	1.0 g
K ₂ HPO ₄	1.0 g
Agar	15.0 g
Rose Bengal	65.0 mg
Toprak ekstraktı	1000 ml

(Toprak ekstraktı; 1200 ml göl suyuna 1000 gr bahçe toprağı eklenip, 1 saat 121°C de otoklav edildikten sonra, önce tülbent sonra filtre kağıdından geçirilip 1000 ml' ye tamamlanarak hazırlandıktan sonra kimyasal maddeler ilave edilmiştir.)

5. Martin ortamı

Dekstroz	5.0 g.
Potasyum dihidrojen fosfat	1.0 g
Magnezyum sülfat	0.5 g
Pepton	5.0 g
Agar	20.0 g
Rose bengal	33.0 mg
Streptomycin	300.0 mg.
Destile su	1000 ml

6. King-B

Proteose pepton	20.0 g
Gliserin	10.0 ml
K ₂ HPO ₄	1.5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1.5 g
Agar	15.0 g
Destile su	1000 ml

7. YDCA

Yeast Extract	10.0 g
CaCO ₃	20.0 g
Dekstroz	20.0 g
Agar	15.0 g
Destile su	1000 ml

8. Nutrient Agar

Nutrient agar	28.0 g
Destile su	1000 ml

9. Gliotoksin-Fermentasyon sıvı ortamı

Dekstroz	25.0 g.
Amonyum tartarat	2.0 g
KH ₂ PO ₄	2.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	1.0 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 g
Destile su	1000 ml

10. Su-Agar

Agar	10.0 g
Destile su	1000 ml

11. Malt- Ekstrakt Agar

Malt ekstrakt	20.0 g
Pepton	1.0 g
Dekstroz	20.0 g
Agar	20.0 g
Destile su	1000 ml

12- CSA (Czapek Solusyon Agar)

NaNO_3	3.0 g
K_2HPO_4	1.0 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.01 g
KCl	0.5 g
Sakkaroz	30.0 g
Agar	15.0 g
Destile su	1000 ml



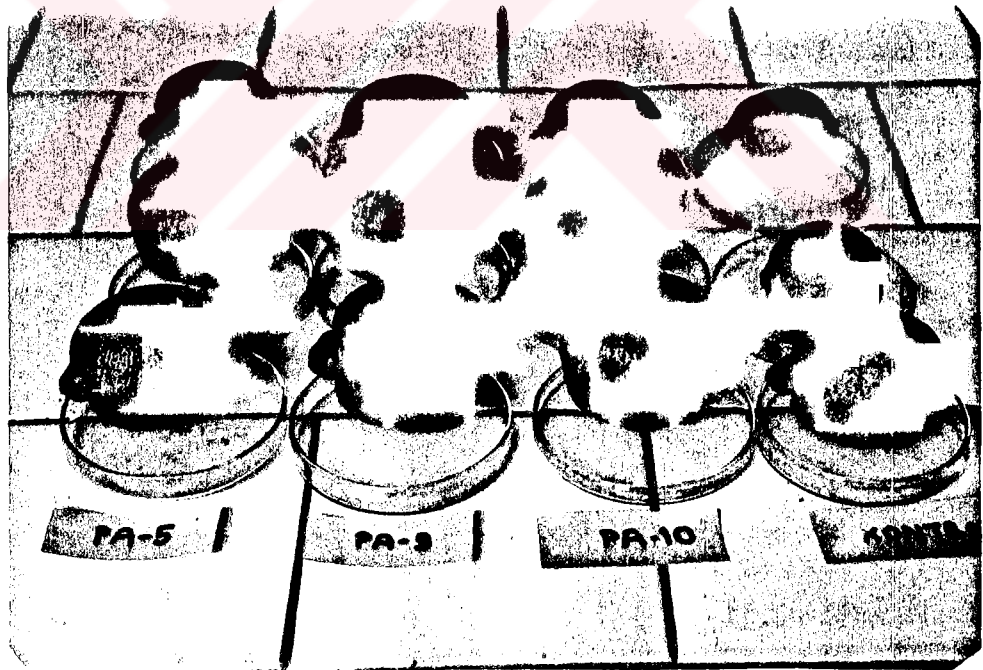
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Etmenin İzolasyonu, Tanısı ve Patojenitesi İle İlgili Çalışmalar

Gövdede zamlanma ve meyvelerde kahverengi çürüklük gösteren, etmenle bulaşık bahçelerden (Resim 1) laboratuvara getirilen meyve, kök ve toprak örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu 12 adet *P. citrophthora* izolatı elde edilmiştir. Tüm isolatlar WATERHOUSE 1963), WATERHOUSE ve WATERSONE (1964)' nun bulguları doğrultusunda koloniler krem renkli, karakteristik olarak belirgin radyal bir gelişim göstermişlerdir. Bölmesiz kaba hifleri ortalama 2. 6 µ kalınlıkta olup, sporangioforları düzensiz dallanmıştır. Papilla içeren limon şeklindeki 32X22 µ büyüklükteki sporangiumlara sık sık hif ortasında rastlanmıştır. İzolatlar oospor oluşumu göstermemiş olup, hareketli zoosporları su kültürlerinden alınan preparatlarla mikroskopta incelenmiştir. Bu incelemeler sonucunda da tüm isolatlar yukarıda belirtilen özellikleri göstermeleri nedeniyle *P. citrophthora* olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, isolatların hepsi patojenite testleri sonucunda limon meyveleri üzerinde kahverengi çürüklük oluşturmuşlardır (Resim 2). Oluşturulan hastalıklı alan büyüklükleri Çizelge 1' de gösterilmiştir. Elde edilen değerlere varyans analizi uygulanmıştır. Varyans analizi sonuçlarına göre leke boyunun ölçümlerinde PA-4, PA-5, PA-9, PA-10 ve PA-12 nolu isolatlar sırasıyla 7.7, 8.2, 8.0, 7.8 ve 7.8 cm; en ölçümlerinde ise PA-5 ve PA-9 nolu isolatlar 7.8 cm ile en yüksek değerleri alarak istatistiki olarak aynı grupta yer almışlardır. En büyük ortalama boy 8.2, en 7.8 cm ile PA-5 verdiği için virülensliği en yüksek izolat olarak kabul edilmiş ve çalışmalarda bu izolat kullanılmıştır.



Resim 1. *Phytophthora citrophthora* 'nin gövdede oluşturduğu zamklanma



Resim 2. Patojenite testi sonucunda limon meyvelerinde *Phytophthora citrophthora* tarafından oluşturulan kahverengi çürüklük

Çizelge 1. *Phytophthora citrophthora* izolatlarının limon meyvelerindeki patojeniteleri *

İzolat No	Yer	Bitki türü	İzolasyon yapılan materyal	BOY (Hastalıklı alan cm)					EN (Hastalıklı alan cm)				
				1	2	3	4	Ort.	1	2	3	4	Ort.
PA-1	B.Kapılı	Limon	Meyve	6.0	5.8	5.8	5.8	5.8	5.0	5.0	5.3	5.1	5.1 d
PA-2	B.Kapılı	Limon	Kök	9.0	6.8	4.7	7.0	6.9 abc	7.0	5.8	4.2	5.6	5.7 cd
PA-3	B.Kapılı	Limon	Toprak	6.0	4.6	6.0	5.5	5.5 c	4.8	4.0	6.0	4.9	4.9 d
PA-4	Kozan	Mandarin	Toprak	8.4	8.3	6.3	7.6	7.7 a	7.0	7.4	5.0	6.4	6.5 bc
PA-5	Abdioğlu	Mandarin	Kök	9.3	8.3	7.0	8.2	8.2 a	8.3	7.6	7.6	7.8	7.8 a
PA-6	Köprüköy	Limon	Meyve	4.5	7.5	6.0	6.0	6.0 bc	4.0	7.0	7.6	6.2	6.2 bcd
PA-7	Abdioğlu	Mandarin	Meyve	6.8	8.0	6.7	7.2	7.2 abc	6.4	8.8	6.1	7.1	7.1 ab
PA-8	Abdioğlu	Mandarin	Meyve	7.7	7.1	7.0	7.3	7.3 ab	7.1	6.7	5.0	6.3	6.3 bcd
PA-9	Abdioğlu	Mandarin	Toprak	7.4	8.9	7.7	8.0	8.0 a	8.4	7.2	7.8	7.8	7.8 a
PA-10	Abdioğlu	Limon	Toprak	9.9	6.8	6.7	7.8	7.8 a	8.7	7.2	6.6	7.5	7.5 ab
PM-11	Tömük	Limon	Toprak	7.7	6.6	7.4	7.2	7.2 ab	7.7	6.7	7.8	7.4	7.4 ab
PM-12	Dav.Tep.	Limon	Toprak	7.4	7.7	8.4	7.8	7.8 a	5.2	7.3	7.2	6.5	6.1 abc

* Aynı sütun içerisinde değişik karakterlere ait aynı harfle gösterilen hasalanma oranları LSD (% 95) testinde farksız bulunmuştur.

4.2. *Phytophthora citrophthora* 'nın Populasyon Dinamiği

4.2.1. Örneklerin Alınım Değerlendirilmesi

Seçilen bahçelerden her ay yapılan toprak izolasyonlarına ait sonuçların yer aldığı Çizelge 2 ve Şekil 1 incelendiğinde ağaç gövdelerinde hastalık simptomlarının görüldüğü bahçelerin bulunduğu Büyük Kapılı, Davultepe ve Tömük' de inokulum düzeyleri (propagül/cm³ toprakta) sırasıyla Eylül ayında 9.33, 32.66, 18.66; Ekim ayında 16.00, 13.30, 18.00; Kasım ayında 26.00, 35.30, 34.6; Aralık ayında 7.33, 18.33, 6.66; Ocak ayında 2.66, 6.66, 5.33; Şubat ayında 3.33, 2.66, 4.66; Mart ayında 2.00, 2.66, 10.00; Nisan ayında 2.66, 1.33, 2.66; Mayıs ayında 6.00, 6.00, 7.33; Haziran ayında 34.60, 40.00, 51.33; Temmuz ayında 1.33, 5.33, 4.00 olarak saptanmıştır.

Ağaç gövdelerinde hastalık simptomlarının görülmediği kontrol bahçeler olarak alınan Şihmurat, Yakapınarı ve Kale' de ise yıl boyunca inokulum düzeyleri (propagül/cm³ toprakta) sırasıyla Eylül ayında 5.33, 14.00, 1.33; Ekim ayında 4.00, 14.60, 2.60; Kasım ayında 16.60, 11.30, 28.60; Aralık ayında 51.33, 36.66, 5.33; Ocak ayında 3.33, 13.33, 3.33; Şubat ayında 1.33, 5.33, 2.00; Mart ayında 4.00, 4.00, 2.66; Nisan ayında 2.00, 0.66, 0.00; Mayıs ayında 4.00, 5.33, 3.33; Haziran ayında 102.00, 36.66, 73.33; Temmuz ayında 51.33, 19.33, 32.00; Ağustos ayında 2.66, 21.33, 2.66 olarak belirlenmiştir (Çizelge 2; Şekil 1).

Yapılan kök izolasyonları sonucunda, kök yüzeyi üzerinde gelişen *P. citrophthora* kolonilerini her ay izole etmek mümkün olmamıştır. Büyük Kapılı' da yıl boyunca yalnız Kasım ve Mart aylarında 13.33 propagül/g kök düzeyinde izole edilmiştir. Davultepe' de Aralık ayında 26.66, Mayıs ayında 13.33, Haziran ayında 40.00; Tömük' de Kasım ayında 73.33, Aralık ayında 13.33, Ocak ayında 6.66, Haziran ayında 13.33; Şihmurat' da Kasım, Mart, Nisan ve Mayıs aylarında 6.66, Haziran ayında 73.33; Yakapınarı' nda Ekim ayında 13.33, Kasım ve Mart aylarında 33.33, Mayıs ayında 20.00, Haziran ayında 60.00; Kale' de ise Aralık ayında 20.00, Mayıs ayında 13.33, Haziran ayında 6.66 propagül/g kök düzeyinde belirlenmiştir (Çizelge 3; Şekil 2).

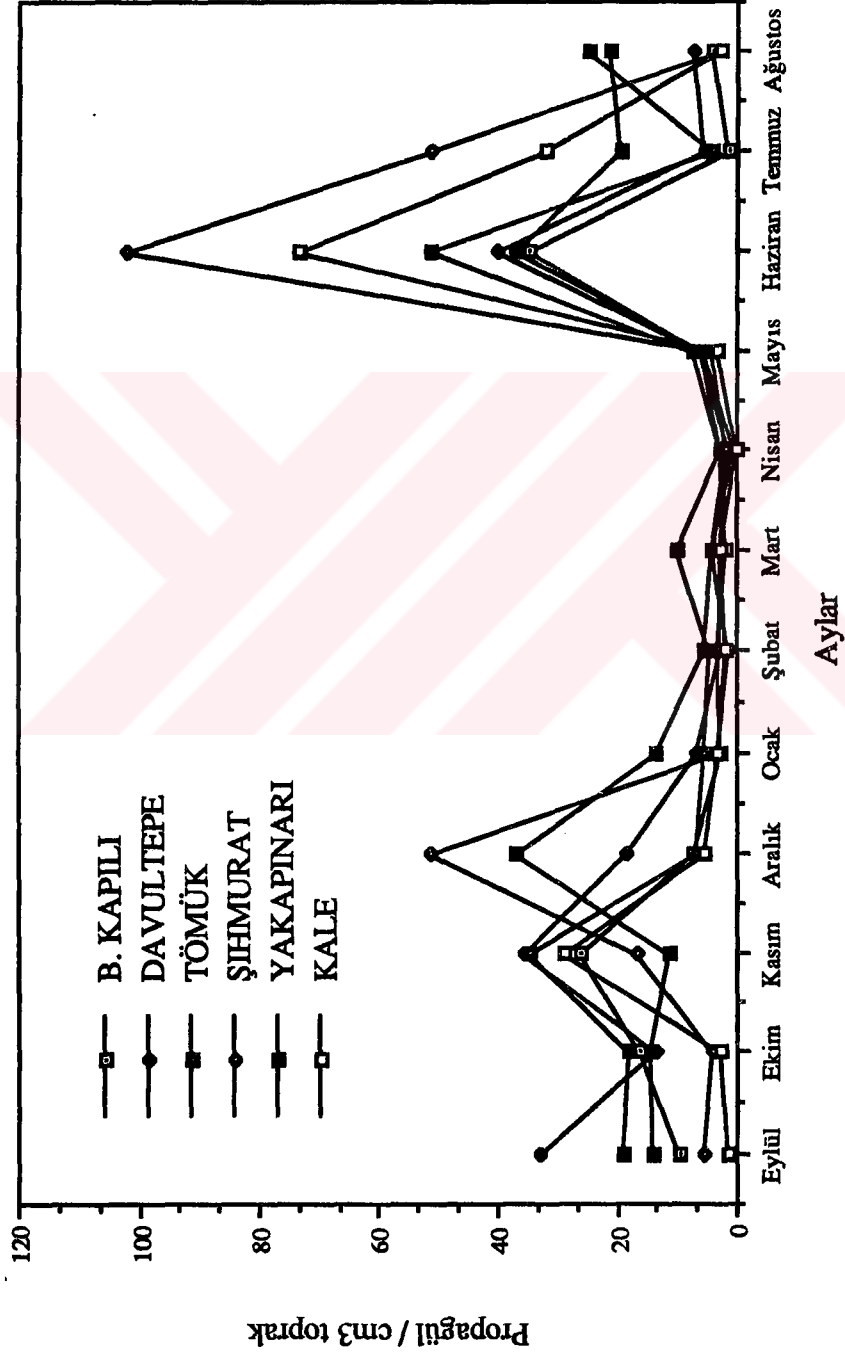
Hastalıklı ve sağlıklı bahçelerin seçiminde göz önünde tutulan tek kriter

yalnızca gövde infeksiyonları olmuştur. İnce kök ve meyve infeksiyonlarının dikkate alınamamasının nedeni, bahçe seçimi zamanında bu simptomları bulma imkanının olmamasıdır. Sağlıklı görünen ağaçlardan kurulu olan ve kontrol olarak seçilen Yakapınarı, Şihmurat ve Kale' de bulunan bahçelerde *P. citrophthora* 'nın toprak ve kök yüzeyindeki inokulum düzeyi çoğu zaman gövdede hastalık simptomları görülen ağaçlardan kurulu Büyük Kapılı, Tömük ve Davultepe' de bulunan bahçe topraklarında ve kök yüzeyindeki inokulum düzeylerine yakın, hatta bazı aylar bu bahçelerdeki populasyonun üzerinde değerler vermiştir. Etmenin sağlıklı görünen ağaçlardan kurulu kontrol bahçe topraklarındaki inokulum düzeyleri ile hastalıklı ağaçlardan kurulu bahçe topraklarındaki inokulum düzeyleri arasında yüksek oranlarda farkların olmaması bitki patolojisinde az da olsa rastlanılabilen bir durumdur. Bilindiği gibi hastalık çıkışı, patojenin ortamda bulunmasının yanısıra konukçunun beslenme ve diğer stres faktörlerinden etkilenmesi sonucu etmene daha duyarlı hale gelmesiyle gerçekleşmektedir. Nitekim VON BROEMSEN (1979)' nin de bildirdiği gibi infeksiyon şiddeti etmenin populasyon düzeyine bağlı olmaksızın dalgalanma gösterebilmektedir. Ayrıca toprağın su ile doygunluğu ve oksijen düzeyindeki azalma konukçuyu etmene karşı daha duyarlı hale getirebilmektedir. Böylece hastalık potansiyeli patojen populasyonundan bağımsız olarak artabilmektedir. Diğer taraftan yüksek *Phytophthora* populasyonuna karşı düşük hastalık potansiyelinin varlığını da saptayan araştırmacı, bu farklılığı konukçu dayanıklılığının yüksek olmasına, patojen ırkına ve üreme şekline bağlamıştır. Ayrıca *Phytophthora* 'nın zoosporları toprakta sayıca az olduğunda birbirinden bağımsız olarak hareket ederler, herhangi bir rekabete girmezler. Sporlar belirli bir populasyon düzeyine ulaştığında birbirlerini çimlenme ve infeksiyon için uyarırlar ki, bu duruma sinergizm denilebilir. Yüksek populasyonlarda ise sporlar infeksiyon bölgesi bulabilmek için birbirleriyle rekabete girerler ve bu durum o kadar ileri gidebilir ki, karşılıklı olarak birbirlerine antagonistik etki yaparlar, hareket halinde birbirlerine çarparlar ve çimlenmeyi baskı altında tutarlar (VAN DER PLANK, 1975).

Çizelge 2. *Phytophthora citrophthora* 'nın limon bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmaları

Köyler	Ağaç No	1992 Eylül	1992 Ekim	1992 Kasım	1992 Aralık	1993 Ocak	1993 Şubat	1993 Mart	1993 Nisan	1993 Mayıs	1993 Haziran	1993 Temmuz	1993 Ağustos
		*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³	*p/cm ³
Büyük Kapılı	1	10	14	42	4	2	2	2	2	6	48	4	2
	2	6	14	26	10	4	4	2	2	8	28	0	4
	3	12	20	20	8	2	4	2	4	4	30	0	6
	Ort.	9.33	16.0	26.0	7.33	2.66	3.33	2.0	2.66	6.0	34.6	1.33	4.0
Davultepe	1	28	10	32	24	10	2	2	2	4	56	0	10
	2	42	14	28	8	4	4	2	2	8	40	8	8
	3	28	16	46	8	6	2	4	0	6	24	8	4
	Ort.	32.66	13.3	35.3	18.33	6.66	2.66	2.66	1.33	6.0	40.0	5.33	7.33
Tömük	1	28	12	20	8	8	4	6	4	6	56	2	20
	2	16	12	40	4	4	8	10	2	8	60	2	28
	3	12	30	44	8	4	2	14	2	8	38	8	26
	Ort.	18.66	18.0	34.6	6.66	5.33	4.66	10.0	2.66	7.33	51.33	4.0	24.66
Şihmurat	1	8	2	12	50	2	2	2	2	6	104	68	2
	2	4	2	18	56	4	2	6	0	2	86	48	2
	3	4	8	20	48	4	0	4	4	4	116	38	4
	Ort.	5.33	4.0	16.6	51.33	3.33	1.33	4.0	2.0	4.0	102.0	51.33	2.66
Yakapınarı	1	16	20	18	20	14	2	6	2	4	38	20	18
	2	14	16	6	36	12	10	2	0	6	26	16	22
	3	12	8	10	54	14	4	4	0	6	48	22	24
	Ort.	14.0	14.6	11.3	36.66	13.33	5.33	4.0	0.66	5.33	36.66	19.33	21.33
Kale	1	2	4	16	6	4	2	2	0	4	62	34	4
	2	0	2	50	6	2	4	2	0	4	78	30	4
	3	2	2	20	4	4	0	4	0	2	80	32	0
	Ort.	1.33	2.6	28.6	5.33	3.33	2.0	2.66	0.0	3.33	73.33	32.0	2.66

* p/cm³= Propagül/cm³ toprak

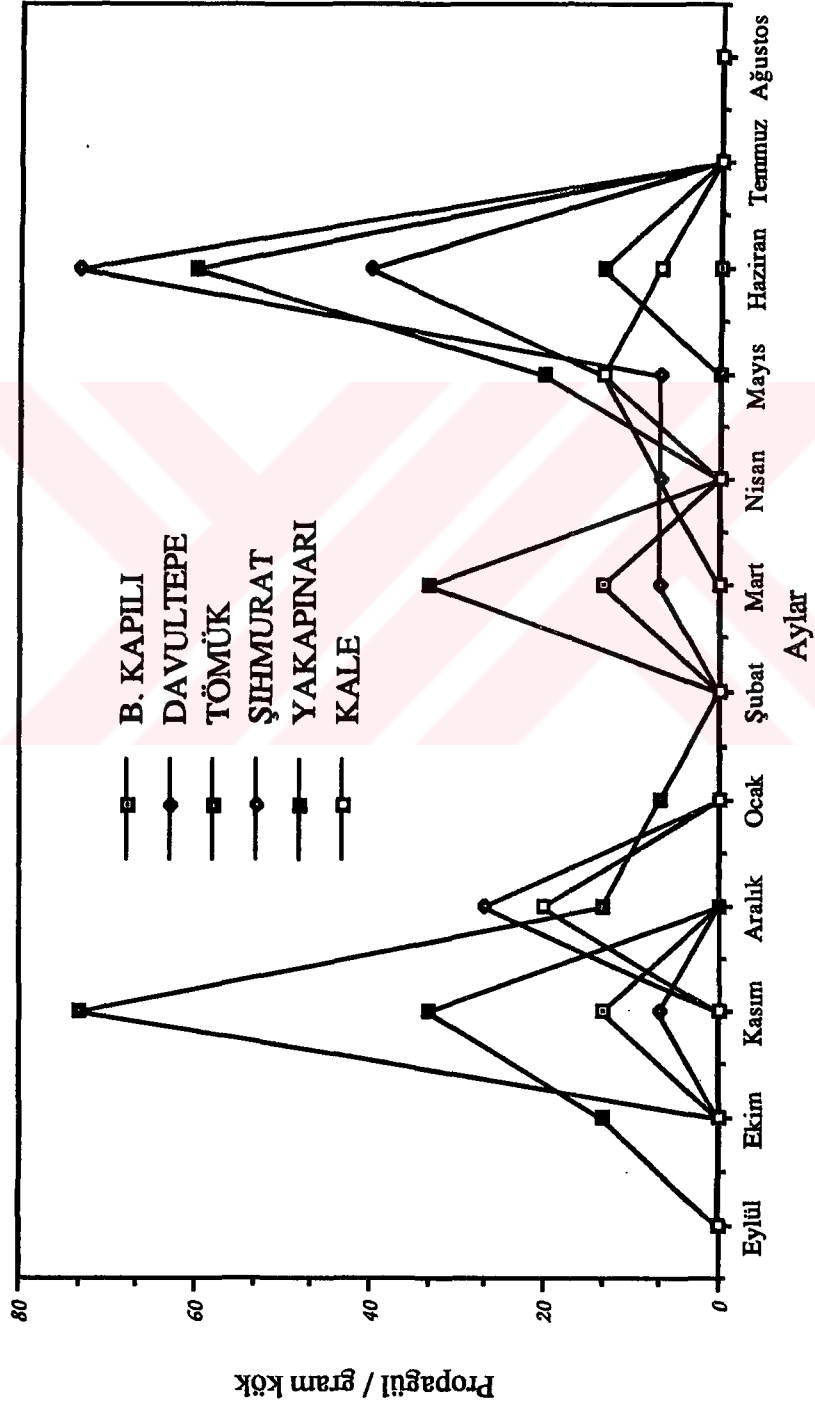


Şekil 1. *Phytophthora citrophthora* 'nın limon bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmaları

Çizelge 3. *Phytophthora citrophthora* 'nın turunc kök yüzeyi üzerindeki popülasyon dalgalanması

Köyler	Ağaç No	1992 Eylül	1992 Ekim	1992 Kasım	1992 Aralık	1993 Ocak	1993 Şubat	1993 Mart	1993 Nisan	1993 Mayıs	1993 Haziran	1993 Temmuz	1993 Ağustos
		*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök	*p/g kök
Büyük Kapılı	1	0	0	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0
	Ort.	0.0	0.0	13.33	0.0	0.0	0.0	13.33	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Davutkepe	1	0	0	0	60	0	0	0	0	0	60	0	0
	2	0	0	0	20	0	0	0	20	20	60	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0
	Ort.	0.0	0.0	0.0	26.66	0.0	0.0	0.0	6.66	13.33	40.0	0.0	0.0
Tömük	1	0	0	80	20	0	0	0	0	0	20	0	0
	2	0	0	60	20	0	0	0	0	0	20	0	0
	3	0	0	60	0	20	0	0	0	0	0	0	0
	Ort.	0	0	73.33	13.33	6.66	0	0	0	0	13.33	0.0	0.0
Şihmurat	1	0	0	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	20	100	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	20	0	120	0	0
	Ort.	0.0	0.0	6.66	0.0	0.0	0.0	6.66	6.66	6.66	73.33	0.0	0.0
Yakapınarı	1	0	20	60	0	0	0	40	0	20	80	0	0
	2	0	0	20	0	0	0	40	0	0	60	0	0
	3	0	20	20	0	0	0	20	0	40	40	0	0
	Ort.	0.0	13.33	33.33	0.0	0.0	0.0	33.33	0.0	20.0	60.0	0.0	0.0
Kale	1	0	0	0	40	0	0	0	0	20	0	0	0
	2	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	20	20	0	0
	Ort.	0.0	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0	13.33	6.66	0.0	0.0

* p/g kök= Propagül/gram kök



Şekil 2. *Phytophthora citrophthora* 'nın turunc kök yüzeyi üzerindeki populasyon dalgalanmaları

Bahçelerden Şıhmurat, Yakapınarı ve Büyük Kapılı Adana' nın Yüreğir ilçesinde; Kale, Davultepe ve Tömük ise Mersin' in Erdemli ilçesinde bulunmaktadır. Tüm bu bilgiler ışığı altında Adana ve Erdemli için iklim değerlerinin verildiği Çizelge 4, etmenin toprakta ve kök yüzeyinde gösterdiği populasyon dalgalanma eğrilerinin yer aldığı Şekil 1 ve 2 birarada incelendiğinde Haziran ayında tüm bahçelerde inokulum oranlarının en yüksek değere ulaştığı görülmektedir. Bu değerler Adana' daki bahçeler söz konusu olduğunda Mayıs ayı toplam yağışı 101.7 mm olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4). Mayıs ayında yapılan arazi çıkış tarihi göz önüne alındığında Mayıs için söz konusu olan toplam yağış miktarının ancak 49.80 mm' si alındıktan hemen sonraki günlerde toprak örneği alınıp değerlendirilmiştir. Mayıs ayı ortalama sıcaklığı ise 20.3° C olarak gerçekleşmiştir. Oysa ki Haziran ayı içerisinde alınan toplam yağış miktarı sadece 40.50 mm olmuştur. Ancak toprak örneğinin alındığı gün dikkate alınırsa, bir önceki örneğin alındığı Mayıs ayındaki tarih ile Haziran ayındaki tarih arasındaki zaman aralığında toprağın aldığı yağış 91.40 mm (iki örnek alımı arasında düşen toplam yağış) olarak gerçekleşmiştir. Dolayısıyla yıl boyunca yapılan örneklemelerde toprak nemi en fazla Haziran ayındaki örnekleme tarihinde ortaya çıkmıştır. Bunun yanısıra aynı dönemde ortalama sıcaklık da *P. citrophthora* ' nın optimum gelişme sıcaklığı olan 25° C' ye çok yaklaşmış olup 24.5° C olarak gerçekleşmiştir. Tüm bunlar *P. citrophthora* ' nın topraktaki populasyonunun en yüksek değere ulaşması için uygun koşulları oluşturmuştur. Temmuz ayında örnek alındığı gün toprağın 1 ay süreyle aldığı yağış 1 mm iken yağışlar örnek alımından sonra olmuş ve Temmuz ayındaki toplam yağış miktarı Çizelge 4' de 55.2 mm olarak yer almıştır. Aylık ortalama sıcaklık da bu aydan itibaren yükselmeye başlamış ve yaz boyunca da yüksek derecelerde seyretmiştir. Bu nedenle de Temmuz ve Ağustos aylarındaki populasyon düşüşlerini buna bağlamak mümkündür. Şıhmurat' da ise hem Haziran ve hem de Temmuz örneklemelerinin her ikisi de bahçe sulamalarını izleyen günlerde gerçekleştiğinden bu bahçede her iki ayda da inokulum düzeyi çok yüksek çıkmıştır. Yapılan birçok benzer çalışma sulamadan hemen sonra yapılan örneklemelerin sulamadan önceki duruma göre inokulumda önemli artışlar ortaya çıkardığına ilişkin sonuçlar vermektedir (IANNOV ve GROGANE, 1977; TIMMER

Çizelge4. Adana ve Erdemli' ye ait bazı iklim verileri

İklim Değerleri	Yer	1993 Ocak	1993 Şubat	1993 Mart	1993 Nisan	1993 Mayıs	1992 Haziran	1992 Temmuz	1992 Ağustos	1992 Eylül	1992 Ekim	1992 Kasım	1992 Aralık
Aylık ort. Sıcaklık	Adana Erdemli	9.3 9.1	9.4 8.7	12.9 11.4	17.5 15.9	20.3 19.2	24.5 22.9	26.7 25.6	28.5 26.6	25.4 23.9	22.3 19.6	5.0 14.6	8.6 8.9
26-28° C sıcaklık içeren gün sayısı	Adana Erdemli	- -	- -	- -	- -	1 -	5 -	20 14	11 27	11 7	- -	- -	- -
15-30° C sıcaklık içeren gün sayısı	Adana Erdemli	- -	1 -	8 3	24 15	30 30	30 30	31 31	31 31	30 30	31 31	14 12	- -
30° C üzerindeki gün sayısı	Adana Erdemli	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -
36° C üzerindeki gün sayısı	Adana Erdemli	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -
15° C altındaki gün sayısı	Adana Erdemli	31 31	27 26	24 28	5 15	1 -	- -	- -	- -	- -	- -	17 18	31 31
4° C altındaki gün sayısı	Adana Erdemli	- -	2 2	- -	- -	- 1	- -	- -	- -	- -	- -	- -	2 1
Toplam yağış (mm)	Adana Erdemli	82.1 52.5	43.4 55.3	62.3 126.7	17.0 22.8	101.7 41.6	40.5 23.8	55.2 1.6	- 5.0	3.2 -	9.7 0.1	218.3 139.7	190.9 186.5
Yağışlı gün sayısı	Adana Erdemli	10 8	11 10	9 6	10 4	13 12	8 5	2 3	- 1	1 -	1 1	7 8	10 11
Ort. bağıl nem (%)	Adana Erdemli	62.4 65.5	55.8 63.2	59.9 66.0	65.5 70.0	76.3 77.5	69.0 77.0	63.9 74.4	68.0 71.1	57.9 60.7	65.8 71.5	60.2 59.2	69.3 66.2

ve Ark., 1988; MAGNANO ve Ark., 1990; LUTZ ve MENGE, 1991). Eylül ve Ekim aylarındaki hava sıcaklığının düşmeye başlamasıyla birlikte az da olsa yağışın alınması inokulumu biraz olsun artırmıştır. Kasım ayı ortalarına kadar yağışın çok oluşu (218.3 mm) inokulum artışını devam ettirmiş, ancak inokulumdaki bu artış sıcaklığın düşmesiyle birlikte son bulmuştur. Nitekim Ocak-Mayıs arasındaki dönemde fungus bu nedenlerden dolayı çok düşük inokulum düzeylerinde saptanmıştır.

Bu gibi iklimsel değerler Erdemli için söz konusu olduğunda Mayıs ayı toplam yağış 41.6 mm görülürken örnek alımı yağışın 19.7 mm olduğu anda gerçekleşmiştir. Bu tarihte ortalama sıcaklık ise 19.2°C olup etmen için optimum sıcaklığın oldukça altında gerçekleşmiştir. Oysa Haziran ayı örnek alımı 23.8 mm' lik bir yağış gerçekleştikten sonra olmuş ve sıcaklık ise 22.9° C' ye yükselmiştir. Bu nedenle de Haziran ayındaki inokulum düzeyi Mersin' deki bahçelerde de yüksek değerlere ulaşmıştır. Temmuz ve Ağustos aylarında ise yağış çok azalmış ve sıcaklık da yükselmeye başlamıştır. Bunun yanısıra örnek alımı da yağmurlardan önceki tarihlerde yapılmıştır. Kasım ve Aralık aylarındaki yağışlar çok olmasına rağmen bu kez de sıcaklığın çok düşük seyretmesi topraktaki inokulumun azalan değerler vermesine neden olmuştur. İnokulumdaki bu düşüş Mayıs ayına kadar devam etmiştir.

MAGNANO ve Ark. (1988)' nın Sicilya' da yaptıkları benzer bir çalışmada *P. citrophthora* ' nın topraktaki popülasyonu yaz aylarındaki aşırı sıcakların kaybolmaya başladığı dönemlerde bir artış, buna karşın geç sonbahar ile yaz ortası arasındaki dönemde ise her zaman bir düşüş göstermiş olup, mevsimsel değişimlerin toprak sıcaklığına ve toprak nemine bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Gerek bu çalışmada ve gerekse literatürde görüldüğü gibi topraktaki inokulum artışının yağış miktarı, örneklemenin yapıldığı dönemdeki toprak nemi ve etmen için uygun olan sıcaklık gibi iklimsel faktörler ile ilişkili olduğu söylenebilir. Ancak TIMMER ve Ark. (1989)' nın Florida' daki turuncgil bahçelerinde *P. parasitica* ' nın topraktaki popülasyon dalgalanmalarını incelediği bir çalışmada daha farklı bulgular elde edilmiştir. Söz konusu bu çalışmada yıl boyunca Ocak-Şubat, Mart-Nisan, Mayıs-Haziran,

Çizelge 5. Çalışmanın yürütüldüğü limon bahçelerinin toprak analiz sonuçları

Yer	Derinlik (cm)	PH	Tuz (%)	CaCO ₃ (%)	K ppm	P ₂ O ₅ kg/da	Org. Md. (%)	Bünye	Kum (%)	Silt (%)	Kil (%)
Tömük	0-30	7.30	0.052	18.73	210	2.92	1.63	Killi	24.58	23.12	52.30
	30-60	7.45	0.080	4.2	190	9.35	1.13	Killi	16.17	16.82	61.01
Davultepe	0-30	7.36	0.050	61.90	300	1.73	1.51	Kil.-Tınlı	30.89	29.43	39.68
	30-60	7.13	0.040	78.70	130	1.91	0.95	Kil.-Tınlı	30.89	31.53	37.58
Yakapınarı	0-30	7.46	0.052	35.36	220	1.25	0.73	Killi	20.37	27.33	52.30
	30-60	6.84	0.070	31.92	180	3.99	0.83	Killi	20.37	25.23	54.40
Kale	0-30	6.95	0.098	33.34	400	1.62	2.14	Killi	26.68	25.23	48.09
	30-60	6.95	0.060	32.67	240	6.22	1.31	Killi	26.68	29.43	48.39
Şihmurat	0-30	7.44	0.052	15.28	400	2.61	1.27	Kil.-Tınlı	30.89	31.53	37.58
	30-60	7.43	0.060	19.15	250	5.62	1.21	Killi	11.97	35.73	52.30
Büyük Kaplı	0-30	7.38	0.043	27.21	840	2.04	1.15	Tınlı	22.48	50.45	27.07
	30-60	7.39	0.052	28.05	840	3.29	0.75	Siltli-Tınlı	14.07	58.86	27.07

Temmuz-Ağustos, Eylül-Ekim, Kasım-Aralık aylarında yapılan 5 örneklemede bahçe topraklarının ortalama değerleri aylara göre sırasıyla propagül/cm³ toprakta 24.4, 15.1, 23.7, 25.4 ve 16.6 olmuştur. Elde edilen 3 yıllık veriler arasında ise yıllara göre farklılık saptanmıştır. Bu sonuçlara dayanarak araştırmacılar mevsimsel değişmelerin toprak sıcaklığı ve nem gibi faktörlerin yıl boyunca yapılan örneklemeelerde elde edilen propagül yoğunluğuna etki etmediğini, turuncgil bahçelerinde patojenin yoğunluğunu saptamak için mevsime bağlı kalmaksızın yıl içinde herhangi bir dönemde örnekleme yapılabileceğini, ancak populasyon düzeyinin yıllara göre bir farklılık oluşturabildiğini, propagüllerin bahçe içerisindeki dağılımlarının çok değişkenlik gösterdiğini ve belirli bölgelerde kümelandığını bildirmişlerdir.

Bahçelere ait toprak analiz sonuçlarının verildiği Çizelge 5 incelendiğinde Kale ve Yakapınarı toprak pH'ının biraz düşük olmasına karşın, tüm bahçe topraklarının nötr pH'ya ve bazik özelliğe yaklaştığı görülmektedir. *P. citrophthora* 'nın in vitroda optimum pH isteği ise 6' dır (GÖKSEDEF, 1980). Tüm bahçelerde *P. citrophthora* 'nın ortaya çıkmasını engelleyecek bir pH derecesi böylece görülmemektedir. EL FAHL ve CALVERT (1976) yaptıkları bir çalışmada genel olarak pH yükseldikçe *Phytophthora* spp.'den kaynaklanan enfeksiyon şiddetinde bir artış ortaya çıktığını ve bu nedenle toprağa sülfür karıştırılarak pH düşürüldüğünde hastalık kontrolünün sağlanabileceği ileri sürülmüştür. BINGHAM ve Ark. (1954)'da pH'ının düşmesine bağlı olarak hastalığın azaldığına dair bulgular elde etmişlerdir.

Tuzluluk yönünden incelendiğinde ise % tuz oranlarına göre tüm bahçeler % 0.00-0.15 sınırları arasındaki değerlere sahip olduğundan tuzsuz toprak (GEDİKOĞLU, 1990) sınıflamasına girmekle birlikte, bu oran Kale' de % 0.098 ile diğerlerine göre en yüksek değeri almıştır. Kale toprağındaki inokulum düzeyleri düşüktür. Tuzluluğun *Phytophthora* spp.'ne karşı etkisi üzerinde yapılan çalışmalarda birbirine ters düşen bulgular söz konusudur. Bir grup araştırmacı yüksek tuzluluğun *P. cinnamomi* 'yi olumsuz etkilediğini (ANDERSEN, 1951; BINGHAM ve Ark., 1958) bildirirken, APPLE (1961) ve McCARTER (1965) tuzluluğun etmeni *P. parasitica* var. *nicotianae* olan Tütün çiçek sap çürüklüğünü, SULISTYOWATI ve Ark. (1992) *P. citrophthora* 'nın

dan kaynaklanan gövde çürüklüğünü arttırdığını, ancak bunun doğrudan doğruya tuzun patojene olan olumsuz etkisinden kaynaklanmayıp, konukçunun tuzluluk nedeniyle dayanıklılığının azalması sonucu gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Tüm bahçelerde kireç oranları karşılaştırıldığında en yüksek değer Davultepe' de % 61.9 olarak görülmüştür. Ancak Davultepe' deki *Phytophthora* popülasyonu ile diğer bahçelerdeki *Phytophthora* popülasyonu arasında topraktaki kireç oranı nedeniyle ortaya çıkan belirgin bir fark olmadığı görülmektedir. Ancak literatürde yüksek Ca' un hastalığın artmasına neden olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (WILLS ve MOORE, 1969; MUCHOVEJ ve Ark., 1980). Bilindiği gibi Akdeniz bölgesi toprakları kireç yönünden zengindir. Bu husus daha önceki çalışma sonuçlarına göre *P. citrophthora* infeksiyonlarını teşvik eder gözükmektedir. Bölgede bu hastalığın yaygın olma nedenlerinden biri de bu faktör olabilir.

Topraktaki K oranı açısından çalışmanın yürütüldüğü bahçeler arasında bazı farklılıklar olduğu göze çarpmaktadır. Büyük Kapılı' daki bahçede K oranı 840 ppm ile en yüksek, Tömük' de ise 210 ppm ile en düşük saptanmıştır. Ancak tüm bahçeler eşik değer olan 120 ppm' den daha yüksek bir değer içerdiğinden K oranı yüksek olarak değerlendirilebilir (ÜLGEN ve YURTSEVER, 1988). Hastalıklı olarak seçilen bu iki bahçedeki *P. citrophthora* popülasyonu irdelenecek olursa önemli bir fark görülmemektedir. Ancak BINGHAM ve Ark. (1958) K' ın *Phytophthora* ' nın gelişimine olumlu yönde etki ettiğine ilişkin bulgular ortaya koymuşlardır. Bu gibi laboratuvar çalışmalarında ortaya konulan ilişkiler, birçok faktörün birarada bulunduğu doğa koşullarında her zaman aynı şekilde gerçekleşmemektedir. Topraktaki P miktarı açısından deneme bahçelerindeki topraklar arasında çok büyük farklılıklar görülmemektedir (Çizelge 5). Bahçeler P oranları açısından ise 1.1-2.0 için çok düşük, 2.1-3.0 için düşük (ÜLGEN ve YURTSEVER, 1988) sınırlarına girdiğinden hepsi P bakımından düşük oranlar vermiştir.

Deneme bahçeleri ise organik madde yönünden değerlendirildiğinde oranların birbirine çok yakın olduğu görülmekle birlikte Kale' de bu oran % 2.14 ile diğerlerine göre biraz daha yüksek olup, bunu % 1.63 ile Tömük, % 1.51 ile Davultepe izlemiştir. GEDİKOĞLU (1990)' nun da bildirdiği gibi topraktaki % organik madde % 1.0 ise çok

düşük, % 1.0-2.0 ise düşük, % 2.0-3.0 ise orta kabul edilmektedir. Bu çalışmada organik madde içeriği açısından deneme bahçeleri arasında önemli farklılıklar görülmediğinden hastalığın inokulum düzeyi açısından bir yorum yapılamamış olmakla birlikte, BROADBENT (1977) yüksek organik madde içeren toprakların *P. citrophthora* 'nın sporangium üretimini ve zoospor boşalmasını azalttığını, TSAO (1977) ise hastalığın baskı altında tutulduğu toprakların yüksek oranda organik madde içerdiğini ve bu topraklarda çok sayıda bakteri ve aktinomiset barındığı, bunların da *Phytophthora* kök çürüklüğünü azalttığını bildirmişlerdir.

Bahçelerden Büyük Kapılı siltli-tın bünye verirken diğerleri yüksek kil oranlarına sahiptir. Yalnız Davultepede kil oranı biraz düşük olup killi-tın bünye göstermiştir. Tüm bahçe toprakları *P. citrophthora* 'nın gelişmesini sağlayacak yapıda olup kil oranı arttıkça bu ortam fungus açısından daha da iyileştirilmiş olmaktadır. WESTE (1983)'nin bildirdiğine göre toprak altındaki kaya ya da kil tabakası drenajı engelleyen yapılar oluşturur ki, bu da çok kısa süren yağmurlarda toprağın su ile doymasını ve zoosporların yayılmasını kolaylaştırır. Aynı araştırmacıya göre, zoosporların kök bölgesine hareketi toprak yapısına bağlı olup, toprak porlarının büyüklüğü toprak içerisindeki suyun kolayca hareket edebilmesini ve dolayısıyla da zoosporların taşınmasını kolaylaştırır.

Sonuç olarak *P. citrophthora* 'nın topraktaki dağılımıyla yağış miktarı, örneklemenin yapıldığı dönemdeki toprak nem içeriği ve etmen için uygun olan sıcaklık isteği arasında yakın bir ilişki olduğu görülmektedir. Bunun yanısıra literatür bilgileri ışığında toprağın bünyesi, içerdiği organik - inorganik maddeler ve pH 'nın da etmenin popülasyonunu etkileyebileceği düşünülebilir.

4.2.2. Birim Hacimdeki Propagül Sayısı İle Hastalık Çıkışı Arasındaki İlişkinin % Kök Enfeksiyonu Olarak Saptanması

a. Aynı inokulumun değişik uygulamalarla verilerek yapılan kök inokulasyon sonuçları % Kök enfeksiyon değerleri olarak Çizelge 6' da verilmiştir. Çizelge 6 incelendiğinde % 11 Kök enfeksiyonu ve 22 p/cm³ toprak inokulum yoğunluğu ile en yüksek değerler 18 SKD+İ uygulamasında görülmektedir. Onu % 8 Kök enfeksiyonu ve 16 p/cm³ toprak inokulum yoğunluğu ile 8 SKD+İ izlemiş olup, en düşük değerler % 5 Kök enfeksiyonu ve 10 p/cm³ toprak inokulum yoğunluğuyla 8 SKD

Çizelge 6. Kaba limon çöğürlerine uygulanan kök inokulasyonları

Uygulama		Tekerrür					Ortalama
		1	2	3	4	5	
8 SKD	% Kİ	5	10	5	0	5	5.0
	p/cm ³ top.	10	20	10	0	10	10.0
18 SKD	% Kİ	15	5	0	5	10	7.0
	p/cm ³ top.	20	10	10	20	20	16.0
8 SKD+İ	% Kİ	5	10	5	10	10	8.0
	p/cm ³ top.	10	20	10	20	20	16.0
18 SKD+İ	% Kİ	15	10	10	10	10	11.0
	p/cm ³ top.	40	10	20	30	10	22.0
İ	% Kİ	10	5	5	5	0	5.0
	p/cm ³ top.	30	10	10	20	0	14.0
K	% Kİ	0	0	0	0	0	0.0
	p/cm ³ top.	0	0	0	0	0	0.0

% Kİ= % Kök infeksiyonu

p/cm³ top. = Propagül/ cm³ toprak

8 SKD= 8 saat kök inokuluma daldırılmıştır.

18 SKD= 18 saat kök inokuluma daldırılmıştır.

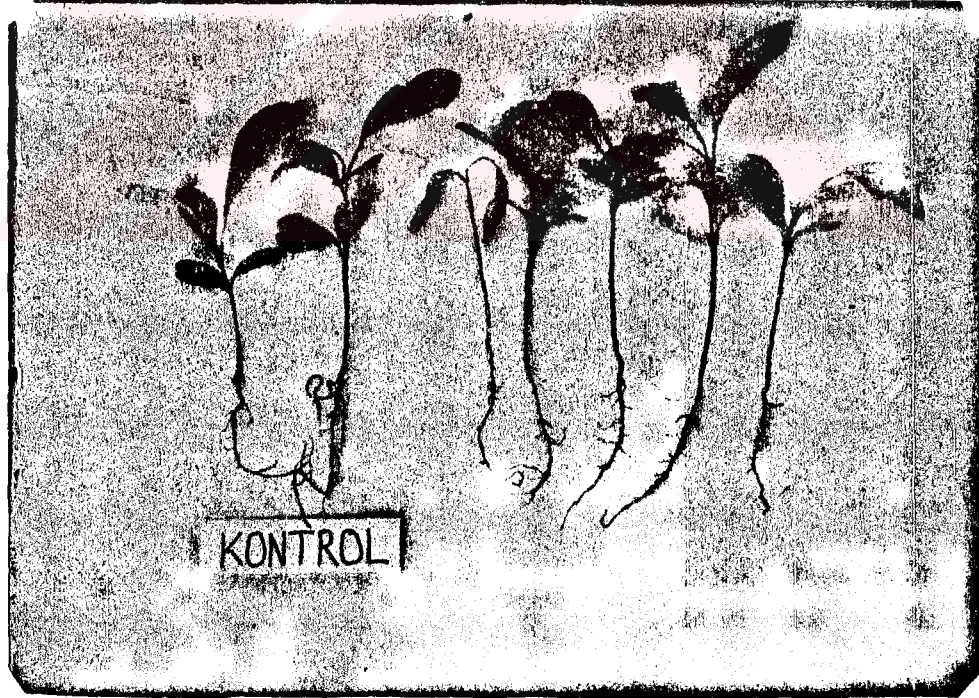
8 SKD+İ= 8 saat kök inokuluma daldırılmış ve kök bölgesine inokulum verilmiştir.

18 SKD+İ= 18 saat kök inokuluma daldırılmış ve kök bölgesine inokulum verilmiştir.

İ= Kök bölgesine inokulum verilmiştir.

K= Kontrol (Kökler suda bekletilmiş ve kök bölgesine su verilerek şaşırtılmıştır).

uygulamasında alınmıştır. Kök inokulasyonunda en başarılı uygulamanın 18 SKD+I uygulamasıyla gerçekleşmesi bekleniler sonuçtur. Çünkü bu uygulamada kökler 18 saat gibi uzun bir süre inokuluma daldırılmış ve ayrıca saksıya aşırtılırken kök bölgesine inokulum verilmiştir. Dolayısıyla kökler daha fazla süre ve sayıda zoospor ile temasta kalmıştır. Nitekim köklerin sökülerek değerdendirmenin yapılacağı anda çalışılan toprak izolasyonlarında saptanan 22 p/cm^3 toprak yoğunluğu % 11' lik bir kök infeksiyonunu sonuçlayacak düzeyde olmuştur. Benzer şekilde TIMMER ve Ark. (1988)' da Florida ve Kaliforniya' daki turunçgil bahçelerinde yaptıkları bir çalışmada da topraktaki $10-20 \text{ p/cm}^3$ lük bir *Phytophthora* populasyonunun kök çürüklüğüne neden olduğunu bildirmişlerdir.



Resim 3. Kaba limon öğürlerinde kök ürüklüğü

b. Geç sonbahar ve ilkbahar yağışlarından yararlanılarak 2 farklı dönemde toprakta bulunan inokulum yoğunluğu ile kök infeksiyonu arasındaki ilişkinin saptanması amacıyla yapılan çalışma sonuçları Çizelge 7' de yer almıştır. Çizelge 7 ve iklim verilerinin yer aldığı Çizelge 4 birlikte incelenecek olursa, Aralık ve Ocak aylarında düşen toplam yağış miktarlarının çok yüksek olmasına karşın sıcaklığın 8-9° C civarında oluşu fungusun gelişmesi için uygun olmadığından topraktaki inokulum düzeyleri Şihmurat ve Yakapınarı dışında düşük olmuştur. Ancak bu aylarda Adana yöresinde bulunan Şihmurat ve Yakapınarı bölgelerinde inokulumun Aralık ayında yüksek olması bu kesimlerde sıcaklıkların bir süre daha yüksek olması ile açıklanabilir. Aralık ayında fungus gelişmesi için uygun olan sıcaklıklar bahçelere bırakılan kaba limon fidanlarının ince köklerinde infeksiyon oluşturmaları için yetersiz kalmıştır. Nitekim optimum koşulların yaratıldığı kontrollü koşullarda kök infeksiyon oranları bu bahçelere ait toprakları içeren saksılarda bulunan fidanlarda hemen yükselmiştir.

Çizelge 7' de sunulan sonuçlar incelenirken özellikle birim topraktaki propagül sayısı, kök yüzeyindeki propagül sayısı, arazi koşullarında adı geçen aylardaki kök infeksiyon oranı ve bu topraklarda kontrollü koşullarda oluşan kök infeksiyon oranı gibi patojen inokulum düzeyi ile kök infeksiyon oranı arasındaki ilişkiyi ortaya koyabilecek ve baştan planlanarak elde edilen verileri iyi değerlendirmek gereklidir. Tüm çalışma boyunca vurgulandığı gibi kök infeksiyonlarını etkileyen çok sayıda canlı ve cansız faktör bahçe topraklarında mevcuttur. Buna rağmen toprak sıcaklığı ve su düzeyi kök infeksiyonlarını yöneten temel faktörlerdir. Bu nedenle geç sonbahar (Aralık-Ocak) ve ilkbahar aylarında (Nisan-Mayıs) yapılan bu denemede yukarıdaki iki temel faktörün göz önünde tutulması gerekir.

Deneme yapılan bahçelerde etmenin aylara göre topraktaki populasyon düzeyini gösteren Şekil 1 incelendiğinde sonbahar aylarında etmen populasyonu genelde Kasım ayında meydana gelmiş, ancak Yakapınarı ve Şihmurat bölgelerinde ise bu artış Aralık ayında ortaya çıkmıştır. İlkbahar aylarında ise bu artış görülmemiş, esas artış Haziran ayında ortaya çıkmıştır. Bu açıdan yukarıdaki ilişkiyi araştırmak için önceden belirlenen Aralık-Ocak ve Nisan-Mayıs periyotları maalesef

Çizelge 7. Sonbahar ve İlkbahar dönemlerinde bahçe topraklarındaki *Phytophthora citrophthora* 'nın inokulum düzeylerine göre % kök infeksiyonları

Bahçeler	AğaçNo	ARALIK Toprak Kök p/cm ³ p/g	OCAK Toprak Kök p/cm ³ p/g	ARAZİ KOŞUL. %Kök inf.	KONTR.KOŞUL. %Kök inf.	KONTROL %Kök inf.	NİSAN Toprak Kök p/cm ³ p/g	MAYIS Toprak Kök p/cm ³ p/g	ARAZİ KOŞUL. %Kök inf.	KONTR.KOŞUL. %Kök inf.	KONTROL %Kök inf.
B.Kapılı	1	4	2	0	15	0	2	6	5	10	0
	2	10	4	5	10	0	2	8	15	5	0
	3	8	2	0	0	0	4	4	5	10	0
	Ort.	7.33	2.66	1.66	8.33	0.00	2.66	6.00	8.33	8.33	0.00
Davultepe	1	24	10	0	5	0	2	4	5	10	0
	2	8	4	0	10	0	2	8	10	15	0
	3	8	6	0	10	0	0	6	0	5	0
	Ort.	13.33	6.66	0.00	8.33	0.00	1.33	6.00	5.00	10.00	0.00
Tömük	1	8	8	10	5	0	4	6	0	10	0
	2	4	4	5	5	0	2	8	0	5	0
	3	8	4	0	5	0	2	8	10	5	0
	Ort.	6.66	5.33	5.00	5.00	0.00	2.66	7.33	3.33	6.66	0.00
Şihmurat	1	50	2	0	5	0	2	6	10	15	0
	2	56	4	0	25	0	0	2	10	10	0
	3	48	4	0	15	0	4	4	15	20	0
	Ort.	51.33	3.33	0.00	15.00	0.00	2.00	4.00	11.66	15	0.00
Yakapınarı	1	20	14	0	15	0	2	4	25	15	0
	2	36	12	0	25	0	0	6	30	25	0
	3	54	14	15	30	0	0	6	20	10	0
	Ort.	36.66	13.33	5.00	23.33	0.00	0.66	5.33	25.00	16.00	0.00
Kale	1	6	4	0	10	0	0	4	0	15	0
	2	6	2	0	5	0	0	4	0	5	0
	3	4	4	0	0	0	0	2	0	20	0
	Ort.	5.33	3.33	0.00	5.00	0.00	0.00	3.33	0.00	13.33	0.00

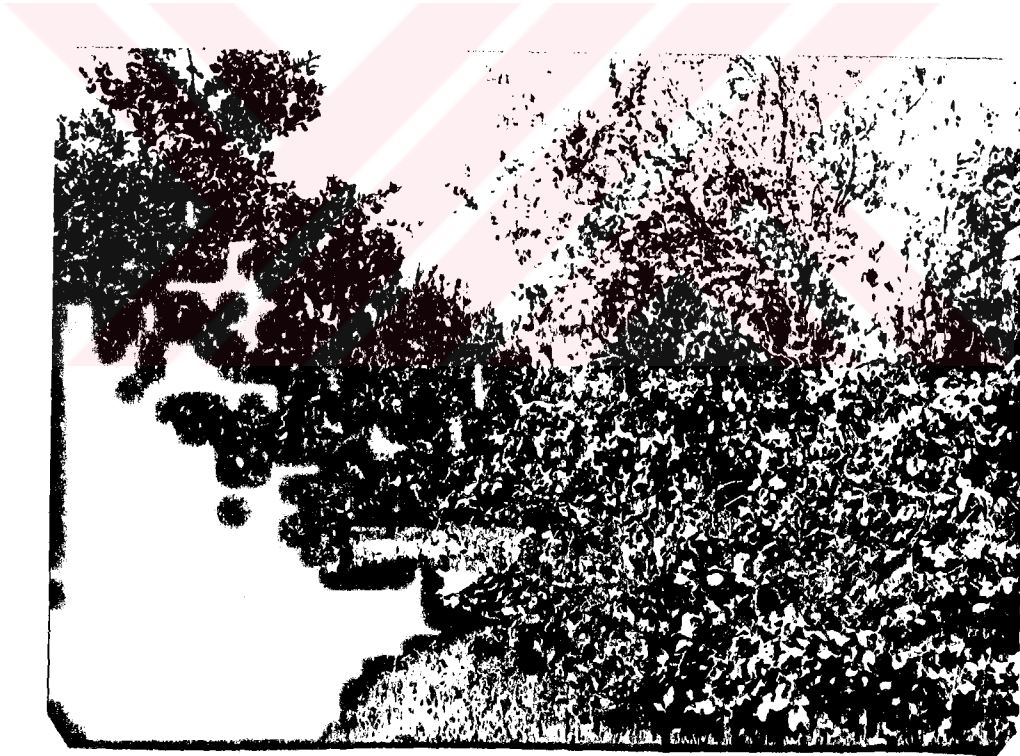
pek isabetli olmamıştır. Ancak bu olumsuzluğa rağmen, bahçe topraklarının inokulum düzeyleri ile arazi ve kontrollü koşullarda oluşan kök infeksiyon oranlarının verildiği Çizelge 7 verilerinden bazı sonuçların ortaya konulması mümkündür.

TIMMER ve GRAHAM (1990) bir çalışma sonucuna dayanarak turuncgil bahçelerinde cm^3 toprakta 5 propagül için düşük, 5-15 için orta, 15' den fazla ise yüksek populasyon kabul edilebileceğini, cm^3 ' de 10-15 propagül bulunması halinde kök çürüklüğünün % 20-40 oranında olacağını vurgulamışlardır. Bu hususda göz önünde tutularak Çizelge 7 sonuçları irdelendiğinde, Büyük Kapılı' daki bahçede Aralık ayında cm^3 toprakta 7.33 propagül bulunurken, kök yüzeyinde herhangi bir etmen birimine rastlanmamıştır. Ocak ayında topraktaki propagül sayısı 2.66 değerine gerilerken, kök yüzeyinden yine herhangi bir sonuç elde edilememiştir. Bu dönemde arazi koşullarında bırakılan kaba limon köklerinden ancak % 1.66 oranında bulaşma olmuştur. Aynı toprakların kullanıldığı kontrollü koşullardaki saksı denemelerinde ise kök infeksiyon oranı hızla artarak % 8.33 gibi yüksek bir değere çıkmıştır. Aralık ayındaki 7.33 p/ cm^3 etmen değeri, TIMMER ve GRAHAM (1990)' a göre, orta derecede bir bulaşıklığı ifade etmektedir. Ancak aynı bulaşıklık kök yüzeyinde bulunamadığı için patojenin infeksiyon şansı oldukça azalmış ve arazi koşullarında % 1.66 gibi bir infeksiyon oranı sonuçlanmış ve aynı toprak kontrollü koşullarda % 8.33 gibi artan bir kök infeksiyon oranı vermiştir.

O halde, *P. citrophthora* 'nın topraktaki propagül sayısı ile kök infeksiyon oranları arasındaki ilişki aranırken, toprak sıcaklığının yetersiz olduğu aylarda kök yüzeyi bulaşıklık oranının da göz önünde tutulması gerektiği söylenebilir. Nitekim Çukurova bölgesinde toprak sıcaklıklarının arttığı Mayıs ayında toprakta 6 p/ cm^3 değerinde etmen bulunması ile arazi koşullarında % 8.33 oranında kök infeksiyonuna aynı bahçede ulaşabilmektedir.

Davultepe' deki bahçeden elde edilen veriler, özellikle Aralık-Ocak aylarında ilginç sonuçlar göstermiştir. Etmen popülasyonu toprakta 13.33 p/ cm^3 , köklerde 26.66 p/ cm^3 gibi yüksek değerlerde iken arazi koşullarında kök infeksiyon oranı % 0' dır. Bu sonuçları etmenin bitkiyi infekte etmesi için gerekli sıcaklığın bulunmamasına ve

ağaçların bu aylarda fizyolojik aktivitelerini durdurması nedeniyle enfeksiyona olanak vermemesi olasılığına bağlayabiliriz. Bu güne kadar yapılan çalışmalarda etmen enfeksiyonu ile ağacın fizyolojik aktivitesi arasındaki ilişkiyi inceleyen bir araştırma sonucu bulunamadığı için bu husus bir olasılık olarak burada yalnızca vurgulanmıştır. Ancak toprak sıcaklığı ile enfeksiyonun oluşabilmesi için belirli bir sıcaklık isteğinin bulunduğuna kuşku yoktur. Ayrıca Çizelge 4' de verilen iklim verileri bölge meteoroloji istasyonlarından alınmıştır. Ancak değişik yerlerde bulunan bahçelerin iklim verileri arasında önemli sapmaların bulunabileceği büyük bir olasılıktır.



Resim 4. Kök çürüklüğü gösteren limon ağacının genel görünüşü

4.3. Biyolojik Mücadele İle İlgili Çalışmalar

4.3.1. Toprak ve Kök Yüzeyindeki Antagonistlerin Saptanması

P. citrophthora 'ya antagonist etki gösterecek fungus ve bakteri izolatlarını elde etmek amacıyla, sağlıklı görünen ağaçların seçildiği, ancak *P. citrophthora* ile bulaşık ağaçlarında bulunduğu Büyük Kapılı' daki turunçgil bahçesinden, tümüyle sağlıklı görünen ağaçlardan kurulu Yakapınarı' ndaki turunçgil bahçesinden ve organik maddece zengin olan Karabucak ormanından kök ve toprak örnekleri alınarak izolasyonlar yapılmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda 19 fungus ve 13 bakteri izolatu elde edilmiştir. Koloniler makroskopik olarak incelenmiş, funguslar için F (F-1, F-2, F-3.....), bakteriler için B (B-1, B-2,.....) kodları verilmiş ve sayımları yapılmıştır. Örnek alınan her bahçede fungus ve bakterilerin toprak ve kök izolasyonlarına göre ayrı ayrı populasyon dalgalanmaları belirlenmiştir. Ayrıca değişik turunçgil bahçelerine rutin olmayan çıkışlar yapılarak daha önce izole edilen bakteri izolatlarından makroskopik olarak farklı olan 5 bakteri izolatu daha elde edilmiş olup, bunlar ROÇ (ROÇ-1, ROÇ-2,....) olarak kodlanmıştır.

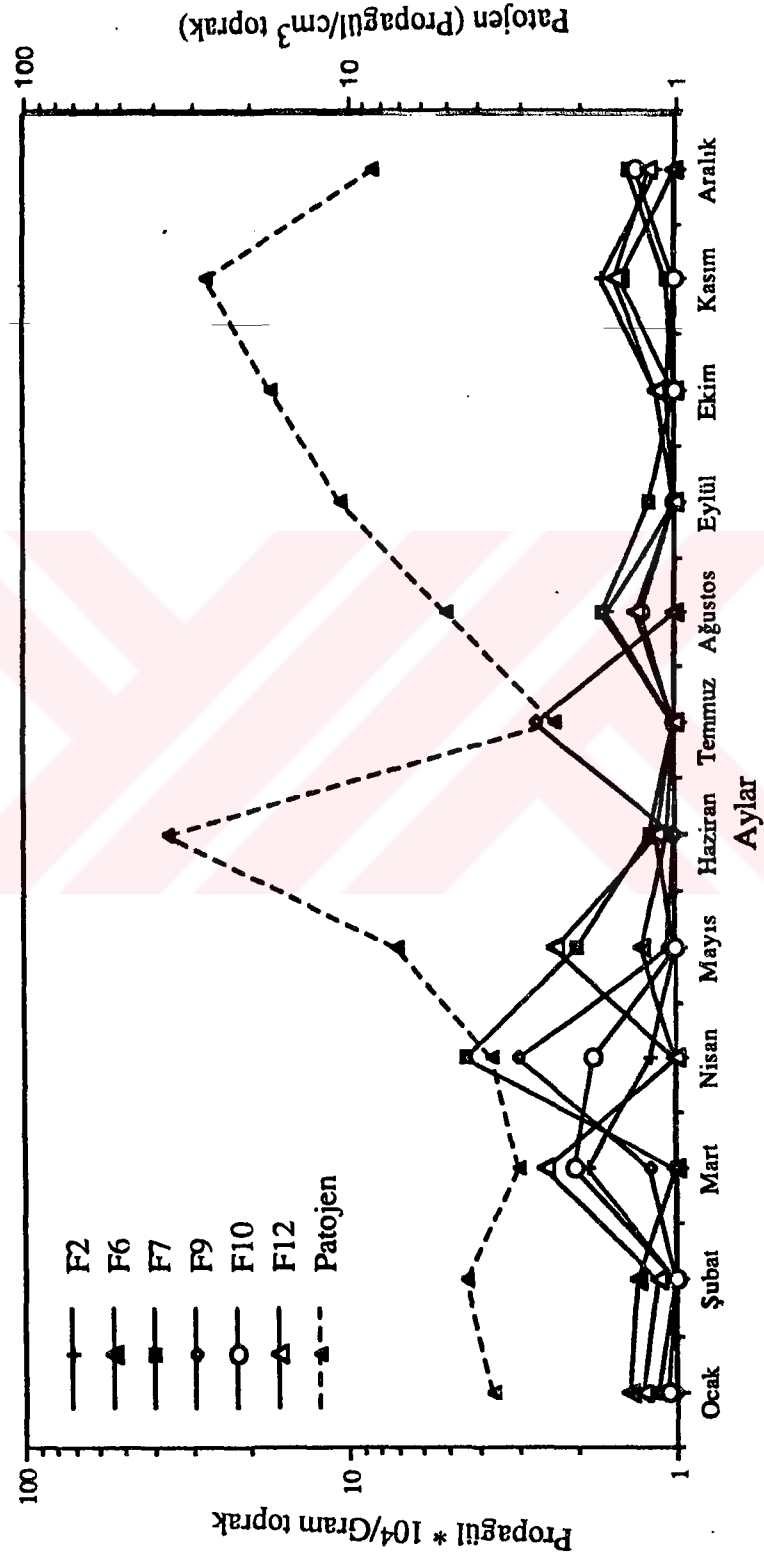
Topraktan izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmalarının verildiği Çizelge 8, Büyük Kapılı' daki turunçgil bahçe toprağından izole edilen antagonist fungusların populasyon dalgalanmalarının gösterildiği Şekil 3 ve iklim değerlerinin verildiği Çizelge 4 birlikte incelendiğinde F-2, F-6, F-7, F-9, F-10, F-12 kodlarıyla anılan antagonist fungusların Ocak-Şubat aylarında toplam 0.85×10^4 /g toprak ve 0.46×10^4 /g toprak populasyon yoğunluğunda olduğu görülmektedir. Bu aylarda ortalama sıcaklıklar 9.3 ve 9.4 ° C, toplam yağış 82.1 ve 43.4 mm olduğundan toplam fungus populasyonu düşük düzeyde seyretmiştir. Mart ve Nisan aylarında ortalama sıcaklığın artmasıyla (12.9 ve 17.5 ° C) ve yağışların devam etmesiyle populasyon yoğunluğu 3.65×10^4 p/ g toprak ve 6.33×10^4 p/ g toprak değerlerine yükselmiştir. Populasyon Mayıs ayında 2.65×10^4 p/ g toprak ile bu düzeyini korurken, Haziran ayından itibaren artan sıcaklıklar populasyonu olumsuz yönde etkilemiştir. Ekim, Kasım ve Aralık aylarında ise çok az farklarla populasyonda biraz artış gözlenmiştir. *P. citrophthora* 'nın pikler yaptığı Haziran ve Kasım aylarında toplam antagonist fungus populasyonu düşük düzeyde bulunurken, Temmuz

ayında patojen popülasyonu en alt düzeyde bulunmasına rağmen antagonist fungus popülasyonunun yine düşük olması iklim faktörlerine bağlanabilir. Bu nedenle Haziran ve Kasım aylarında yağış ve sıcaklık örnek alınan tarihte patojeni olumlu yönde etkilerken, antagonist popülasyon olumsuz etkilenmiştir. Dolayısıyla gerek iklim değerlerinin patojen lehine çalışması, gerekse patojeni baskı altına alabilecek antagonistlerin çok düşük düzeylerde oluşu, patojenin pikler oluşturmaya ortam hazırlamıştır. Ancak Temmuz ayındaki sıcaklığın çok yükselmesine ne patojen ne de antagonist funguslar karşı koyamamış ve popülasyonları düşük düzeylerde saptanmıştır.

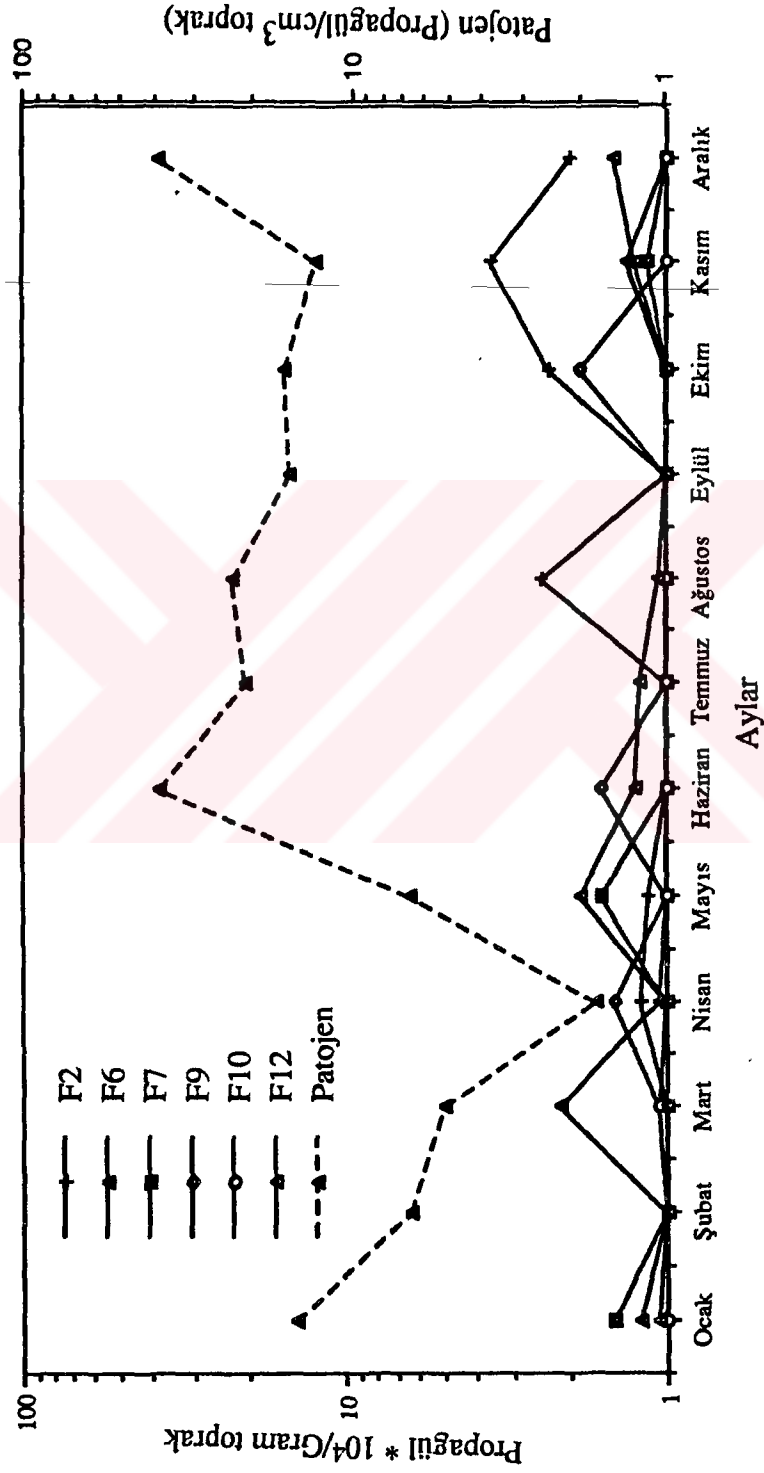
Ancak Şekil 5' de organik maddece zengin Karabucak orman toprağından yapılan izolasyonlarda, bahçe topraklarındaki antifitopatojen potansiyeli artırma yönünde bazı ipuçları elde etmenin mümkün olduğu görülmektedir. Bu şekilde özellikle patojenin arttığı zaman dilimleri içinde artan fungal antagonist sonuçlarına bakmak gerekir. Haziran ayında orman topraklarında artan F-6 ve F-9 fungusları bu ayda bahçe topraklarında düşük değerler vermektedir. O halde bahçe topraklarında bunları olumsuz etkileyen sıcaklık dışında başka faktörler bulunması gerekir. Bunların başında bu topraklarda, orman toprağına göre azlığı düşünülebilecek organik madde gelmektedir. Bu nedenle turunçgil tarımında, dengeli beslenme dışında, bahçe topraklarının antifitopatojen potansiyelini artırmak için çiftlik gübresi ve yeşil gübreleme gibi faktörlerin önemi ortaya çıkmaktadır.

Çizelge 8. Limon bahçe toprağı ile orman toprağından izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları

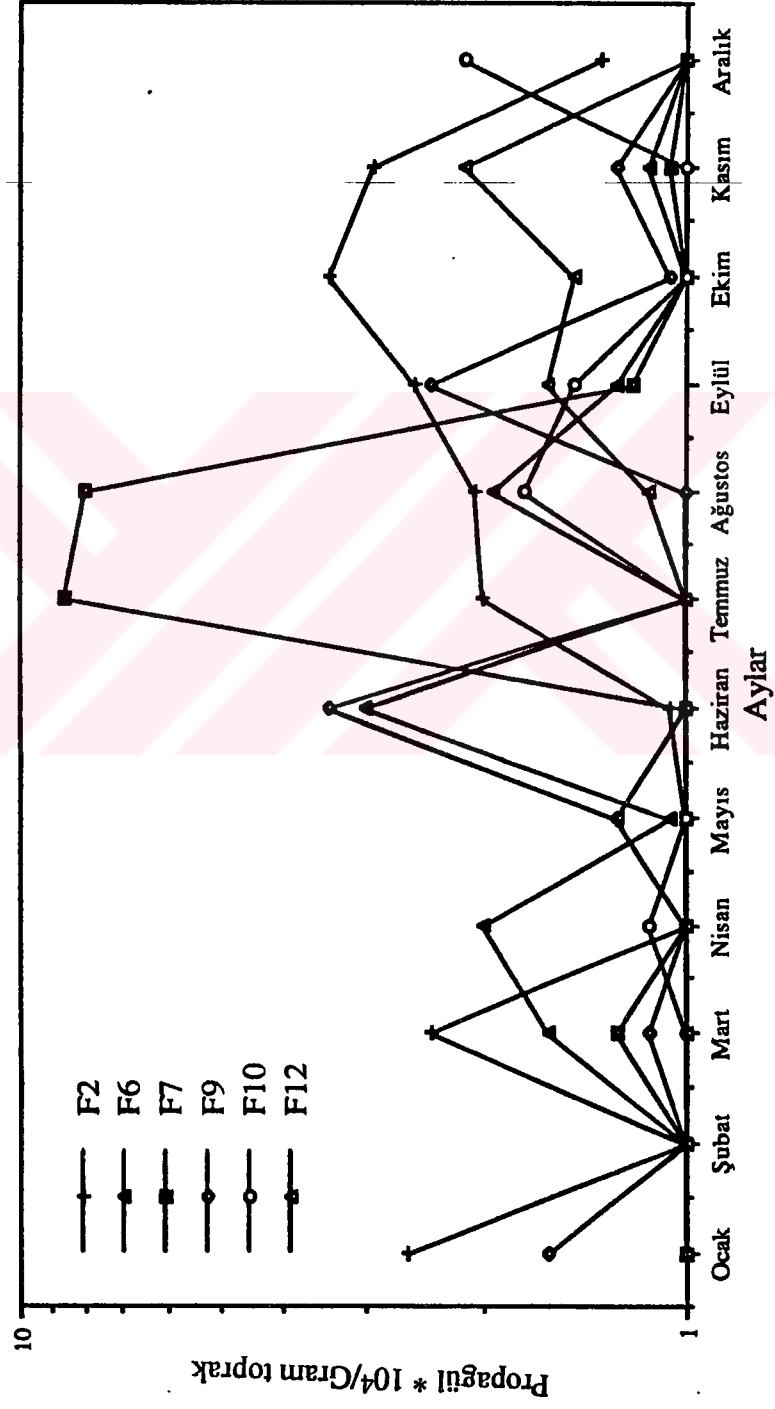
		İzolatlar (Propagül X 10 ⁴ / g toprak)						Prop./cm ³ toprak	
Aylar	Bahçeler	<i>Penicillium</i> sp. F-2	<i>Trichoderma</i> spp. F-6	<i>Aspergillus</i> <i>niger</i> F-7	<i>Rhizopus</i> sp. F-9	<i>Mucor</i> sp. F-10	<i>Aspergillus</i> <i>ochraceus</i> F-12	Toplam	<i>P. citrophthora</i> Patojen
Ocak 1993	B. Kapılı	-	0.40	0.13	-	0.06	0.26	0.85	2.66
	Y.Pınarı	-	0.20	0.46	-	-	0.06	0.72	13.33
	Karabucak	1.60	-	-	0.60	-	-	2.20	
Şubat 1993	B.Kapılı	-	0.33	-	-	-	0.13	0.46	3.33
	Y.Pınarı	-	-	-	-	-	-	-	5.33
	Karabucak	-	-	-	-	-	-	-	
Mart 1993	B.Kapılı	0.86	-	-	0.20	1.06	1.53	3.65	2.00
	Y.Pınarı	-	1.13	-	0.06	0.06	-	1.25	4.00
	Karabucak	1.40	0.60	0.26	0.13	-	-	2.39	
Nisan 1993	B.Kapılı	0.20	-	3.33	2.00	0.80	-	6.33	2.66
	Y.Pınarı	0.20	0.06	-	0.46	-	-	0.72	0.66
	Karabucak	-	1.00	-	-	0.13	-	1.13	
Mayıs 1993	B.Kapılı	-	0.26	1.00	0.06	-	1.33	2.65	6.00
	Y.Pınarı	0.13	-	0.60	-	-	0.86	1.59	5.33
	Karabucak	-	0.06	-	0.26	-	0.26	0.58	
Hazir. 1992	B.Kapılı	-	0.06	0.20	-	0.13	0.13	0.52	34.60
	Y.Pınarı	-	-	-	0.60	-	0.26	0.86	36.66
	Karabucak	0.06	2.00	-	2.40	-	-	4.46	
Tem. 1992	B.Kapılı	-	-	-	1.66	-	-	1.66	1.33
	Y.Pınarı	-	-	-	-	-	0.20	0.20	19.33
	Karabucak	1.00	-	7.60	-	-	-	8.60	
Ağst. 1992	B.Kapılı	0.06	-	0.66	-	0.26	0.33	1.25	4.00
	Y.Pınarı	1.46	-	-	-	-	0.06	1.52	21.33
	Karabucak	1.06	0.93	7.00	-	0.73	0.13	9.85	
Eylül 1992	B.Kapılı	-	-	0.20	-	-	-	0.20	9.33
	Y.Pınarı	-	-	-	-	-	-	-	14.00
	Karabucak	1.53	0.26	0.20	1.40	0.46	0.60	4.45	
Ekim 1992	B.Kapılı	0.13	-	-	0.06	-	0.13	0.32	16.00
	Y.Pınarı	1.33	-	-	0.86	-	-	2.19	14.60
	Karabucak	2.40	-	-	0.06	-	0.46	2.92	
Kasım 1992	B.Kapılı	0.66	0.46	0.06	-	-	0.53	1.71	26.00
	Y.Pınarı	2.53	0.33	0.13	-	-	0.26	3.25	11.30
	Karabucak	1.93	0.13	0.06	0.26	-	1.13	3.51	
Aralık 1992	B.Kapılı	0.13	-	0.40	-	0.33	0.20	1.06	7.33
	Y.Pınarı	1.00	-	-	-	-	0.46	1.46	36.66
	Karabucak	0.33	-	-	-	1.13	-	1.46	



Şekil 3. Büyük Kapılı' daki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları



Şekil 4. Yakapınarı' ndaki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist fungusların ve patojenin popülasyon dalgalanmaları



Şekil 5. Karabucak orman toprağından izole edilen antagonist fungusların populasyon dalgalanmaları

Yakapınarı' ndaki turunçgil bahçesinde topraktan izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmalarının gösterildiği Şekil 4, iklim değerlerinin verildiği Çizelge 4 ve topraktan izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmalarının verildiği Çizelge 8 birlikte incelendiğinde, toplam antagonist fungus populasyonunun iklime bağlı olarak 0.00 ile 3.25×10^4 p/g toprak arasında değiştiği görülmektedir. Görüldüğü gibi patojen populasyonu genelde yıl boyunca yüksek değerler almış ve bahçe topraklarındaki antagonist fungus populasyonu ise düşük düzeyde kalmıştır. Ancak diğer faktörler dışarıda bırakıldığında, düşük antagonist düzeyinin etmeni kontrol etmekten uzak kaldığı sonucu ortaya konabilir.

Şekil 3 ve 4 incelendiğinde görüleceği gibi Büyük Kapılı ve Yakapınarı' ndaki bahçelerde yıl boyunca yapılan toprak izolasyonları sonucunda *P. citrophthora* populasyonunun artışı ve azalışını etkileyecek düzeyde ortak bir antagonist fungus bulunamamıştır.

Karabucak orman toprağından izole edilen antagonist fungusların populasyon dalgalanmalarının verildiği Şekil 5 ve Çizelge 8 birlikte incelendiğinde, antagonist fungus populasyonunun yıl içinde 8 ay boyunca diğer bahçelerden daha yüksek oranlarda seyrettiği görülmektedir. Orman toprağı içerisindeki yüksek organik madde içeriği, antagonist fungus populasyonunun yüksek değerler almasının bir nedeni olarak gösterilebilir. Turunçgil bahçesi olmadığından *P. citrophthora* izolasyonları Karabucak' dan alınan örneklerden yapılmamıştır. Buranın deneme yeri olarak seçilmesinin asıl amacı organik maddece zengin oluşu ve böylece farklı antagonistleri yakalama şansını yaratmasıdır.

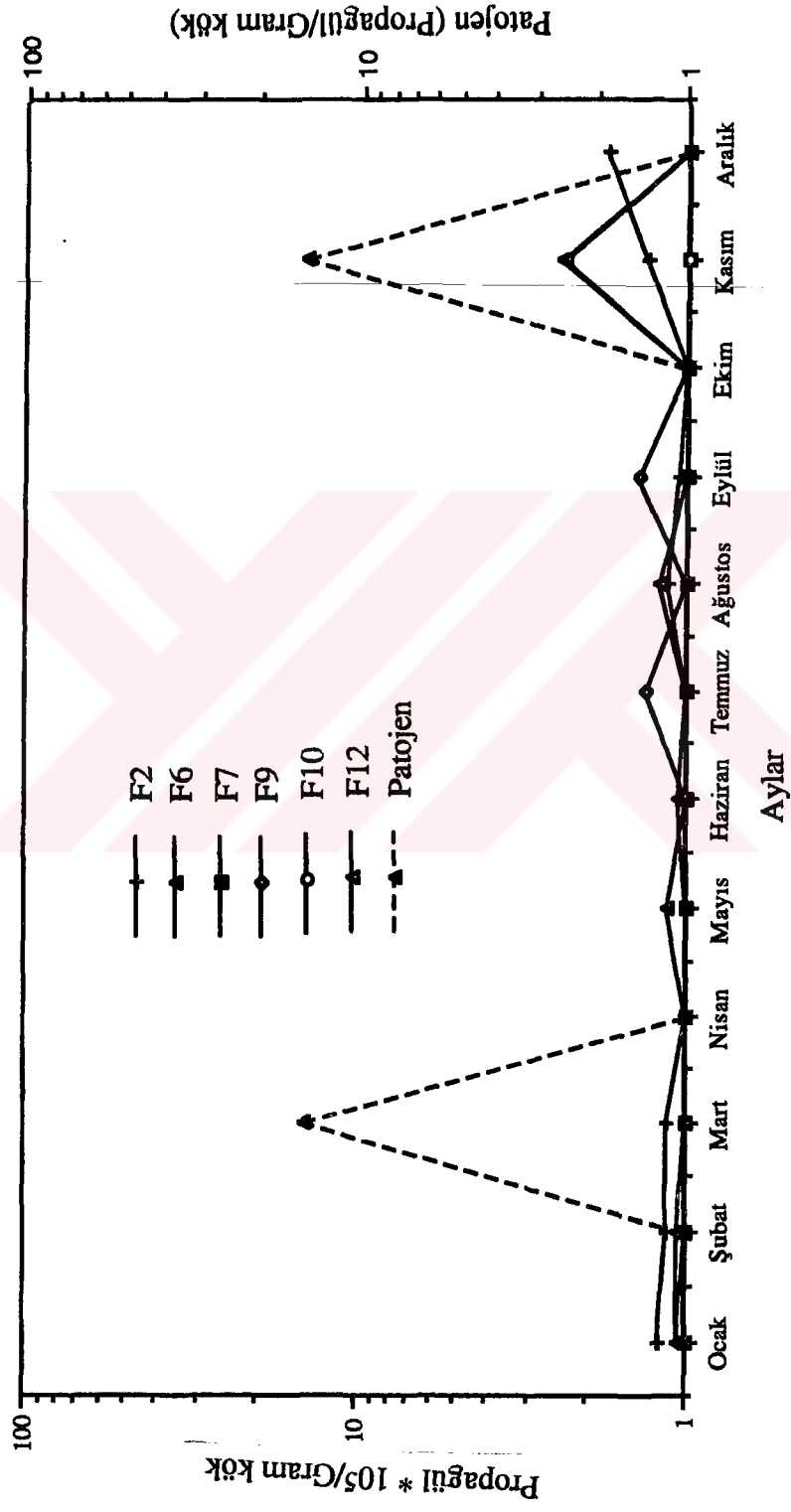
Kök yüzeyinden izole edilen antagonist funguslar ile patojen populasyon dalgalanmalarının görüldüğü Şekil 6, 7, 8 ve Çizelge 9 birlikte incelendiğinde, patojenin her ay yapılan izolasyonlarda kök yüzeyinden izole edilemediği görülmüştür. Bu nedenle bu bahçelerde patojen populasyonu ile antagonist fungus populasyonu arasında belirgin bir ilişki ortaya çıkmamıştır. Ancak antagonist fungus populasyonunun dağılımından söz edilecek olursa, Büyük Kapılı' da değerler $0.00-3.06 \times 10^5$ / g kök arasında değişirken Yakapınarı' nda $0.00-3.25 \times 10^5$ / g kök, Karabucak' da ise $0.00-7.99 \times 10^5$ / g kök arasında değişmektedir. Görüldüğü gibi kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungus populasyonları da, toprak izolasyonlarında olduğu gibi en yüksek değerleri Karabucak' da vermiştir.

Büyük Kapılı ve Yakapınarı' ndaki bahçelerde yapılan bu çalışmada, kök

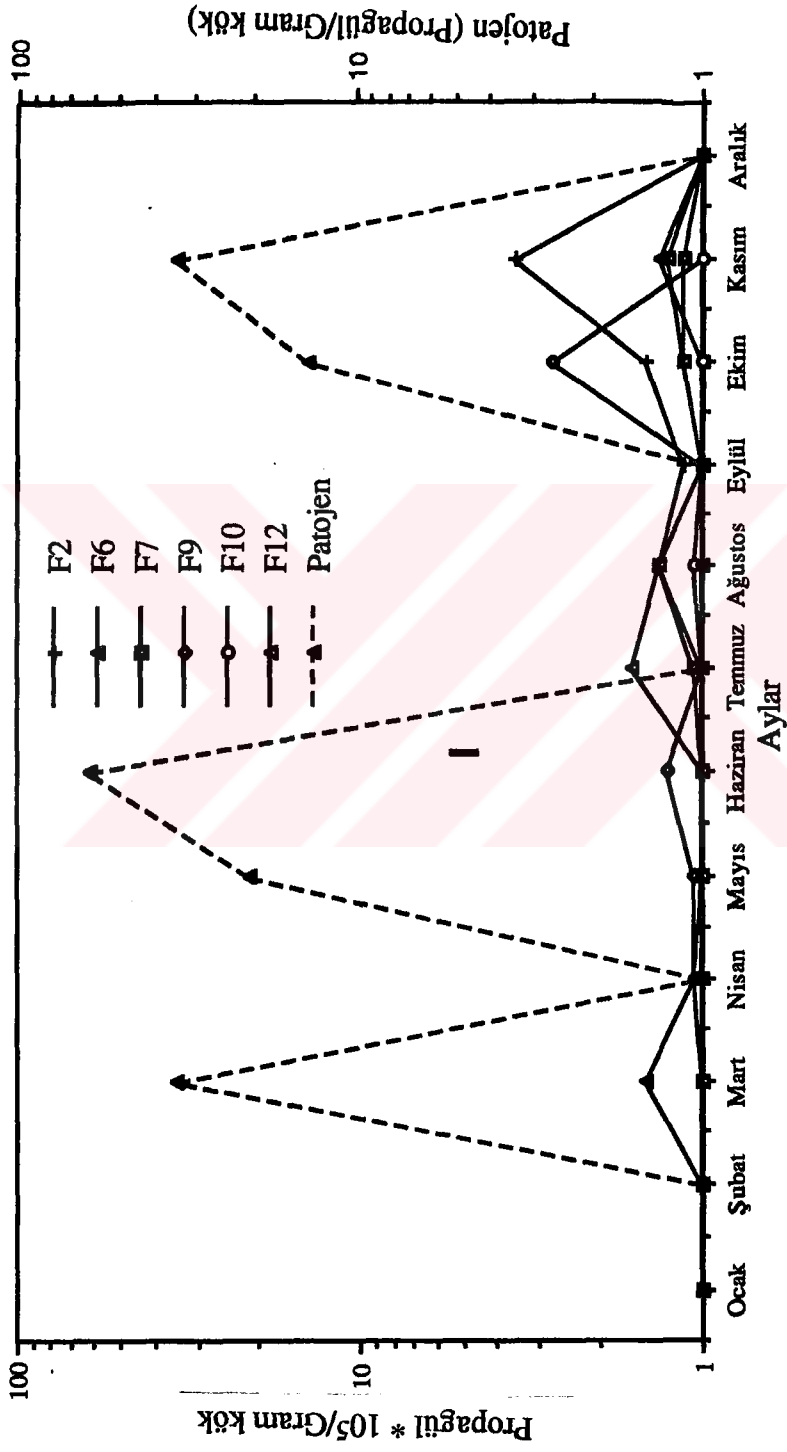
yüzeyinde patojen artışına paralel olarak artan ortak fungal antagonistler araştırıldığında herhangi bir sonuç elde edilememiştir (Şekil 6, 7).

Çizelge 9. Turunç ve ökaliptus kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları

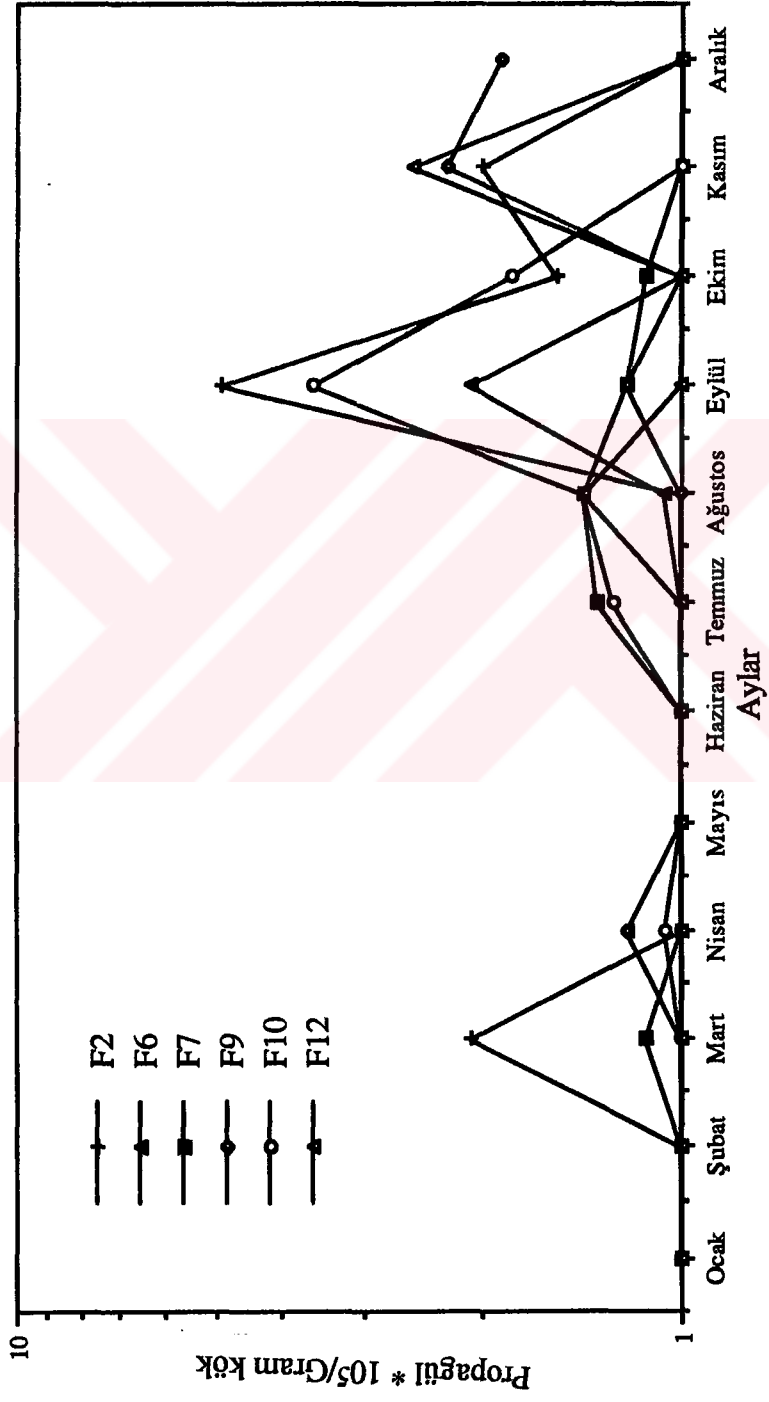
Aylar	Bahçeler	İzolatlar (Propagül X 10 ⁵ / g kök)						Toplam	Propagül/g kök <i>P. citrophthora</i> Patojen
		<i>Penicillium</i> sp. F-2	<i>Trichoderma</i> spp. F-6	<i>Aspergillus</i> <i>niger</i> F-7	<i>Rhizopus</i> sp. F-9	<i>Mucor</i> sp. F-10	<i>Aspergillus</i> <i>ochraceus</i> F-12		
Ocak 1993	B. Kapılı	0.20	0.06	-	-	-	0.06	0.32	0.00
	Y.Pınarı	-	-	-	-	-	-	-	0.00
	Karabucak	-	-	-	-	-	-	-	-
Şubat 1993	B. Kapılı	0.13	0.06	-	-	-	-	0.19	0.00
	Y.Pınarı	-	-	-	-	-	-	-	0.00
	Karabucak	-	-	-	-	-	-	-	-
Mart 1993	B. Kapılı	0.13	-	-	-	-	-	0.13	13.33
	Y.Pınarı	-	0.46	-	-	-	-	0.46	33.33
	Karabucak	1.06	-	0.13	-	-	-	1.19	-
Nisan 1993	B. Kapılı	-	-	-	-	-	-	-	0.00
	Y.Pınarı	-	0.06	-	0.06	-	-	0.12	0.00
	Karabucak	-	0.20	-	0.20	-	-	0.40	-
Mayıs 1993	B. Kapılı	-	0.13	-	-	-	-	0.13	0.00
	Y.Pınarı	-	-	-	0.06	-	-	0.06	20.00
	Karabucak	-	-	-	-	-	-	-	-
Hazir. 1992	B. Kapılı	-	-	-	-	-	0.06	0.06	0.00
	Y.Pınarı	-	-	-	0.26	-	-	0.26	60.00
	Karabucak	-	-	-	-	-	-	-	-
Tem. 1992	B. Kapılı	-	-	-	0.33	-	-	0.33	0.00
	Y.Pınarı	-	-	0.06	-	-	0.60	0.66	0.00
	Karabucak	-	-	0.33	-	0.26	-	0.59	-
Ağst. 1992	B. Kapılı	0.13	-	-	-	-	0.20	0.33	0.00
	Y.Pınarı	0.33	-	0.33	-	0.06	0.33	1.05	0.00
	Karabucak	-	0.06	0.40	-	0.40	0.40	1.26	-
Eylül 1992	B. Kapılı	0.06	-	-	0.4	-	-	0.46	0.00
	Y.Pınarı	0.13	-	-	-	-	-	0.13	0.00
	Karabucak	3.93	1.06	0.20	0.20	2.60	-	7.99	0.00
Ekim 1992	B. Kapılı	-	-	-	-	-	-	-	0.00
	Y.Pınarı	0.46	-	0.13	1.73	-	0.13	2.45	13.33
	Karabucak	0.53	-	0.13	-	0.80	-	1.46	-
Kasım 1992	B. Kapılı	0.33	1.40	-	-	-	1.33	3.06	13.33
	Y.Pınarı	2.53	0.33	0.13	-	-	0.26	3.25	33.33
	Karabucak	1.00	-	-	1.26	-	1.53	3.79	-
Aralık 1992	B. Kapılı	0.73	-	-	-	-	-	0.73	0.00
	Y.Pınarı	-	-	-	-	-	-	-	0.00
	Karabucak	-	-	-	0.86	-	-	0.86	-



Şekil 6. Büyük Kapılı' daki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları



Şekil 7. Yakapınarı'ndaki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların ve patojenin populasyon dalgalanmaları



Şekil 8. Karabucak orman ağaçlarının kök yüzeyinden izole edilen antagonist fungusların popülasyon dalgalanmaları

Toprak ve kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmalarının verildiği Çizelge 10 ve 11' e bakıldığında B-2 kod nolu bakterinin tüm bahçelerde yıl boyunca izole edildiği ve toplam bakteri populasyonunda oldukça büyük bir yere sahip olduğu görülmektedir.

Çizelge 10. Limon bahçe toprağı ile orman toprağından izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları

Aylar Bahçeler		İzolatlar (Propagül X 10 ⁶ / g toprak)								Prop./cm3 toprak <i>P. citrophthora</i> Patojen
		B-2	B-3	B-5	B-6	B-8	B-9	B-11	Toplam	
Ocak 1993	B. Kapılı	2.73	-	-	-	-	-	-	2.73	2.66 13.33
	Y.Pınarı	-	0.13	1.30	0.20	-	-	-	1.63	
	Karabucak	1.60	-	0.60	-	-	0.60	-	2.80	
Şubat 1993	B.Kapılı	2.40	-	-	-	-	-	-	2.40	3.33 5.33
	Y.Pınarı	2.06	0.40	-	-	-	-	-	2.46	
	Karabucak	1.20	-	-	-	-	0.73	-	1.93	
Mart 1993	B.Kapılı	2.13	-	0.20	0.33	0.06	-	-	2.72	2.00 4.00
	Y.Pınarı	1.80	-	-	-	-	-	-	1.80	
	Karabucak	0.80	0.13	-	1.53	-	-	-	2.46	
Nisan 1993	B.Kapılı	2.13	-	-	0.13	-	-	-	2.26	2.66 0.66
	Y.Pınarı	2.73	-	0.26	2.20	-	-	-	5.19	
	Karabucak	1.20	0.13	-	-	-	-	-	1.33	
Mayıs 1993	B.Kapılı	2.86	-	0.13	0.06	-	-	-	3.05	6.00 5.33
	Y.Pınarı	2.06	0.20	0.66	0.20	-	0.53	-	3.65	
	Karabucak	3.26	-	-	-	-	1.73	-	4.99	
Hazir. 1992	B.Kapılı	0.66	-	-	0.26	-	0.26	-	1.18	34.60 36.66
	Y.Pınarı	3.20	-	-	1.86	0.20	0.53	-	5.79	
	Karabucak	2.06	-	4.00	0.33	-	0.40	-	6.79	
Tem. 1992	B.Kapılı	1.53	-	0.46	-	1.60	0.60	-	4.19	1.33 19.33
	Y.Pınarı	0.73	0.13	-	0.86	0.06	0.60	-	2.38	
	Karabucak	0.86	-	4.53	0.46	-	0.33	-	6.18	
Ağst. 1992	B.Kapılı	0.66	0.93	0.46	0.26	-	-	-	2.31	4.00 21.33
	Y.Pınarı	0.06	-	0.46	-	0.06	-	-	0.58	
	Karabucak	3.06	-	2.73	-	0.26	0.53	-	6.58	
Eylül 1992	B.Kapılı	0.80	0.06	0.26	-	0.06	-	-	1.18	9.33 14.00
	Y.Pınarı	1.40	0.13	-	-	-	5.40	-	6.93	
	Karabucak	1.33	-	3.53	-	-	0.53	-	5.89	
Ekim 1992	B.Kapılı	1.33	-	-	-	-	-	-	1.33	16.00 14.60
	Y.Pınarı	2.26	-	-	-	0.13	0.53	-	2.92	
	Karabucak	2.73	-	0.66	-	-	1.06	-	4.45	
Kasım 1992	B.Kapılı	2.40	-	0.66	0.20	-	-	3.13	6.39	26.00 11.30
	Y.Pınarı	0.60	-	1.13	0.33	1.80	-	0.06	3.92	
	Karabucak	1.73	-	0.86	-	-	-	-	2.59	
Aralık 1992	B.Kapılı	2.26	0.13	0.40	-	-	2.60	0.13	5.55	7.33 36.66
	Y.Pınarı	2.80	-	-	-	-	0.93	-	3.73	
	Karabucak	1.26	-	1.20	-	-	0.93	-	3.39	
									----- 121.65	

Çizelge 11. Turunç ve ökaliptus kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları

Aylar	Bahçeler	İzolatlar (Propagül X 10 ⁷ / gkök)							Toplam	Prop./cm ³ kök <i>P. citrophthora</i> Patojen
		B-2	B-3	B-5	B-6	B-8	B-9	B-11		
Ocak 1993	B. Kapılı	5.13	-	-	-	-	-	-	5.13	0.00
	Y.Pınarı	2.93	-	-	-	-	1.06	-	3.99	0.00
	Karabucak	0.60	-	-	-	-	0.53	-	1.13	
Şubat 1993	B. Kapılı	2.80	-	-	-	-	-	-	2.80	0.00
	Y.Pınarı	3.20	-	-	-	-	0.93	-	4.13	0.00
	Karabucak	0.80	-	-	-	-	0.73	-	1.53	
Mart 1993	B. Kapılı	2.50	-	-	-	6.33	-	-	8.83	13.33
	Y.Pınarı	4.40	0.33	0.13	-	0.20	-	-	5.06	33.33
	Karabucak	0.73	2.00	-	0.40	-	-	-	3.13	
Nisan 1993	B. Kapılı	4.00	-	-	0.80	1.20	-	-	6.00	0.00
	Y.Pınarı	3.00	-	-	2.66	-	-	-	5.66	0.00
	Karabucak	0.93	-	0.26	-	-	2.73	-	3.92	
Mayıs 1993	B. Kapılı	4.33	0.06	-	-	0.33	1.53	-	6.25	0.00
	Y.Pınarı	4.73	-	4.73	-	-	0.80	-	10.26	0.20
	Karabucak	2.26	-	-	1.66	0.06	1.13	-	5.11	
Hazir. 1992	B. Kapılı	2.66	-	0.26	0.40	0.73	2.86	-	6.91	0.00
	Y.Pınarı	6.66	0.46	-	0.66	0.20	0.60	-	8.58	6 0.00
	Karabucak	1.26	0.26	0.06	0.20	0.06	0.86	-	2.70	
Tem. 1992	B. Kapılı	1.13	-	-	-	0.33	3.13	-	4.59	0.00
	Y.Pınarı	2.46	0.06	-	-	0.06	14.80	-	17.38	17.38
	Karabucak	0.06	-	0.26	-	-	8.86	-	9.18	
Ağst. 1992	B. Kapılı	8.00	-	0.13	-	2.53	2.80	-	13.46	0.00
	Y.Pınarı	6.53	-	-	-	1.33	4.00	-	11.86	0.00
	Karabucak	2.73	-	3.53	-	-	0.26	-	6.52	
Eylül 1992	B. Kapılı	0.60	0.66	0.13	-	-	-	-	1.39	0.00
	Y.Pınarı	1.66	2.40	0.06	-	-	7.06	-	11.18	0.00
	Karabucak	1.80	-	0.73	-	-	1.40	-	3.93	
Ekim 1992	B. Kapılı	2.46	-	-	-	0.40	0.66	0.46	3.58	0.00
	Y.Pınarı	1.33	-	-	-	-	0.26	-	1.59	13.33
	Karabucak	4.73	-	0.20	0.33	-	0.40	-	5.66	
Kasım 1992	B. Kapılı	3.33	-	-	-	-	-	2.93	6.26	13.33
	Y.Pınarı	-	-	2.13	-	2.53	-	-	4.66	33.33
	Karabucak	1.26	-	1.46	-	-	-	-	2.72	
Aralık 1992	B. Kapılı	2.46	-	-	-	-	6.53	-	8.99	0.00
	Y.Pınarı	2.86	-	-	-	-	1.40	-	4.26	0.00
	Karabucak	-	-	0.93	-	-	-	1.60	2.53	
									----- 210.86	

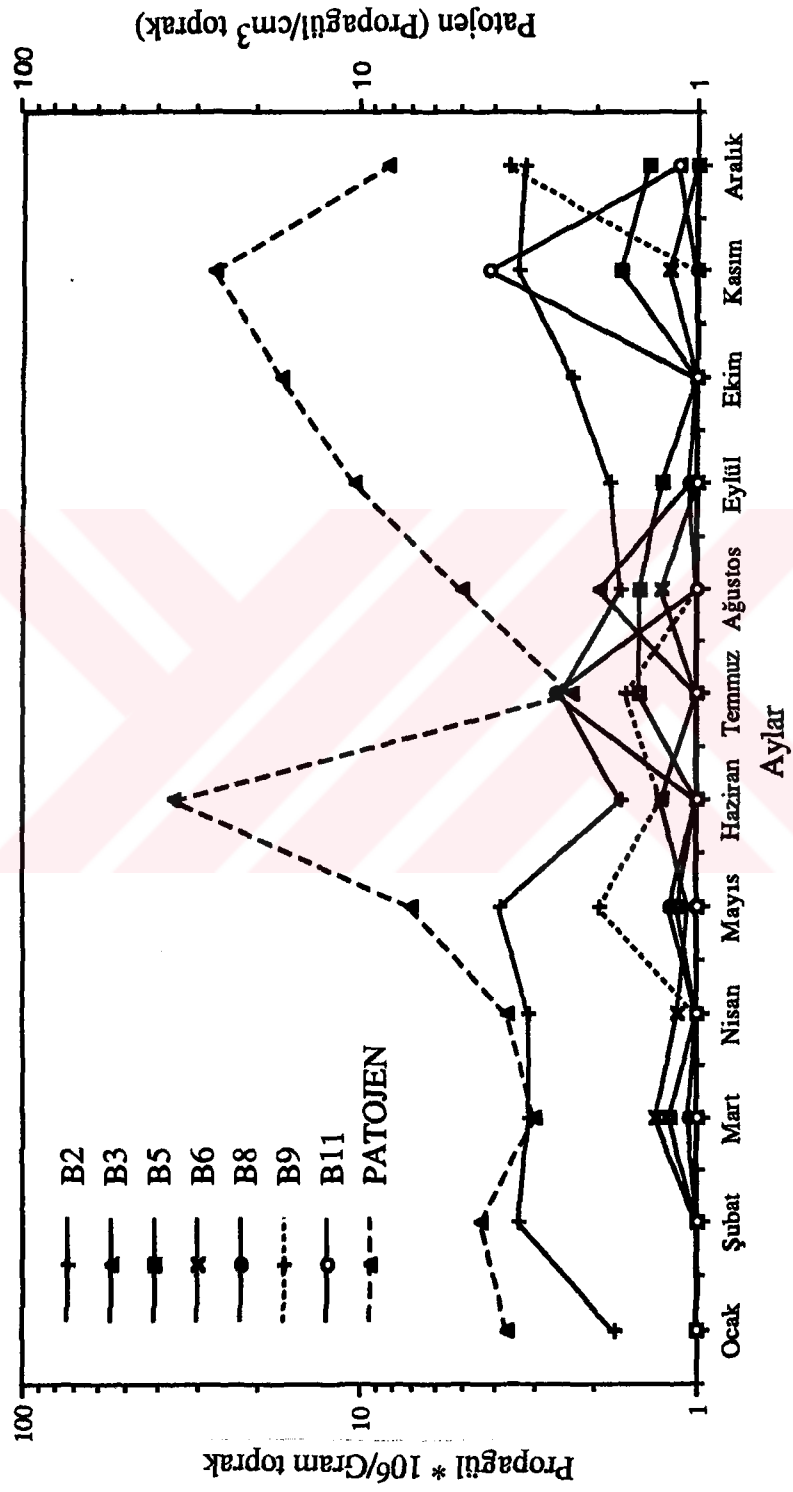
Yıl boyunca en az izole edilen bakteri izolatu ise B-11' dir. Kök yüzeyinde toplam bakteri popülasyonu yıl boyunca 210.86×10^7 g/ kök ile 121.65×10^6 p/ g topraktan oldukça yüksek saptanmıştır. Antagonistik etkisi yüksek bir izolatın popülasyonunun yıl boyunca yüksek olması antagonistin patojeni kontrol edebilme başarısını yükseltecektir. Büyük Kapılı' da B-2, B-3, B-5, B-6, B-8, B-9, B-11 kodları ile anılan topraktaki toplam bakteri popülasyonu yağışların 200 mm' yi bulduğu Kasım-Aralık aylarında sırasıyla 6.39×10^6 p/ g ve 5.55×10^6 p/ g toprak değerlerine ulaştıktan sonra yağışların azalmasıyla birlikte popülasyonda düşüş görülmektedir (Çizelge 10; Şekil 9). Kasım ve Aralık aylarında *P. citrophthora* popülasyonu ise sırasıyla 26.00 p/ cm^3 toprak ve 7.33 p/ cm^3 toprak düzeylerinde olmuştur. Bu bahçede kök yüzeyindeki bakteri popülasyonu ise yıl boyunca topraktakine göre daha yüksek olarak saptanmıştır (Çizelge 11; Şekil 12).

Yakapınarı turuncgil bahçe toprağındaki toplam bakteri popülasyonu, en yüksek değeri 6.93×10^6 p/ g toprak ile Eylül ayında alınırken, kök yüzeyinde en yüksek değeri 11.86×10^7 p/ g kök ile Ağustos ayında almıştır (Çizelge 10, 11; Şekil 10, 13).

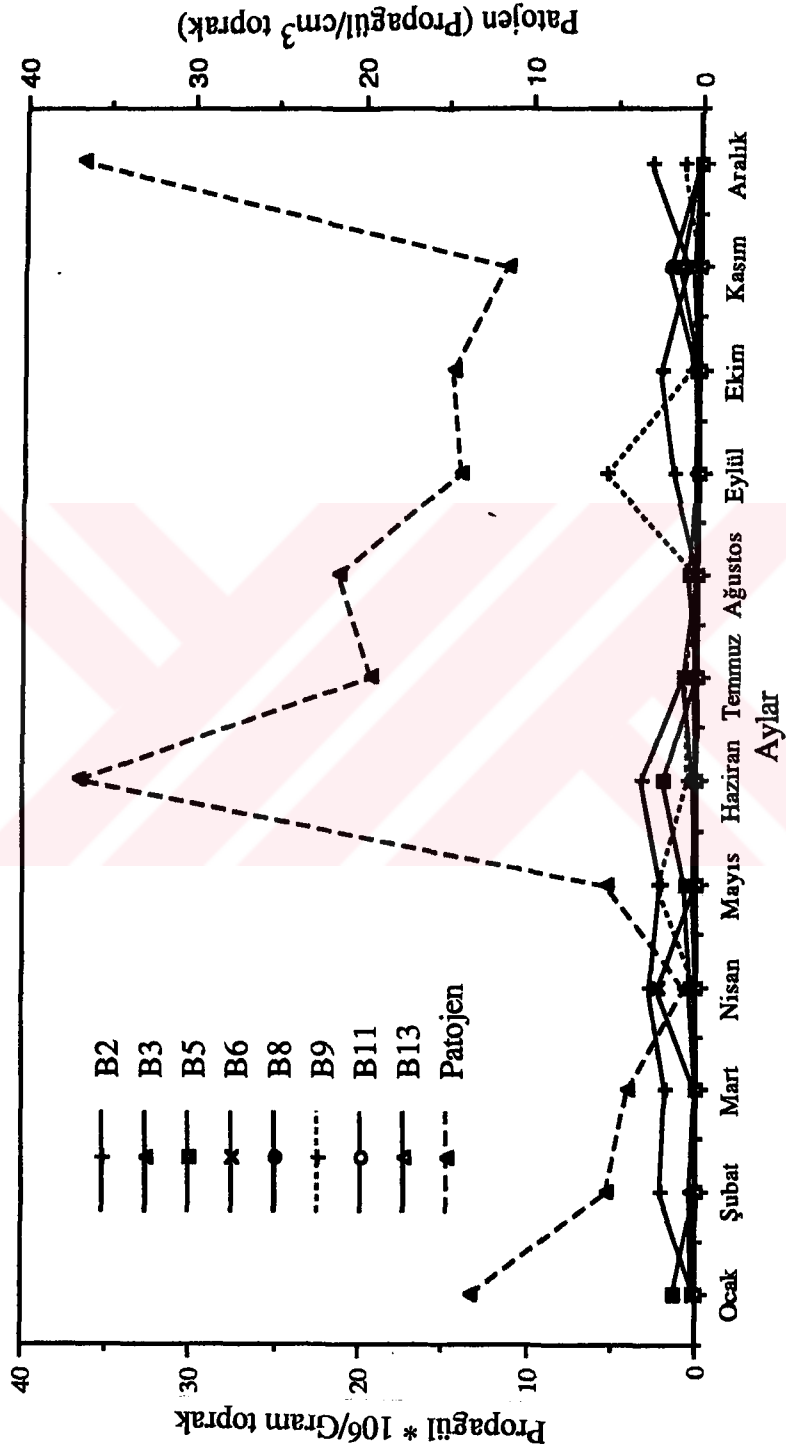
Karabucak orman toprağında ve köklerde ise bakteri popülasyonu diğer bahçelere göre daha yüksek değerlere ulaşmıştır (Çizelge 10, 11; Şekil 11, 14). TSAO (1977)' nun bildirdiğı gibi organik maddece yüksek topraklar çok sayıda bakteri ve aktinomiset içerir ki, bunlar da *Phytophthora* kök çürüklüğünü engeller.

Görüldüğü gibi, antagonistlerin yıl boyunca iklim değerlerine ve toprak özelliklerine bağlı olarak popülasyonlarında değişimler olmaktadır. Genel olarak tüm bahçelerde *P. citrophthora* ' nın toprak ve kök yüzeyinde popülasyon dalgalanmalarının yalnız olarak mikrobiyal antagonizme bağlı olduğu söylenemez. Toprağıın yapısı, pH' sı, içerdiği organik ve inorganik maddelerde eklenince patojenin çalışması birçok faktörle etkileşim içine girmektedir.

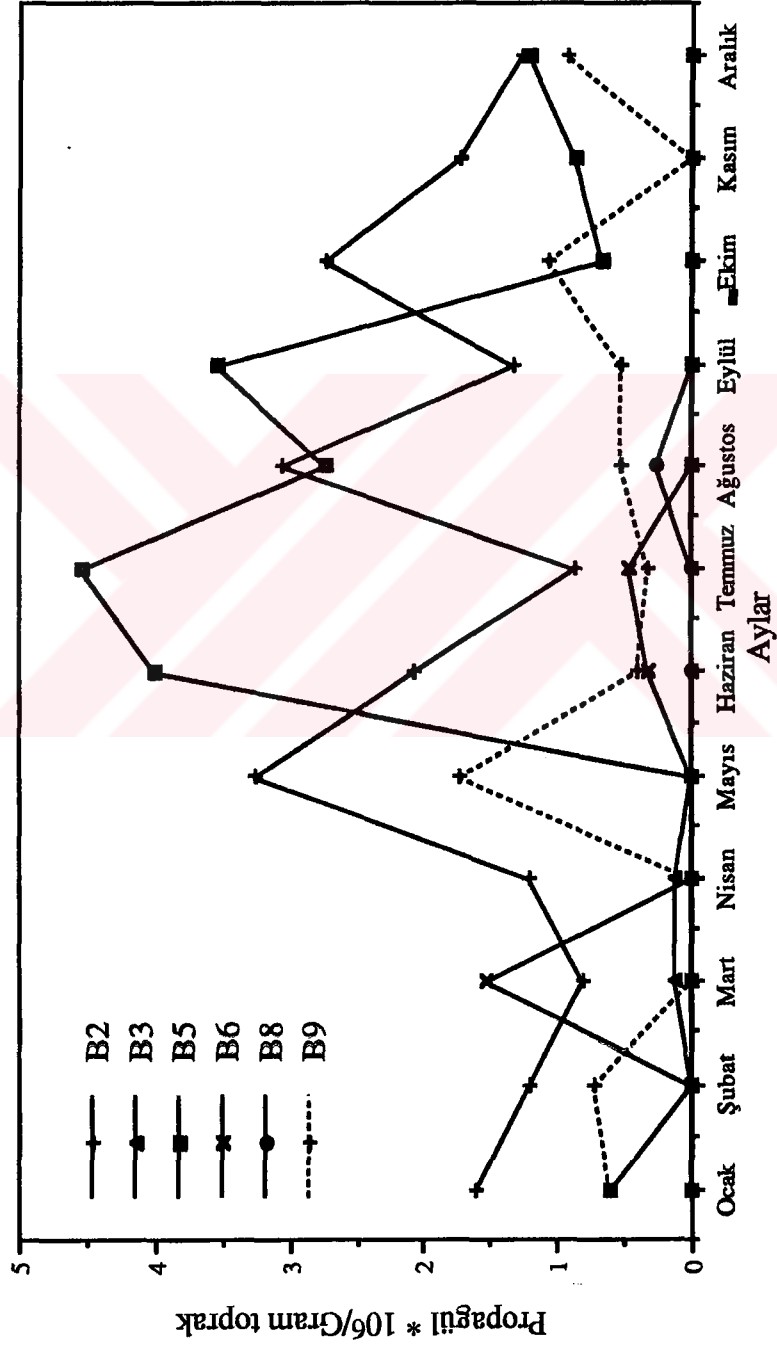
Bakterilerde de gerek toprakta ve gerekse kök yüzeyinde etmen popülasyonunu etkiler düzeyde popülasyon değışikliği gösteren ortak bir antagonist izolat bulunamamıştır.



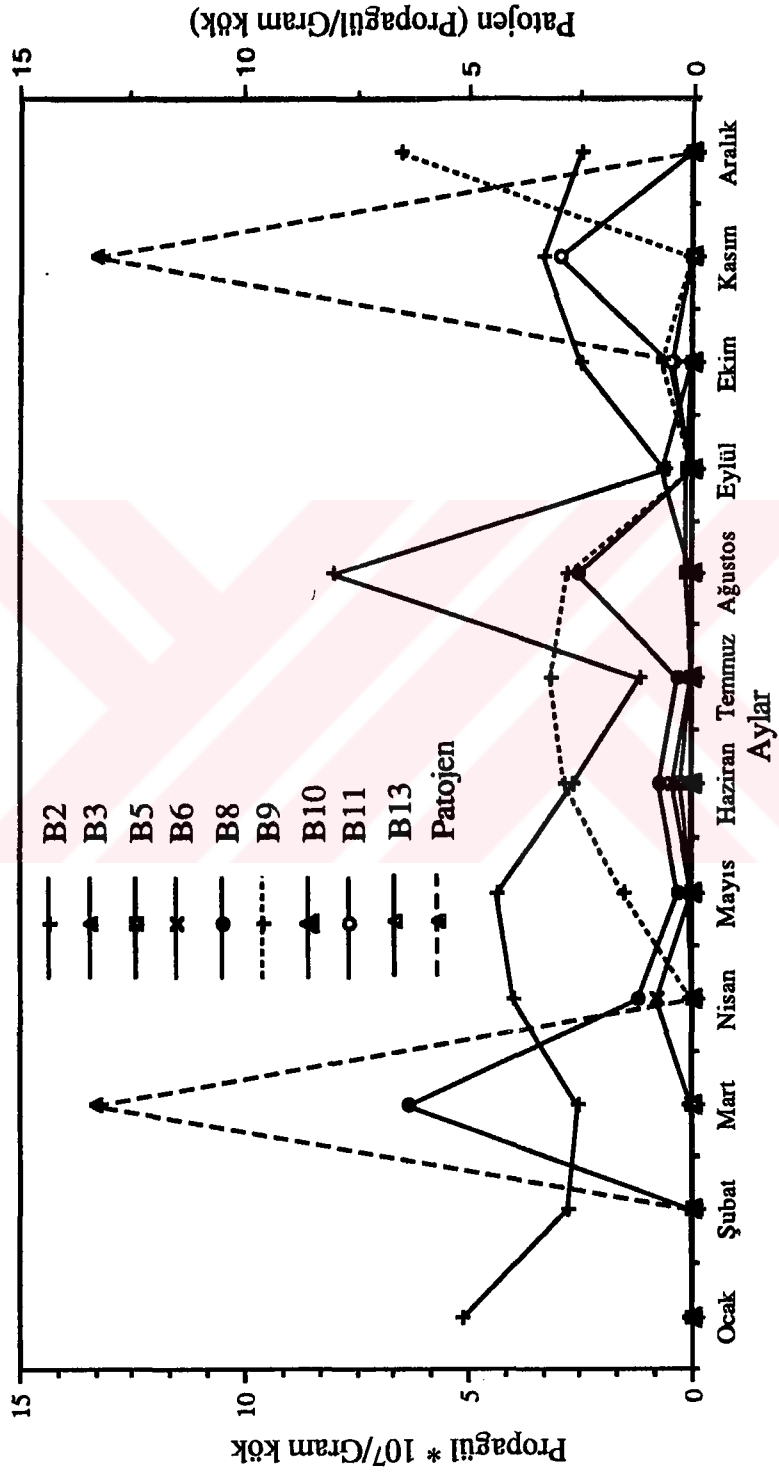
Şekil 9. Büyük Kaplı' daki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin populasyon dalgalanmaları



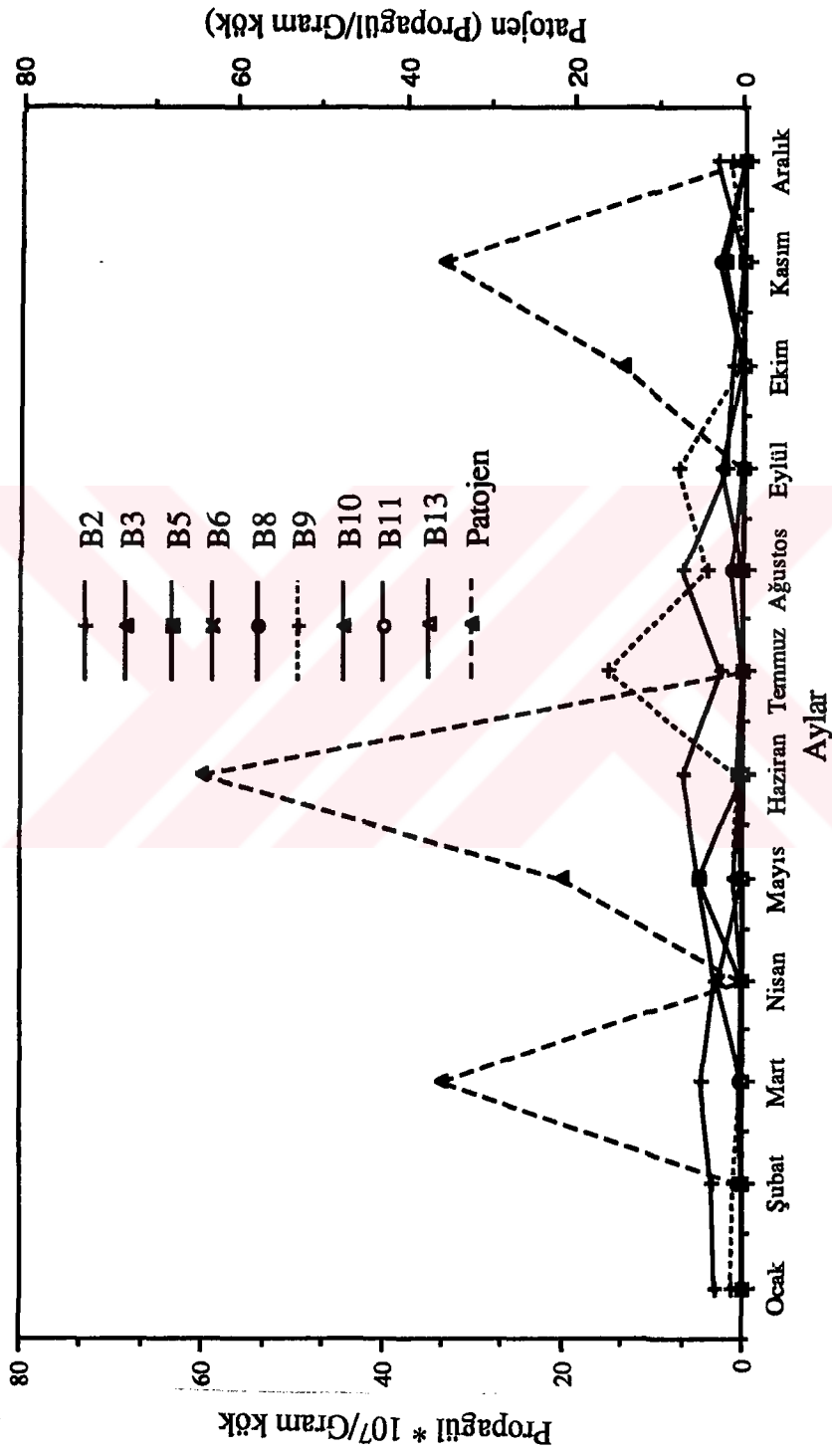
Şekil 10. Yakapınarı'ndaki limon bahçe toprağından izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin popülasyon dalgalanmaları



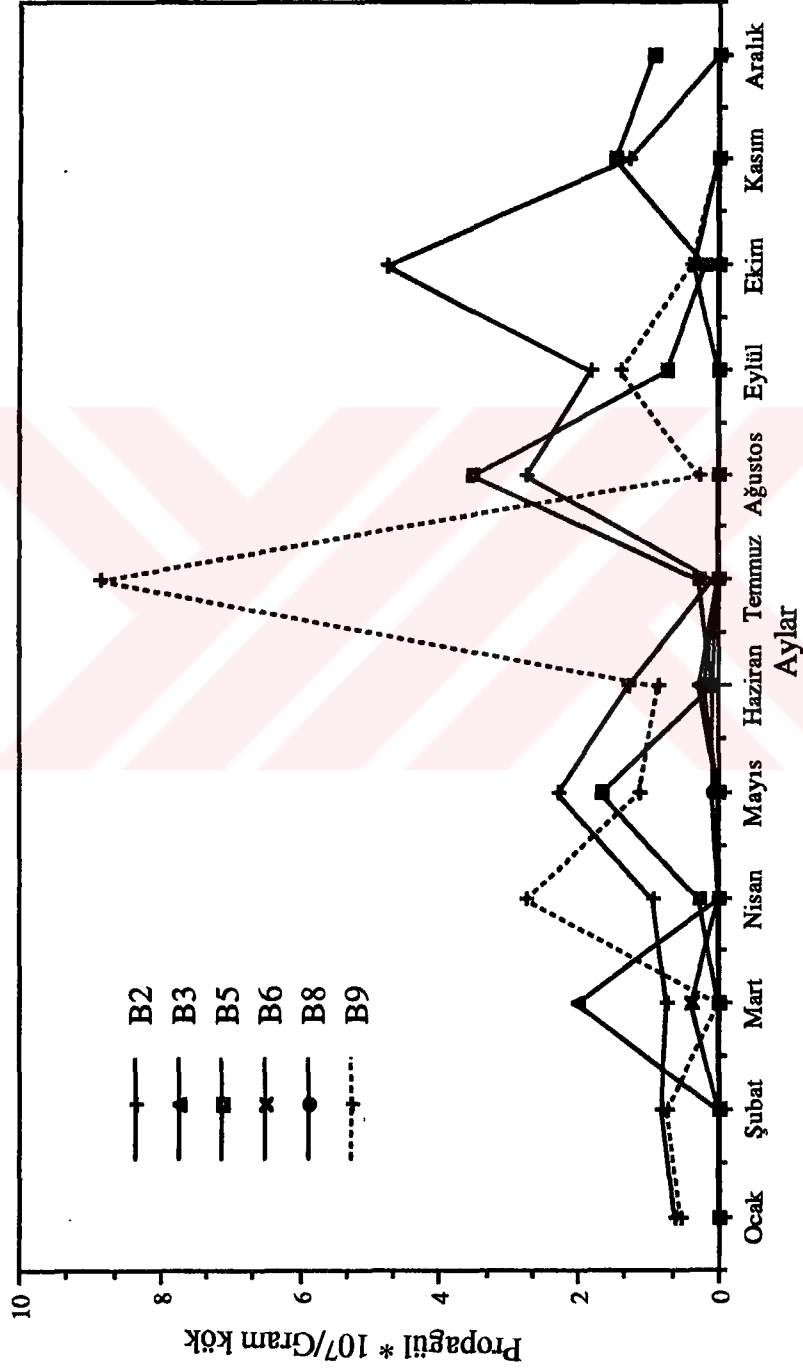
Şekil 11. Karabucak orman toprağından izole edilen antagonist bakterilerin populasyon dalgalanmaları



Şekil 12. Büyük Kapılı' daki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin popülasyon dalgalanmaları



Şekil 13. Yakapınarı'ndaki limon bahçesinde kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin ve patojenin popülasyon dalgalanmaları



Şekil 14. Karabucak orman ağaçlarının kök yüzeyinden izole edilen antagonist bakterilerin popülasyon dalgalanmaları

4.3.2. Antagonistik İlişkilerin İncelenmesi

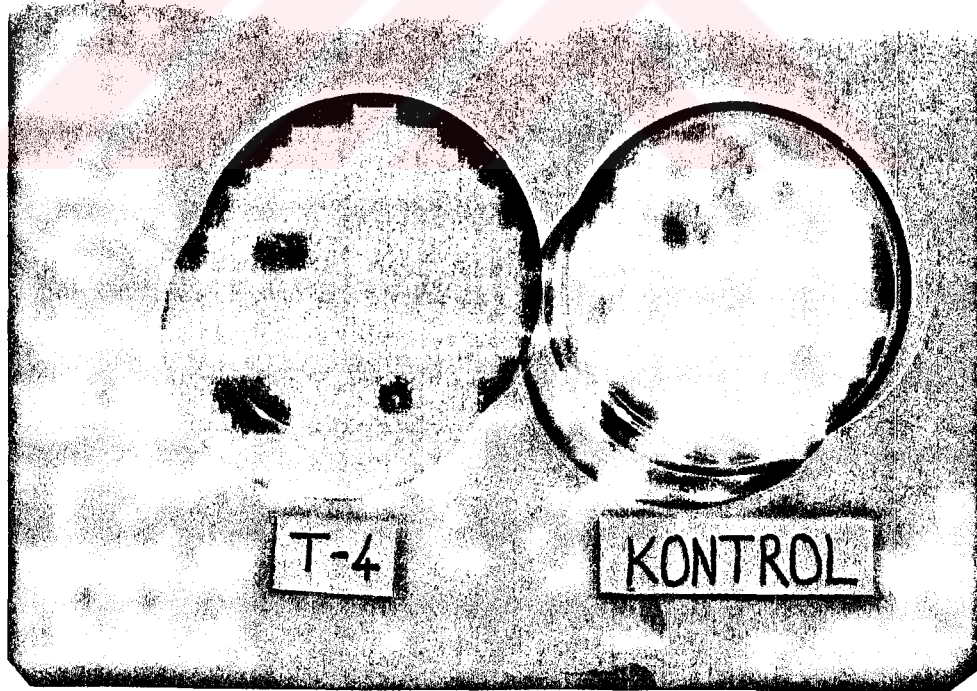
4.3.2.1. İkili Kültür Çalışmaları

İzole edilen 19 fungus, 13 bakteri izolatından antagonistik etkisi yüksek olanların ikili kültür çalışma sonuçları Çizelge 12, 13 ve 14' de görülmektedir. Diğer rutin olmayan çıkışlardan izole edilen 5 bakteri izolatı ise Çizelge 15' de yer almaktadır. Fungusların değerlendirilmesinde patojen yarıçapının 3 cm' den fazla gelişmesine izin veren antagonistler elenmiştir. Geriye kalan etkili antagonist fungusların yer aldığı Çizelge 12 incelendiğinde, 7., 10. ve 14. gün ölçümlerinde tüm fungusların yer almadığı görülmektedir. Bunun nedeni de, yine 7. gün ölçümünden sonra patojenin gelişmeye devam etmesi ve yarıçapının 3 cm' yi geçmesidir. Dolayısıyla 7. gün ölçümünde Çizelgede 5 izolat görülürken, bu 10. gün ölçümünde 3' e, 14. gün ölçümünde ise izolat sayısı 2' ye düşmüştür. F-2 kod nolu *Penicillium* sp. 7. günde patojen yarıçapının 3 cm gelişmesine izin vermiş ve % 39.00' luk bir inhibisyon oluşturmuştur. AKTEKE (1993) ise *P. citrophthora* ' ya karşı 3 *Penicillium* sp.' nin % inhibisyonlarını benzer şekilde 7. günde % 39.50, % 44.50 ve % 46.00 bulmuştur. *Penicillium* spp.' nin birçok *Phytophthora* spp.' ne karşı etki gösterdiği literatürde bildirilmektedir (MACIEJOWSKA ve WILLIAMS, 1961; BAKER ve COOK, 1974; EL GOORANI ve Ark., 1976).

F-7 ve F-12 kod nolu funguslar, *Aspergillus* spp. olup F-7, 7. günde % 39.00, F-12 ise 7. günde % 53.34, 10 günde % 63.34, 14. günde % 66.93 inhibisyon oluşturmuştur. AKTEKE (1993) ise yine benzer şekilde bir *Aspergillus* sp.' nin % 39.50 inhibisyon verdiğini belirtirken, MACIEJOWSKA ve WILLIAMS (1961) *Aspergillus* ssp.' nin etkili antagonistleri olduğunu bildirmişlerdir. F-10 kod nolu fungus ise *Mucor* sp. olup, 7. günde % 64.50, 10. günde % 74.34 ve 14. günde ise % 73.54 oranında inhibisyon vermiştir. LACEY (1965) *Mucor* sp.' nin *P. infestans* ' a karşı etkili bir antagonist olarak kullanılabileceğini bildirmiştir.

Çizelge 12. Antagonist fungus izolatlarının *Phytophthora citrophthora* ' yı in vitro' da ikili kültürde engellemesi (%)

İzolat no	Süre (gün)	Patojen yarıçapı (cm)	Antagonist yarıçapı (cm)	Engelleme Zonu (cm)	Antagonist/ Patojen	% İnhibisyon
F-2	7	3.00	1.73	1.27	0.57	39.00
F-7	7	3.00	2.60	0.40	0.86	39.00
F-9	7	3.00	2.50	0.50	0.83	39.00
F-10	7	1.75	7.50	-	4.28	64.50
F-12	7	2.30	2.03	1.67	0.88	53.34
Kontrol	7	4.93				
F-9	10	3.00	3.00	-	1.00	56.01
F-10	10	1.75	7.50	-	4.28	74.34
F-12	10	2.50	2.16	1.34	0.86	63.34
Kontrol	10	6.82				
F-10	14	2.00	7.55	-	3.77	73.54
F-12	14	2.50	2.16	1.34	0.86	66.93
Kontrol	14	7.56				



Resim 5. Antogonist T-4 (*Trichoderma hamatum*) izolatının *Phytophthora citrophthora* ' yı in vitro' da ikili kültürde engelleme etkisi

Trichoderma spp.' nin *P. citrophthora* ' yı ikili kültürde (%) engellemesinin verildiği Çizelge 13 incelendiğinde, *Trichoderma* izolatlarının hızlı gelişmeleri nedeniyle ölçümlerin 3. günde başladığı dikkati çekecektir. T-1 (*T. pseudokoningii*), T-2 (*T. viride*), T-3 (*T. harzianum*), T-4 (*T. hamatum*) kodları ile anılan fungusların % inhibisyon değerleri 3. günde sırasıyla 64.16, 65.01, 65.18, 65.52; 7. günde 70.54, 71.24, 71.38, 71.66; 10. günde 73.75, 73.75, 74.50, 74.75; 14. günde ise 73.75, 73.75, 74.50, 74.75 oranında olmuştur. AKTEKE (1993)' de aynı patojene karşı ikili kültür çalışmalarında 7. günde % inhibisyon değerlerini *T. pseudokoningii* için 63.00, *T. viride* için 67.30, *T. harzianum* için 70.10, *T. hamatum* için ise 66.80 olarak saptamıştır. Birçok çalışmada *Trichoderma* spp.'nin *Phytophthora* spp.'ne karşı antibiyotik üreterek hifsel lysis ve hifsel parazitizm şeklinde antagonistik etki gösterdiği bildirilmiştir (DURELL, 1968; DENNIS ve WEBSTER, 1971; BRASIER, 1975; KELLEY ve RODRIGUEZ-KABANA, 1976; KELLEY, 1977). DEDE ve BİÇİCİ (1987) ise in vitro' da *P. citrophthora* ' ya karşı *Trichoderma* spp.' ni ikili kültürde denediğinde ekimden 7 gün sonra patojenin gelişmesine *T. pseudokoningii* 2.4 cm, *T. viride* 2.3 cm, *T. harzianum* 2.7 cm, *T. hamatum* 2.5 cm' e kadar izin verirken, kontrolda patojen 9 cm gelişmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlar ise, sırasıyla 2. 10 cm, 2.05 cm, 2.04 cm ve 2.02 iken patojen kontrolda 7.13 cm çapında gelişmiştir. Görüldüğü gibi gerek bu çalışmada ve gerekse diğer çalışmalarda verilen sonuçlar birbiriyle uyum içerisindedir.

Çizelge 13. *Trichoderma* spp.' nin *Phytophthora citrophthora* ' yı in vitroda ikili kültürde engellemesi (%)

İzolat no	Süre(gün)	Patojen Yarıçapı (cm)	Antagonist yarıçapı (cm)	Engelleme Zonu (cm)	Antagonist/ Patojen	% İnhibisyon
T-1	3	2.10	4.93	-	2.34	64.16
T-2	3	2.05	5.75	-	2.80	65.01
T-3	3	2.04	5.67	-	2.77	65.18
T-4	3	2.02	6.62	-	3.27	65.52
Kontrol	3	5.86				

Çizelge 13' ün devamı

T-1	7	2.10	4.93	-	2.34	70.54
T-2	7	2.05	5.75	-	2.80	71.24
T-3	7	2.04	5.67	-	2.77	71.38
T-4	7	2.02	6.62	-	3.27	71.66
Kontrol	7	7.13				
T-1	10	2.10	7.33	-	3.49	73.75
T-2	10	2.10	7.48	-	3.56	73.75
T-3	10	2.04	6.04	-	2.96	74.50
T-4	10	2.02	7.21	-	3.56	74.75
Kontrol	10	8.00				
T-1	14	2.10	7.33	-	3.49	73.75
T-2	14	2.10	7.50	-	3.57	73.75
T-3	14	2.04	6.04	-	2.96	74.50
T-4	14	2.02	7.21	-	3.56	74.75
Kontrol	14	8.00				



Resim 6. Antagonist *Trichoderma* izolatlarının in vitro' da ikili kültürde *Phytophthora citrophthora* ' yı engelleme etkileri

Antagonist bakteri izolatlarının *P. citrophthora* ' yı ikili kültür çalışmalarında % engellemesinin verildiği Çizelge 14 ' de B-2, B-3, B-5, B-6, B-7, B-8, B-9, B-10, B-11, B-13 kodu ile verilen bakteriler yıl boyunca yapılan toprak ve kök izolasyonları sonucunda izole edilmiştir. Ancak P-PP ve P-PS kodlu bakteriler laboratuvar çalışmaları sırasında izole edilmiştir. P-PP; *P. citrophthora* kolonisinin kenarından hif üzerinden izole edilmiştir. P-PS ise PD sıvı kültürüne *P. citrophthora* ' nın 5 günlük kültüründen 0.5 cm çaplı disk atılarak geliştirilmiştir. Sıcaklığı 25° C' ye ayarlı inkübatörde 7 gün inkübe edildikten sonra gelişen hifsel pamuğumsu yapı lysis olarak bulanık bir sıvı haline dönüşmüştür. Bu sıvıdan 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ ve 10⁻⁶ seyreltmeleri elde edilerek her birinden bir öze ile alınan bakteri süspansiyonundan KB' ye çizimler yapılarak izole edilmiştir.

Bakterilerin değerlendirilmesinde 0.5 cm' nin altında engelleme zonu oluşturanlar elendiğinden 7., 10. ve 14. gün ölçümlerinde izolat sayıları gittikçe azalmıştır. Patojen, kontrolün tamamına yakın kısmını kapladığı gün olan 10. gün ölçümünde, 7.67 cm gelişirken, bakterilerin olduğu petrilerde ise en az 2.50 cm en fazla ancak 5.45 cm gelişebilmiştir. Çizelge 14' de görüldüğü gibi, 10. gün ölçümlerinde % inhibisyon değerleri, B-2' de 38.33, B-3' de 38.98, B-5' de 51.49, B-6' da 43.28, B-8' de 35.85, B-11' de 38.98, B-13' de 33.89, P-PP' de 49.80 ve P-PS' de 28.94 olarak saptanmıştır.

Çizelge 14. Toprak ve kök izolasyonları sonucunda elde edilen antagonist

bakteri izolatlarının *Phytophthora citrophthora* ' yı ikili kültürde engellemeleri

İzolat no	Süre(gün)	Patojen Yarıçapı (cm)	Antagonist yarıçapı (cm)	Engelleme Zonu (cm)	Antagonist/ Patojen	% İnhibisyon
B-2	7	4.70	0.10	1.20	0.02	9.96
B-3	7	4.60	0.80	0.60	0.17	11.87
B-5	7	3.72	0.35	1.93	0.09	28.73
B-6	7	4.35	0.70	0.95	0.16	16.66
B-7	7	4.68	0.72	0.60	0.15	10.34
B-8	7	4.55	0.10	1.35	0.02	12.83
B-9	7	4.73	0.11	1.16	0.02	9.38

Çizelge 14' ün devamı

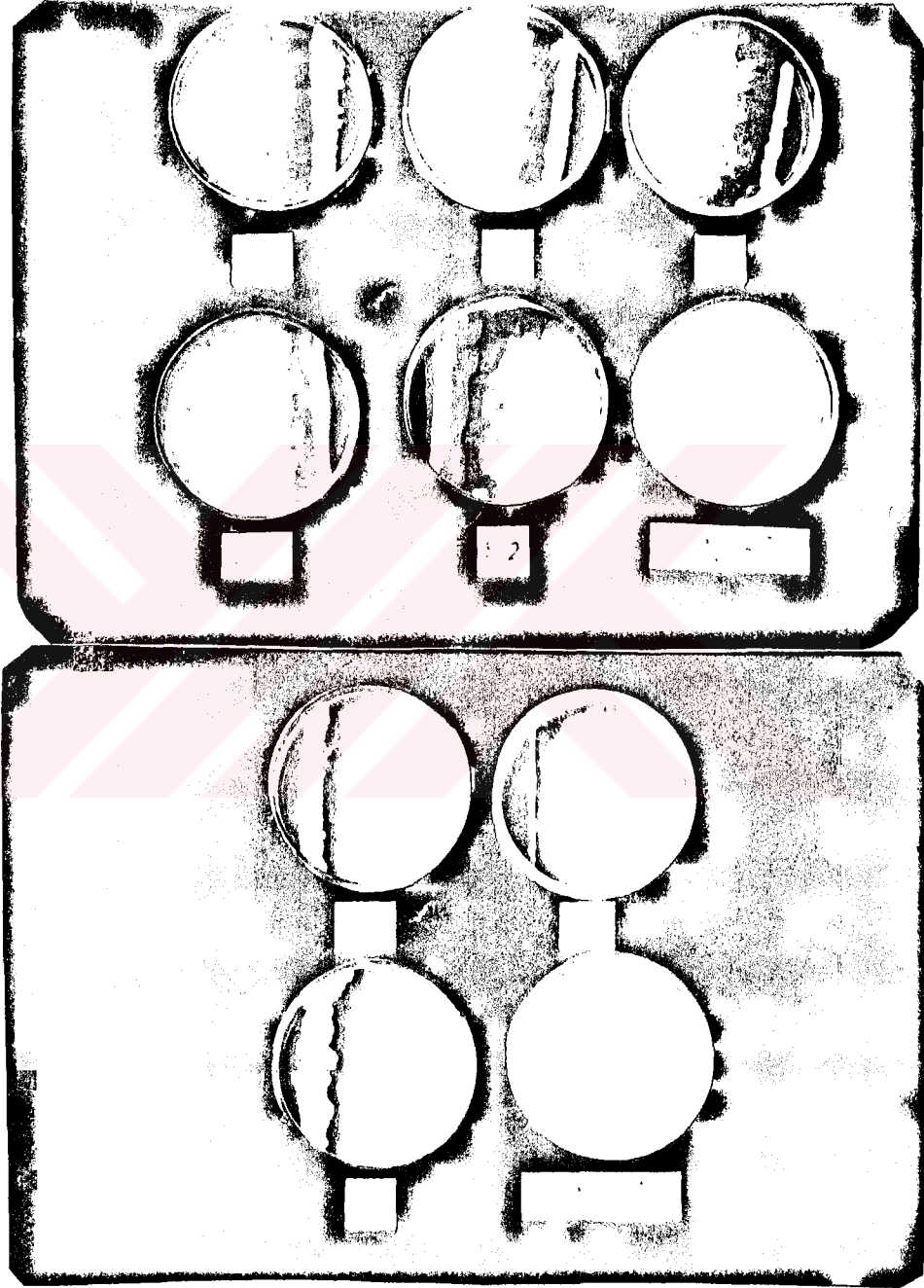
B-10	7	4.91	0.23	0.86	0.04	5.93
B-11	7	4.64	0.48	0.88	0.10	11.11
B-13	7	4.47	0.38	1.15	0.08	14.36
P-PP	7	2.12	0.30	3.85	0.14	59.38
P-PS	7	4.05	0.57	1.38	0.14	22.41
KONTROL	7	5.22				
B-2	10	4.73	0.10	1.17	0.02	38.33
B-3	10	4.68	0.84	0.48	0.17	38.98
B-5	10	3.72	0.35	1.93	0.09	51.49
B-6	10	4.35	0.70	0.95	0.16	43.28
B-8	10	4.92	0.10	0.98	0.02	35.85
B-11	10	4.68	0.60	0.72	0.12	38.98
B-13	10	5.07	0.41	0.52	0.08	33.89
P-PP	10	3.85	0.30	2.12	0.07	49.80
P-PS	10	5.45	0.60	-	0.11	28.94
KONTROL	10	7.67				
B-3	14	4.68	0.77	0.55	0.16	40.75
B-5	14	3.75	0.42	1.83	0.11	52.53
B-6	14	4.38	0.76	0.86	0.17	44.55
B-8	14	4.92	0.10	0.98	0.02	37.72
P-PP	14	4.62	0.30	1.08	0.06	41.51
P-PS	14	5.45	0.60	-	0.11	31.01
KONTROL	14	7.90				

ROÇ kodu ile anılan rutin olmayan arazi çıkışlarından izole edilen bakterilerden en yüksek % inhibisyon değerlerini ROÇ-4 ve ROÇ-7 nolu bakteriler 7. günde sırasıyla 34.64 ve 40.95; 10. günde ise 47.60 ve 52.00 olarak göstermişlerdir (Çizelge 15).

Çizelge 15. Rutin olmayan çıkışlardan izole edilen antagonist bakteri izolatlarının ikili kültürde *Phytophthora citrophthora* ' yı engellemeleri

İzolat no	Süre(gün)	Patojen Yarıçapı (cm)	Antagonist yarıçapı (cm)	Engelleme Zonu (cm)	Antagonist/ Patojen	% İnhibisyon
ROÇ-4	7	3.80	0.60	1.60	0.15	3.79
ROÇ-6	7	3.60	0.20	2.20	0.05	8.86
ROÇ-7	7	2.70	0.20	3.10	0.07	31.60
ROÇ-8	7	3.50	0.20	2.30	0.05	11.39
ROÇ-9	7	3.60	0.20	2.20	0.05	8.86
KONTROL	7	3.95				
ROÇ-4	10	3.83	1.00	1.17	0.26	34.64
ROÇ-6	10	5.38	0.24	0.38	0.04	8.19
ROÇ-7	10	3.46	0.23	2.31	0.06	40.95
ROÇ-8	10	5.33	0.40	0.27	0.07	9.04
ROÇ-9	10	5.46	0.20	0.34	0.03	6.82
KONTROL	10	5.86				
ROÇ-4	14	3.93	1.30	0.77	0.33	47.60
ROÇ-6	14	6.10	0.30	-	0.05	18.66
ROÇ-7	14	3.60	0.36	2.04	0.10	52.00
ROÇ-8	14	7.13	0.50	-	0.07	4.90
ROÇ-9	14	7.33	0.33	-	0.04	2.26
KONTROL	14	7.50				

Yapılan diğer bazı çalışmalarda da bakterilerin *P. citrophthora* ' ya karşı antagonistik etkilerinin varlığı bildirilmiştir. BROADBENT ve Ark. (1971) *Bacillus* spp.' nin, BROADBENT ve BAKER (1974 a) floresan *Pseudomonas* spp.' nin, MALAJCZUK (1981) *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp.' nin, MENGE (1990) ise *Pseudomonas putida* ' nın *P. citrophthora* ' ya karşı antibiyotik üretimi ve hifsel lysis ile antagonistik etki gösterdiğini saptamışlardır. Çalışmamızda olduğu gibi diğer birçok çalışmada da, *P. citrophthora* ' nın mikrobiyal antagonizminde bakterilerin ümitvar sonuçlar verdiği görülmektedir.



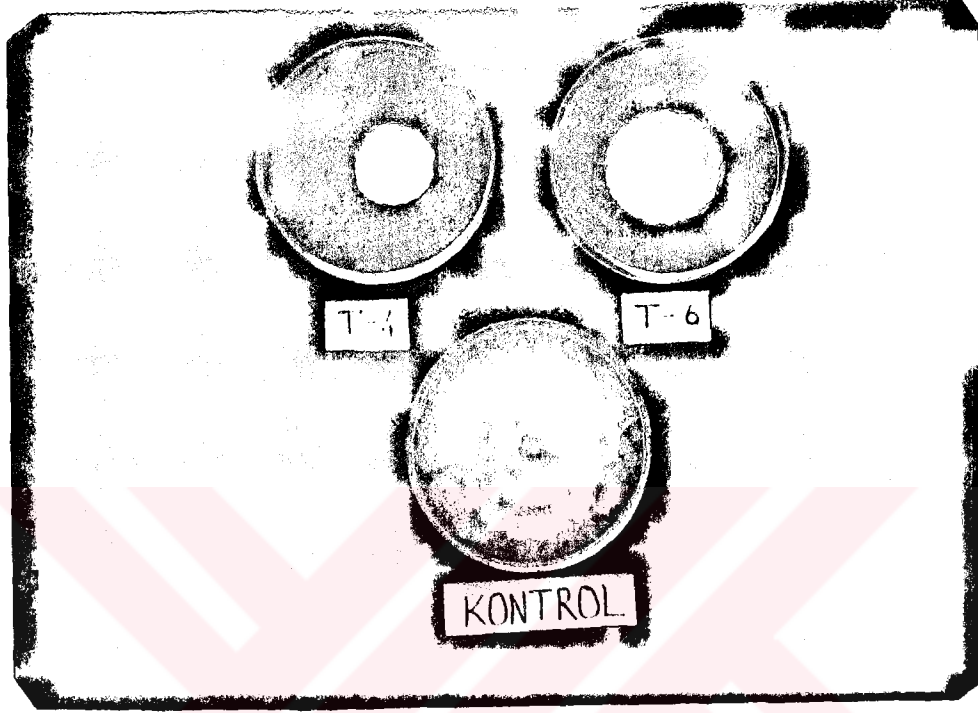
Resim 7. Antagonist bakteri izolatlarının in vitro' da ikili kültürde *Phytophthora citrophthora* ' yı engellemeleri

4.3.2.2. Antibiyotik Üretimi

Antagonist fungus ve bakteri izolatlarının antibiyotik üretimi ile ilgili sonuçları Çizelge 16, 17 ve 18' de görülmektedir. Agar halka yönteminde fungus sporlarının dağılması nedeniyle sağlıklı sonuç alınamamıştır. Bu nedenle antagonist fungusların antibiyotik üretip üretmediklerini saptamak için gliotoksin fermentasyon sıvı ortamı kullanılmıştır. Elde edilen sıvı kültürler üzerinde çalışılmış ve % inhibisyon değerleri bu yolla saptanmıştır. Çizelge 16' da da görüldüğü gibi kontrolda patojen ekimden 7 gün sonra 8.64 cm gelişirken, fungus izolatlarının antibiyotikli ortamını içeren petrilerde T-1' de 3.12, T-2' de 1.10, T-3' de 1.84, T-4' de 3.17, F-2' de 2.34, F-7' de 2.02, F-9' da 4.36, F-10' da 2.78, F-12' de 3.47 cm çapında gelişebilmiştir. Yine izolatlar sırasıyla 63.88, 87.26, 78.70, 63.31, 72.91, 76.62, 49.53, 67.82 ve 59.83 oranında yüksek inhibisyon değerleri vermiştir. *Penicillium* , *Aspergillus* , *Mucor* , *Rhizopus* ve *Trichoderma* cinslerine dahil edilen bu fungusların antibiyotik üretimiyle *P. citrophthora* ' ya karşı antagonizmi bu çalışmada saptanmış olup, bu sonuçları destekleyen diğer birçok çalışma da literatürde bulunmaktadır (MACIEJOWSKA ve WILLIAMS, 1961; DUREL, 1968; DENNIS ve WEBSTER, 1971; BAKER ve COOK, 1974; BRASIER, 1975 ; EL-GOORANI ve Ark., 1976; KELLEY ve RODRIGUEZ-KABANA, 1976; KELLEY, 1977).

Çizelge 16. Antagonist fungus izolatlarının gliotoksin fermentasyon sıvı kültür sonucunda *Phytophthora citrophthora* ' yı engellemeleri

Petri No	Kontrol cm	T-1 cm	T-2 cm	T-3 cm	T-4 cm	F-2 cm	F-7 cm	F-9 cm	F-10 cm	F-12 cm
1	8.00	2.50	Disk	3.00	3.10	2.30	2.00	3.50	3.00	3.40
2	8.30	3.50	Disk	1.10	2.60	2.50	2.20	5.00	2.40	4.40
3	8.50	2.70	Disk	3.40	3.00	2.10	2.00	7.00	3.00	2.00
4	8.50	3.00	1.80	Disk	3.00	2.20	2.00	3.50	2.30	5.00
5	8.50	3.20	1.80	3.30	3.50	2.30	2.00	5.00	3.80	3.00
6	9.00	3.00	1.30	Disk	4.00	2.60	2.00	7.00	2.50	3.50
7	9.00	4.00	1.30	1.10	3.00	2.40	2.00	4.50	2.50	3.00
ORT	8.64	3.12	1.10	1.84	3.17	2.34	2.02	4.36	2.78	3.47
% İnhs.		63.88	87.26	78.70	63.31	72.91	76.62	49.53	67.82	59.83



Resim 8. Antagonist fungus izolatlarının gliotoksin fermentasyon sıvı kültür sonucunda *Phytophthora citrophthora* 'yı engellemeleri

Antagonist bakteri izolatlarının antibiyotik üretilip üretilmediği agar-halka yöntemiyle saptanmıştır. Patojen ekimden 7 gün sonra kontrolda 2.00 cm gelişirken bakterilerin antibiyotiklerini içeren ortamlar üzerinde B-2' de 0.83 cm, B-5' de 1.92 cm, B-8' de 0.63 cm, B-9' da 0.87 cm, B-11' de 0.61 cm, B-13' de 1.00 cm gelişmiş, B-3, B-6, B-10, P-PP, P-PS nolu kültürlerde ise hiç gelişmemiş ve disk olarak kalmıştır. B-5 nolu izolat, patojen kontrole yakın bir değer olan 1.92 cm geliştiğinden, bu izolatın ya antibiyotik üretiminde bulunmadığı yada çok az miktarda bulunduğu kanısına varılmıştır.

Çizelge 17. Antagonist bakteri izolatlarının agar-halka yönteminde
Phytophthora citrophthora ' yı engellemeleri

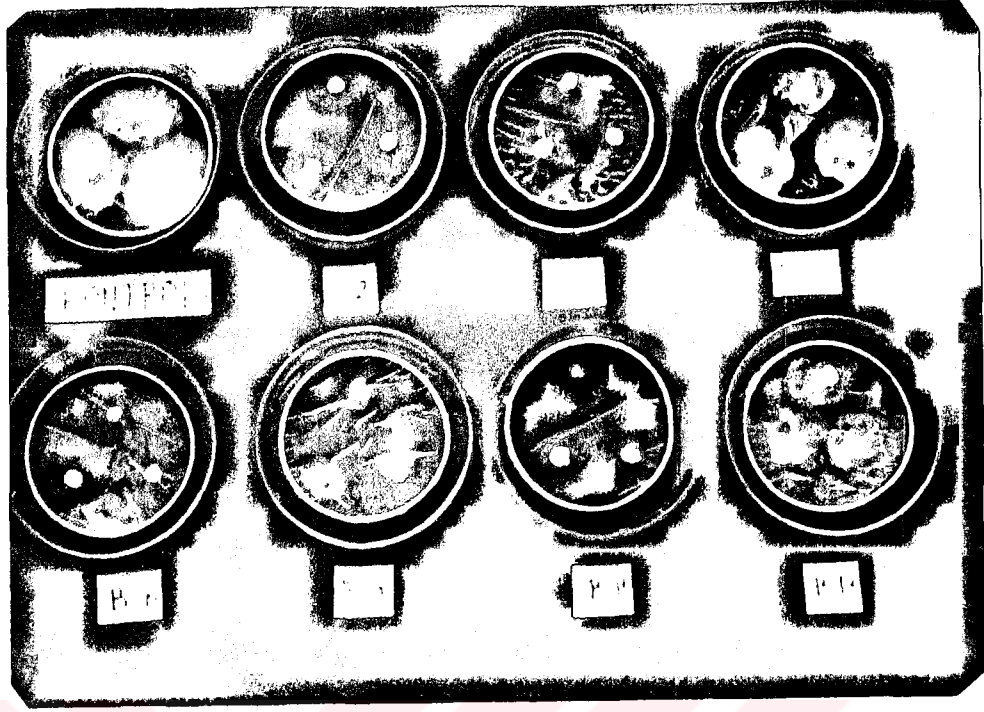
İzolat no	Kont.	B-2	B-3	B-5	B-6	B-8	B-9	B-10	B-11	B-13	P-PP	P-PS
Gelişme Yarıçapı cm	2.00	0.83	Disk	1.92	Disk	0.63	0.87	Disk	0.61	1.00	Disk	Disk
% inhibisyon		58.5	100	4	100	68	0.87	100	69.5	50	100	100

Çizelge 18' de verilen ROÇ kod nolu bakterilerden ise, ROÇ-4 0.59 cm, ROÇ-6 1.50 cm, ROÇ-7 0.25 cm, ROÇ-8 1.44 cm, ROÇ-9 1.49 cm çapında patojenin gelişmesine izin vermiştir. Patojen kontrolda ise 1.50 cm gelişmiştir. Görüldüğü gibi ROÇ-4 ve ROÇ-7 oldukça yüksek bir antibiyotik üretimi ile etki gösterirken, diğer bakteriler ya kontrol ile aynı yada yakın sonuçlar vererek antagonistik etkide bulunmamışlardır.

Çizelge 18. Rutin olmayan çıkışlardan izole edilen antagonist bakteri izolatlarının agar-halka yönteminde *Phytophthora citrophthora* ' yı engellemeleri

İzolatno	Kontrol	ROÇ-4	ROÇ-6	ROÇ-7	ROÇ-8	ROÇ-9
Gelişme yarıçapı cm	1.50	0.59	1.50	0.25	1.44	1.49
% İnhibisyon		60.60	0.00	83.30	4.00	0.60

P. citrophthora ' ya floresan *Pseudomonas* ' ların hifsel lysis yoluyla (BROADBENT ve BAKER, 1974 a), *P. parasitica* ' ya karşı *Pseudomonas* türlerinin antibiyotik üretimi yoluyla (SARBINI ve KOMMEDAHL, 1977) antagonistik etki gösterdiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. *Phytophthora* ' ya antagonistik etki gösteren bakteriler tarafından üretilen antibiyotiklerin in vitro' da incelendiği bir



Resim 9. Antagonist bakteri izolatlarının agar-halka yönteminde *Phytophthora citrophthora* ' yı engellemeleri

çalışmada ise, *Phytophthora* hifi üzerinden izole edilmiş olan antagonist bakterilerin, hücre dışından etki ederek patojenin ölümüne yol açan bazı metabolitleri salgıladığı düşünülmüştür. Araştırcının bu yorumu yapma nedeni, erken dönemdeki hif ölümünde hiflerdeki bakteri penetrasyonunun gözlenmemiş olmasıdır. Daha geç dönemlerde hif içinde de bakteri saptanmış olup, hücre duvarında diğer etmenler tarafından açılan geçitlerden bakterilerin girebildiği kanısına varılmıştır (MALAJCZUK, 1983). Görüldüğü gibi araştırmacıların elde ettiği sonuçlarla bu çalışmada verilen sonuçlar bir uyum içerisindedir.

4.3.2.3. Sıvı Kültürde Bakterilerin Antagonistik Etkileri

Antagonist bakterilerin PD sıvı kültürde *P. citrophthora* ' nın gelişmesini engellemeleri makroskobik olarak gözlenmiş olup, sonuçlar Çizelge 19' da gösterilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi B-8, B-9, B-11 nolu izolatlar kuvvetli bir gelişmeyle 7. günde, diğerleri 14. günde patojenin lysis olmasına neden olmuşlardır.

Yapılan birçok in vitro çalışmalarda da antagonist bakterilerin hifsel lysis şeklinde *P. citrophthora* ' ya karşı gösterdikleri antagonistik etkiler bu sonucu desteklemektedir (BROADBENT ve BAKER, 1974 a; MALAJCZUK,1981; MENGE, 1990).

Çizelge 19. Antagonist bakteri izolatlarının PD sıvı kültürde *Phytophthora citrophthora* ' nın gelişmesini engellemeleri

İzolat no	7. günde gelişme	14. günde gelişme
ROÇ-4	Hafif gelişme	Lysis
ROÇ-7	Hafif gelişme	Lysis
B-3	Hafif gelişme	Lysis
B-2	Hafif gelişme	Lysis
B-6	Hafif gelişme	Lysis
B-8	Lysis	Lysis
B-9	Lysis	Lysis
B-10	Hafif gelişme	Lysis
B-11	Lysis	Lysis
B-13	Hafif gelişme	Lysis
P-PP	Hafif gelişme	Lysis
P-PS	Hafif gelişme	Lysis
KONTROL	Pamuğumsu hifsel gelişme	Pamuğumsu hifsel gelişme

4.3.3. Antagonistler ile Saksı Çalışmaları

In vitro çalışmalarda etkili bulunan antagonist bakteri ve fungus izolatlarının *P. citrophthora* ' nın oluşturduğu kök çürüklüğü hastalığına karşı engelleyici etkileri saksı denemeleriyle araştırılmıştır. Antagonist bakteri izolatlarının saksı çalışmaları

3. ve 6. ayda değerlendirilmiş ve sonuçları Çizelge 20 ve 21' de gösterilmiştir. Antagonist bakteri izolatlarının uygulandığı saksı topraklarında *P. citrophthora* 'nın cm^3 toprakta bulunma yoğunluklarının verildiği Çizelge 22 incelendiğinde, yalnız patojenin verildiği pozitif kontrol olan K3 saksı topraklarında *P. citrophthora* 32 propagül/ cm^3 çıkarken, patojen ve antagonistin birlikte uygulandığı U1 topraklarında bu oran en düşük 2 p/ cm^3 toprak, en yüksek 14 p/ cm^3 toprak olarak saptanmıştır. Dolayısıyla antagonistler, topraktaki patojen popülasyonunu en az % 50' ye indirmiştir. Antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojenin uygulandığı U2' de ise oranlar 4-10 p/ cm^3 toprak arasında değişmektedir ki, bu sonuçlara göre antagonistlerin % koruyucu etkileri en az % 61 olarak saptanmıştır. Nitekim, 3. ay değerlendirilmesinin verildiği Çizelge 20 incelendiğinde sonuçlar daha açık görülmektedir. Çizelge 20' de patojen, kontrol bitkilerde % 18 kök infeksiyonuna neden olurken, antagonistlerin olduğu saksılarda gerek U1 ve gerekse U2 uygulamalarında B-10, P-PP, P-PS, ROÇ-4 ve ROÇ-7 kod nolu izolatlarda % kök infeksiyonu görülmemiş, ancak diğer izolatlarda % 1-9 arasında değişen düşük değerleri almışlardır. Buna bağlı olarak da antagonistlerin % koruyucu etkileri, 3. ay değerlendirmesinde % 50-100 arasında değişen yüksek değerlerde saptanmıştır. Bakterilerin 6. ay değerlendirilmesinde ise (Çizelge 21), % koruyucu etkiler B-13' de % 20 iken, diğer izolatlarda % 40-73 arasında değişmiştir. Görüldüğü gibi, 6. ay değerlendirilmesinde 3. ay değerlendirmesine göre etkilerde azalmalar olmakla birlikte antagonistler yine de koruyucu etkilerini devam ettirmişlerdir. B-8 ve B-9 *Pseudomonas* spp. olup, bunların etkileri 3. ayda sırasıyla % 83 ve % 100 iken 6. ayda % 46 ve % 66 olarak saptanmıştır. MENGE (1990), Kaliforniya' da turuncgil kök çürüklüğüne neden olan *P. citrophthora* üzerinde yaptığı çalışmalarda hem toprak ve hem de petri kaplarındaki *Phytophthora* hifleriyle yakın ilişki içinde olan *Pseudomonas putida* 'nın seradaki fidanlarda kök çürüklüğü hastalığının kontrolünü sağladığını bildirmiştir. AKTEKE (1993)' de *Bacillus* türlerinde, *P. citrophthora* 'nın neden olduğu kahverengi meyve çürüklüğüne ve gövde zamklanmasına karşı % 50 etki elde etmiştir. *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp.' nin *P. citrophthora* 'ya karşı antagonistik etki gösterdiğini bildiren diğer bazı

literatüre de rastlanmaktadır (BROADBENT ve Ark., 1971; BROADBENT ve BAKER,1974 a; MALAJCZUK, 1981).

Saksı topraklarında uygulamalardan 3 ve 6 ay sonra tüm bakteriler reizole edilebilmiştir. Bu da antagonistlerin bu zaman dilimleri içerisinde saksı topraklarında barınabildiği sonucunu göstermektedir. Yalnız antagonist inokulumlarının verildiği (K3) turunçgil köklerinde de çürüklük görülmediğinden antagonistlerin köklerde patojen olmadığı da böylece belirlenmiştir. AKTEKE (1993), çalışmasında saptadığı antagonist toprak bakterilerinin turunçgillerin gövde dal ve meyvelerinde hastalık oluşturmadığını bildirmiştir.

Gerek yukarıdaki çalışmalarda ve gerekse bu çalışmada görüldüğü gibi turunçgil topraklarında ve kök yüzeyinde önemli bir potansiyele sahip olan bakterilerin antagonistik etkileri, *P. citrophthora* 'nın neden olduğu kök çürüklüğü hastalığının kontrolunda ümitvar sonuçlar vermektedir.

Çizelge 20. Antagonist bakteri izolatlarının saksı çalışmalarında *Phytophthora citrophthora* 'dan oluşan % kök infeksiyon oranları ve patojene karşı % koruyucu etkilerinin üçüncü ay değerlendirmesi

İzolat no	K1	K2	K3	U1	U1	U2	U2
	%Kİ	%Kİ	% Kİ	% Kİ	% KE	% Kİ	% KE
B-2	0	18	0	9	50	7	61
B-3	0	18	0	3	83	3	83
B-5	0	18	0	6	66	7	61
B-6	0	18	0	5	72	5	72
B-8	0	18	0	3	83	3	83
B-9	0	18	0	1	94	0	100
B-10	0	18	0	0	100	0	100
B-11	0	18	0	5	72	5	72

Çizelge 20' nin devamı

B-13	0	18	0	7	61	8	55
P-PP	0	18	0	0	100	0	100
P-PS	0	18	0	0	100	0	100
ROÇ-4	0	18	0	0	100	0	100
ROÇ-7	0	18	0	0	100	0	100

K1: Uygulama yok (Negatif Kontrol)

K2: Yalnız patojen inokulumu verilmiştir (Pozitif Kontrol)

K3: Yalnız antagonist inokulumu verilmiştir

U1: Patojen ve antagonist birlikte uygulanmıştır

U2: Antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojen uygulanmıştır

Kİ: Kök infeksiyonu

KE: Koruyucu etki

Çizelge 21. Antagonist bakteri izolatlarının saksı çalışmalarında U2 uygulamasında *Phytophthora citrophthora* ' dan oluşan % kök infeksiyon oranları ve patojene karşı % koruyucu etkilerinin altıncı ay değerlendirilmesi

İzolat no		B-2	B-3	B-5	B-6	B-8	B-9	B-10	B-11	B-13	P-PP	P-PS	ROÇ-4	ROÇ-7
U2	%Kİ	9	7	7	5	8	5	5	9	12	5	6	4	6
	%KE	40	53	53	66	46	66	66	40	20	66	60	73	60
Kontrol	%Kİ	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15

U2: Antagonist ve patojen birlikte uygulanmıştır

Kİ: Kök infeksiyonu

KE: Koruyucu etki

Kontrol: Yalnız patojen inokulumu verilmiştir

Çizelge 22. Antagonist bakteri izolatlarının saksı çalışmalarında *Phytophthora citrophthora* 'nın toprakta bulunma yoğunluğu (Propagül/cm³ toprak)

İzolat no	K1	K2	K3	U1	U2
B-2	0	32	0	10	8
B-3	0	32	0	4	6
B-5	0	32	0	14	8
B-6	0	32	0	14	8
B-8	0	32	0	14	6
B-9	0	32	0	6	4
B-10	0	32	0	12	6
B-11	0	32	0	6	8
B-13	0	32	0	10	10
P-PP	0	32	0	8	6
P-PS	0	32	0	6	6
ROÇ-4	0	32	0	8	7
ROÇ-7	0	32	0	8	7

K1: Uygulama yok (Negatif Kontrol)

K2: Yalnız patojen inokulumu verilmiştir (Pozitif Kontrol)

K3: Yalnız antagonist inokulumu verilmiştir

U1: Patojen ve antagonist birlikte uygulanmıştır

U2: Antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojen uygulanmıştır



Resim 10. Saksı çalışmalarının yürütüldüğü klima odasının genel görünüşü

İn vitro' da ikili kültür ve gliotoksin fermentasyon ortamıyla çalışılan ve etkili bulunan antagonist fungus izolatlarıyla yapılan saksı çalışmaları 6. ayda değerlendirilmiş olup, sonuçları Çizelge 23 ve 24' de gösterilmiştir. Antagonist fungusların *P. citrophthora* ' dan oluşan % kök infeksiyonu oranları ve patojene karşı % koruyucu etkilerinin yer aldığı Çizelge 23 incelendiğinde, yalnız patojen inokulumunun verildiği K2 uygulamasında % kök infeksiyonu % 15 olarak saptanırken, T-1, T-2, T-3, T-4 kodları altında anılan *Trichoderma* spp.' de kök infeksiyonu hiç görülmemiş olup patojene karşı %100 koruyucu etki göstermişlerdir. F-7 ve F-12 kod nolu funguslar *Aspergillus* spp. olup, patojen ve antagonistin birlikte uygulandığı U1 uygulamasında F-7 % 4 kök infeksiyonu, % 73 koruyucu etki

gösterirken, F-12 % 2 kök infeksiyonu, % 86 koruyucu etki göstermiştir. Antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojenin uygulandığı U2' de ise her iki izolat da %2 kök infeksiyonu ve % 86 koruyucu etki göstermişlerdir. F-2 (*Penicillium* sp.), F-9 (*Rhizopus* sp.), F-10 (*Mucor* sp.) izolatları ise sırasıyla, U1' de % 46, % 53 ve % 40; U2' de % 66, % 60 ve % 53 koruyucu etki göstermişlerdir.

Tüm uygulamaların yapıldığı saksı topraklarında *P. citrophthora* 'nın propagül/ cm³ olarak bulunma yoğunluklarının gösterildiği Çizelge 24 incelendiğinde, kontrolde patojen 28 p/cm³ yoğunlukta iken, uygulamaların olduğu saksılarda F-2, F-9 ve F-10 dışında diğerlerinde 2-8 p/cm³ arasında değişmiştir. Bu değerler, *Trichoderma* spp. ve *Aspergillus* spp.'nin topraktaki inokulum düzeyini oldukça düşürdüğünü göstermektedir. F-2, F-9 ve F-10 sırasıyla patojen popülasyonunu U1' de 14, 16 ve 24 p/cm³ e indirebilirken, U2' de 12, 12 ve 20 p/cm³ e düşürmüştür. Daha önce de belirtildiği gibi, F-2, F-9 ve F-10 nolu izolatların % koruyucu etkileri de diğerlerine göre düşük oranlarda saptanmıştır (Çizelge 23). Tüm uygulamalarda ve yapılan reizolasyonlarda antagonistler 6 ay sonra saksı topraklarından tekrar izole edilerek reizolatları elde edilmiştir. Ayrıca, yalnız antagonist inokulumunun verildiği K3 uygulamasında bitkilerde kök çürüklüğüne rastlanmadığı için başarılı olan antagonistlerin köke zarar vermediği, dolayısıyla rahatlıkla kullanılabileceği kanısı uyanmıştır. AKTEKE (1993), antagonist *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp. ve *Penicillium* spp. 'lerinin limon çöğürlerinin gövde ve dallarında patojen olmadıklarını bildirirken, 1 *Aspergillus* sp., 2 *Penicillium* sp. ve *T. pseudokoningii* 'nin meyvede çürüklük oluşturduğunu bildirmiştir. OFFER (1987) ise yine benzer bir çalışmada, *T. viride* 'nin turuncgil meyvelerinde çürüklük oluşturduğunu saptamıştır. UZAK ve Ark. (1994)' da bazı *Trichoderma* türlerinin *P. citrophthora* 'nın neden olduğu turuncgillerde kahverengi meyve çürüklüğüne karşı paketleme evlerinde başarıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada ise, patojene karşı % 40-100 arasında değişen oranlarda bir koruyuculuk gösteren antagonistlerin, turuncgil köklerinde çürüklük oluşturmadığı da göz önüne alınırsa, kök çürüklüğü infeksiyonlarına karşı bu antagonistlerin kullanılabileceği söylenebilir. Nitekim bu sonuçlar literatür ile de desteklenmekte olup,

BİÇİCİ ve Ark. (1987) limon ağaçlarının yapay inokulasyonu ile *Trichoderma* türlerinin gövde zamklanma simptomlarını % 50 azalttığını, AKTEKE (1993) *Trichoderma* türlerinin turunçgillerde kahverengi meyve çürüklüğüne karşı % 50-58.3' lük bir gerileme oluşturduğunu ve gövde zamklanmasına karşı ise % 33.33 oranında bir etki gösterdiğini saptamışlardır.

Çalışmada ayrıca, antagonistin toprağa verildikten 1 hafta sonra patojenin verildiği U2 uygulamasındaki % koruyucu etki değerleri, patojen ve antagonistin birlikte verildiği U1 uygulamasındaki % koruyucu etki değerlerinden daha yüksek oranlarda saptanmıştır. Dolayısıyla, antagonistin patojenden 1 hafta önce uygulanması, antagonistin toprağa daha önce yerleşmesini sağlayarak antagonistik etkinin yükselmesine olanak sağlamıştır.

Çizelge 23. Antagonist fungus izolatlarının saksı çalışmalarında *Phytophthora citrophthora* ' dan oluşan % kök infeksiyon oranları ve patojene karşı % koruyucu etkileri

İzolat no	K-1	K-2	K-3	U1	U1	U2	U2
	%Kİ	%Kİ	%Kİ	%Kİ	%KE	%Kİ	%KE
T-1	0	15	0	0	100	0	100
T-2	0	15	0	0	100	0	100
T-3	0	15	0	0	100	0	100
T-4	0	15	0	0	100	0	100
F-2	0	15	0	8	46	5	66
F-7	0	15	0	4	73	2	86
F-9	0	15	0	7	53	6	60
F-10	0	15	0	9	40	7	53
F-12	0	15	0	2	86	2	86

K1: Uygulama yok (Negatif Kontrol)

K2: Yalnız patojen inokulumu verilmiştir (Pozitif Kontrol)

K3: Yalnız antagonist inokulumu verilmiştir

U1: Patojen ve antagonist birlikte uygulanmıştır

U2: Antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojen uygulanmıştır

K1: Kök infeksiyonu

KE: Koruyucu etki

Çizelge 24. Antagonist fungus izolatlarının saksı çalışmalarında *Phytophthora citrophthora* 'nın toprakta bulunma yoğunluğu (p/cm³ toprak)

İzolat no	K1	K2	K3	U1	U2
T-1	0	28	0	8	8
T-2	0	28	0	4	2
T-3	0	28	0	2	2
T-4	0	28	0	2	2
F-2	0	28	0	14	12
F-7	0	28	0	4	2
F-9	0	28	0	16	12
F-10	0	28	0	24	20
F-12	0	28	0	6	2

K1: Uygulama yok (Negatif Kontrol)

K2: Yalnız patojen inokulumu verilmiştir (Pozitif Kontrol)

K3: Yalnız antagonist inokulumu verilmiştir

U1: Patojen ve antagonist birlikte uygulanmıştır

U2: Antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojen uygulanmıştır

4.3.4. Antagonistlerin Tanımları

Antagonist mikroorganizmaların tanı çalışmalarının sonuçları Çizelge 25' de verilmiştir.

Çizelge 25. Antagonist mikroorganizmalar

İzolat no	Mikroorganizmalar
F-2	<i>Penicillium</i> sp.
F-7	<i>Aspergillus niger</i>
F-12	<i>A. ochraceus</i>
F-9	<i>Rhizopus</i> sp.
F-10	<i>Mucor</i> sp.
T-1	<i>Trichoderma pseudokoningii</i>
T-2	<i>T. viride</i>
T-3	<i>T. harzianum</i>
T-4	<i>T. hamatum</i>
B-8	<i>Pseudomonas</i> sp.
B-9	<i>Pseudomonas</i> sp.

Antagonist bakterilerin tanılama testlerine karşı verdikleri reaksiyonlar Çizelge 26' da görülmektedir.

Çizelge 26. Antagonist bakterileri tanılama testleri

İzolat no	Floresan Pigment Oluşumu	Tütünde Aşırı Du-yarlılık (HSR)	Potasyum Hidrosit (KOH)	Oksidaz	Nişasta Hidrolizasyonu	Jelatin Hidrolizasyonu	Levan Oluşumu	Arginin Dehidrolaz	Patates Çürük-lüğü	Tanı
B-2	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
B-3	-	-	+	-	+	+	-	-	-	
B-6	-	-	-	+	-	+	-	+	-	
B-8	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>Pseudomonas</i> sp.
B-9	+	-	+	+	+	-	-	+	-	<i>Pseudomonas</i> sp.
B-10	-	-	+	-	+	-	-	-	-	
B-11	-	+	+	-	+	+	-	-	-	
B-13	-	-	+	+	-	-	-	-	-	
P-PP	-	-	+	-	+	+	-	-	-	
P-PS	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
ROÇ-4	-	-	+	-	+	+	-	-	-	
ROÇ-7	-	-	-	-	+	-	-	-	+	

Floresan Pigment Oluşumu

King-B ortamında B-8 ve B-9 nolu izolatlar floresan pigment oluşturmuşlar ve *Pseudomonas* cinsine dahil edilmişlerdir.

Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HSR)

Yalnız B-11 izolatu pozitif reaksiyon oluşturmuştur.

Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

B-6 ve ROÇ-7 nolu izolatlar bu test' de sünme göstermediğinden Gram (+) olarak değerlendirilmiştir. Diğer bakteri izolatları ise Gram (-) olarak saptanmıştır.

Oksidaz Testi

Oksidaz test solusyonu ile ıslatılan filtre kağında B-6, B-8, B-9, B-13, P-PS nolu izolatlar pozitif reaksiyon vermiş ve 10 saniye içinde koyu mor renk oluşturmuşlardır. Diğerleri negatif sonuç vermiştir.

Nişasta Hidrolizasyon Testi

Bakteriler üzerine koyu renkli lugol eriyiği döküldüğünde B-6 ve B-13 nolu izolatlarda açık renkli alanlar oluşmamış ve negatif olarak değerlendirilmiştir. Diğer izolatlar pozitif sonuç vermiştir.

Jelatin Hidrolizasyon Testi

B-3, B-6, B-8, B-11, P-PP ve ROÇ-4 pozitif reaksiyon vermiş olup, aşılamaadan 7 gün sonra ortamı sıvılaştırmışlardır.

Levan Oluşumu

B-8 nolu *Pseudomonas* izolatu NSA ortamında konveks, mukoid koloni oluşturukun, B-9 nolu *Pseudomonas* izolatu oluşturmamıştır.

Arginindehidrolaz Testi

B-6, B-8 ve B-9 nolu izolatlar kırmızıdan vişne rengine dönüşüm göstermiş

olduğundan pozitif olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak aşılammamış tüp ve diğer bakterilerin olduğu tüplerde renk değişimi olmamıştır.

Patates Çürüklüğü Testi

ROÇ-7 izolatının inokule edildiği bölgenin çevresindeki yumuşama ve çürüme pozitif olarak değerlendirilmiştir.



5. SONUÇLAR

Turunçgillerin gövdelerinde zamklanma, meyvelerinde kahverengi çürüklük, köklerinde çürüklük hastalığına neden olan *Phytophthora citrophthora* 'nın turunçgil bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmalarını, kök infeksiyonlarını ve biyolojik mücadelesine veriler teşkil edecek olan antagonistlerinin saptanması amacıyla ele alınan bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Ağaç gövdelerinde hastalık simptomsu gösteren etmenle bulaşık bahçelerden laboratuvara getirilen meyve, kök ve toprak örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu 12 fungus izolatu elde edilmiş olup, tüm izolatlar *P. citrophthora* olarak tanılanmıştır. Limon meyvelerinde yapılan patojenite testine göre PA-5 kod nolu *P. citrophthora* izolatu meyvelerde 8.2 cm boy, 7.8 cm en ortalama değeri ile kahverengi çürüklük oluşturarak virülensliği en yüksek izolatu olarak kabul edilmiş ve çalışmalarda bu izolatu kullanılmıştır (Çizelge 1; Resim 2).

Etmenin bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmalarını saptamak amacıyla, gövdede hastalık simptomslarının görüldüğü Büyük Kapılı, Tömük ve Davultepe' de bulunan bulaşık bahçeler ile gövdede hastalık simptomslarının görülmeydiği kontrol olarak seçilen Yakapınarı, Şihmurat ve Kale' de bulunan sağlıklı bahçelerden yıl boyunca toprak ve kök izolasyonları yapılmıştır. *P. citrophthora* 'nın bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmalarının verildiği Çizelge 2 ve kök yüzeyi üzerindeki populasyon dalgalanmalarının verildiği Çizelge 3 incelendiğinde sağlıklı ve hastalıklı bahçelerde etmenin populasyon düzeyleri arasında büyük farklar olmadığı, hatta bazı aylarda sağlıklı bahçelerin hastalıklı bahçelere yakın veya daha yüksek inokulum düzeylerine ulaştığı görülmektedir. Ancak bilindiği gibi, inokulumu toprakta baskı altında tutan canlı ve cansız birçok faktör vardır. Bahçede hastalığın çıkışıda patojenin toprakta bulunmasının yanısıra, ağaçların beslenme ve diğer stres faktörleri sonucu etmene duyarlı hale gelmesi ile gerçekleşmektedir.

Yıl içinde etmen populasyonunun aylara göre dalgalanmaları incelendiğinde (Çizelge 2, Şekil 1) Haziran ayında inokulum düzeyi tüm bahçelerde en yüksek değeri almıştır. Bu ayda toprağa düşen yağış ve ortalama sıcaklığın etmen için

uygun olması bu sonucu vermiştir. Temmuz ve Ağustos aylarında yağışın çok az olması ve sıcaklığın çok yükselmesi populasyon düşüşüne neden olmuştur. Eylül ve Ekim aylarında hava sıcaklığının düşmeye başlamasıyla birlikte azda olsa yağışın alınması inokulumu biraz olsun artırmıştır. Kasım ayı ortalarına kadar yağışın çok oluşu (218.3 mm) inokulum artışını devam ettirmiş, ancak inokulumdaki bu artış sıcaklığın düşmesiyle birlikte son bulmuştur. Nitekim Aralık ve Mayıs arasındaki dönemde fungus bu nedenlerden dolayı çok düşük inokulum düzeylerinde saptanmıştır. Görüldüğü gibi *P. citrophthora* 'nın topraktaki dağılımıyla yağış miktarı, örneklemenin yapıldığı dönemdeki toprak nem içeriği ve etmen için uygun olan sıcaklık isteği arasında yakın bir ilişki vardır. Bunun yanısıra literatürde de bildirildiği gibi toprağın bünyesi, içerdiği organik ve inorganik maddeler ve pH'ın da etmenin populasyonunu etkileyebileceği de düşünülebilir.

Kontrollü koşullarda kaba limon çöğürleri üzerinde yapılan kök inokulasyonlarında en yüksek kök çürüklüğü % 11 ile 18 SKD+I uygulamasında elde edilmiştir. Kök çürüklüğünün olduğu bu saksı toprağında *P. citrophthora* populasyonu 16 p/cm^3 yoğunluğunda saptanmıştır. Doğada yapılan çalışmalarda geç sonbahar döneminde bahçe topraklarındaki *P. citrophthora* 'nın inokulum düzeylerine göre % kök infeksiyonlarının çıkışı Aralık ve Ocak aylarında düşen yağış miktarlarının çok yüksek olmasına karşın sıcaklığın $8-9^\circ \text{C}$ civarında oluşu fungusun gelişmesi için uygun olmadığından oldukça düşük değerlerde saptanmıştır. İlkbaharda kurulan denemede ise topraktaki inokulum düzeyleri sonbahardaki değerlerden çok yüksek olmamasına rağmen, % kök infeksiyon oranları Nisan ve Mayıs aylarının gerek yağış ve gerekse sıcaklık değerlerinin fungusun aktivitesi için daha uygun olması nedeniyle Aralık-Ocak aylarına göre biraz daha yüksek değerler almıştır.

P. citrophthora 'ya antagonistik etki gösterecek olan fungus ve bakteri izolatlarını elde etmek amacıyla deneme bahçelerinden yıl boyunca alınan toprak ve kök örneklerinden yapılan izolasyonlardan 19 fungus ve 13 bakteri izolatu elde edilmiştir. İzolatlardan F-2, F-7, F-9, F-10, F-12, T-1, T-2, T-3, T-4 kod nolu 9 adet fungus ile B-2, B-3, B-5, B-6, B-8, B-9, B-10, B-11, ROÇ-4, ROÇ-7, P-PS, P-PP kod

nolu 12 adet bakteri in vitro' da antagonistik etki göstermişlerdir. Funguslardan *Penicillium* sp. ikili kültürde 7. günde % 39, *Aspergillus niger* % 39, *Aspergillus ochraceus* % 53.34, *Mucor* sp. % 64.50, *Trichoderma pseudokoningii* % 70.54, *T. viride* % 71.24, *T. harzianum* % 71.38, *T. hamatum* % 71.66 inhibisyon vermişlerdir. Bakterilerin ikili kültürde gösterdikleri % inhibisyon değerleri ise % 28.94 ile % 51.49 arasında değişmiştir. Fungusların gliotoksin-fermentasyon sıvı kültür çalışmasında % inhibisyon değerleri % 49.53 ile % 78.70 arasında değişmiştir. Bakteriler agar-halka yönteminde ise, patojenin ya disk olarak kalmasına veya çok az gelişmesine neden olmuşlardır. Bakterilerin agar-halka yönteminde gösterdikleri % inhibisyon değerleri ise % 50 ile % 100 arasında değişmiştir. Tüm antagonist bakteri izolatları PD sıvı kültüründe ise 14.günde patojenin lysis olmasına neden olmuşlardır.

In vitro çalışmalarda etkili bulunan antagonist bakteri ve fungus izolatlarının *P. citrophthora* 'nın oluşturduğu kök çürüklüğü hastalığına karşı koruyucu etkileri saksı denemeleriyle de araştırılmıştır. Patojen ve antagonist bakterilerin saksılara birlikte verildiği U1 uygulamasında koruyucu etkiler % 50-100 arasında değişirken, antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojenin uygulandığı U2 uygulamasında ise koruyucu etkiler % 63-100 arasında değişmiştir. Antagonist funguslar ise U1 uygulamasında % 40-100 arasında, U2 uygulamasında ise % 53-100 arasında değişen değerlerde patojene karşı % koruyucu etki göstermişlerdir.

Antagonist izolatların tanı çalışmalarında F-2 *Penicillium* sp., F-7 *Aspergillus niger* , F-9 *Rhizopus* sp., F-10 *Mucor* sp., T-1 *Trichoderma pseudokoningii* , T-2 *T. viride* , T-3 *T. harzianum* , T-4 *T. hamatum* , B-8 ve B-9 *Pseudomonas* spp. olarak tanılanmıştır. Diğer 10 antagonist bakteri ise tanılanamamış, ancak bir dizi testler uygulanarak bazı özellikleri saptanmıştır.

Uygulanan tanılama testlerine göre bakterilerden B-8 ve B-9 floresan pigment oluşumuna; B-11 tütünde aşırı duyarlılık testine; B-2, B-3, B-8, B-9, B-10, B-11, B-13, P-PP, P-PS, ROÇ-4 potasyum hidroksit testine; B-6, B-8, B-9, B-13, P-PS oksidaz testine; B-2, B-3, B-8, B-9, B-10, P-PP, P-PS, ROÇ-4, ROÇ-7 nişasta hidrolizasyon testine; B-3, B-6, B-8, B-11, P-PP, ROÇ-4 jelatin hidrolizasyon testine;

B-8 levan oluşumu testine; B-6, B-8, B-9 arginindehidrolaz testine; ROÇ-7 patates çürüklüğü testine pozitif sonuç vermiştir.

Sonuç olarak, her ne kadar söz konusu antagonist mikroorganizmaların doğadaki biyo-ekolojisi hakkındaki bilgilerimiz yeterli düzeyde olmasa da, turunçgil toprak ve köklerinde yerleşik olan bu antagonist bakteri ve fungus izolatlarının toprak kökenli patojen olan *P. citrophthora* ' dan kaynaklanan kök çürüklüğünün biyolojik kontrolünde ümitvar olduğu görülmektedir. Bu gibi antagonistlerin pratikte henüz kullanıma olanağı olmasa da özellikle son yıllarda ülkemizde de gelişme gösteren plastik tüplerde turunçgil fidanı üreticiliğinde kullanıma şansının olduğu söylenebilir.



ÖZET

Turunçgillerde gövde zamklanması, kök çürüklüğü ve meyvelerde kahverengi çürüklük oluşturan *Phytophthora citrophthora* 'nın turunçgil topraklarındaki populasyon dalgalanmalarının, kök infeksiyonlarının ve antagonistlerinin araştırıldığı bu çalışma 1990-1994 yılları arasında yürütülmüştür.

Hastalık simptomlarının görüldüğü bahçelerden alınan toprak, kök ve meyve örneklerinden spesifik yöntemlerle ve PARPH selektif ortamı ile yapılan izolasyonlardan 12 *P. citrophthora* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlarla limon meyvelerinde yapılan patojenite testine göre PA-5 kod nolu izolat en virulent fungus olarak saptanmış ve çalışmalarda bu izolat kullanılmıştır.

P. citrophthora 'nın bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmalarını incelemek amacıyla ağaçlarda gövde simptomlarının görüldüğü Büyük Kapılı, Tömük ve Davultepe' de bulunan 3 bulaşık limon bahçesi ve simptomların görülmediği Kale, Yakapınarı ve Şihmurat' daki 3 sağlıklı limon bahçesi deneme alanı olarak seçilmiştir. Yıl boyunca yapılan izolasyonlarda, Haziran ayındaki yapılan örneklemelerde tüm bahçe topraklarında etmenin inokulum oranlarının en yüksek değerlere ulaştığı görülmektedir. Haziran ayında, ortalama sıcaklık *P. citrophthora* 'nın gelişme sıcaklığına çok yakın bir değer olan 24.5° C' yi bulurken,örnekleme tarihinde toprağa düşen yağışın 91.40 mm olması fungus için uygun koşullar yaratmıştır. Temmuz ve Ağustos aylarında artan sıcaklık ve iyice azalan yağışla populasyon düşerken, Eylül ve Ekim aylarındaki hava sıcaklığının düşmeye başlamasıyla birlikte inokulum biraz artırmıştır. Kasım ayı ortalarına kadar yağışın çok (218.3 mm) ve toprak sıcaklığının yeterli oluşu inokulum artışını sürdürmüş, ancak inokulumdaki bu artış sıcaklığın düşmesiyle birlikte son bulmuştur. Nitekim Aralık ve Mayıs ayları arasındaki dönemde patojen bu nedenlerden dolayı çok düşük inokulum düzeylerinde saptanmıştır. Bu çalışmada etmenin topraktaki dağılımında iklim faktörlerinin ve özellikle sıcaklığın büyük oranda etkisi olduğu görülmektedir. Ancak suyun primer faktör olduğu kabul edilmektedir. Nitekim bahçelerde gerek yağmur ve gerekse yağmurun olmadığı zaman dilimlerinde, su faktörünün sulama ile karşılanması halinde, bunun sınırlayıcı etkisi kısmen de olsa ortadan kaldırılabilir.

İklim kontrollü koşullarda, kaba limon çöğürleriyle yapılan kök inokulasyonlarında 18 SKD+I uygulaması başarılı olup, % 11 kök çürüklüğü oluşturmıştır. Doğada kök infeksiyonlarını saptamak amacıyla geç sonbahar ve

ilkbaharda yürütülen çalışmalarda, % kök infeksiyon oranları Nisan ve Mayıs aylarının yağış ve sıcaklık değerlerinin fungusun gelişmesi için daha uygun olması nedeniyle, Aralık ve Ocak aylarına göre daha yüksek değerlerde saptanmıştır. Kontrollü koşullarda yapılan paralel çalışmada ise etmenin sıcaklık isteği optimuma yakın tutulduğu için bu oranlar genel olarak daha yüksek seyretmiştir.

P. citrophthora ' ya antagonistik etki gösterecek izolat elde etmek amacıyla yapılan toprak ve kök izolasyonlarından 9 antagonist fungus, 12 antagonist bakteri izolatu elde edilmiştir.

In vitro' da ikili kültür çalışmalarında *Penicillium* sp. % 39, *Aspergillus niger* % 39, *A. ochraceus* % 53.34, *Mucor* sp. % 64.50, *Trichoderma pseudokoningii* % 70.54, *T. viride* % 71.24, *T. harzianum* % 71.38, *T. hamatum* % 71.66 oranlarında inhibisyon oluşturmuşlardır. Fungusların gliotoksin-fermentasyon sıvı kültür çalışmasında inhibisyon değerleri % 49.53-78.70 arasında değişmiştir.

Bakterilerin in vitro' da ikili kültürde gösterdikleri inhibisyon değerleri ise % 28.94-51.49 arasında değişmiştir. Bakterilerin agar-halka yönteminde gösterdikleri inhibisyon değerleri ise % 50-100 arasında değişmiştir. PD sıvı kültür çalışmalarında tüm antagonist bakteri izolatları patojenin lysis olmasına neden olmuşlardır.

In vitro çalışmalarda etkili bulunan antagonistlerin kök çürüklüğüne karşı koruyucu etkileri iklim kontrollü koşullarda saksı çalışmalarıyla araştırılmıştır. Patojen ve antagonist bakterilerin saksılara birlikte verildiği U1 uygulamasında koruyucu etkiler % 50-100 arasında değişirken, antagonist uygulandıktan 1 hafta sonra patojenin uygulandığı U2 uygulamasında ise koruyucu etkiler % 63-100 arasında değişmiştir. Antagonist funguslar ise, U1 uygulamasında % 40-100 arasında, U2 uygulamasında ise patojene karşı % 53-100 arasında değişen koruyucu etkiler oluşturmuşlardır.

Antagonist izolatların tanı çalışmalarında funguslardan F-2 *Penicillium* sp., F-7 *Aspergillus niger* , F-9 *Rhizopus* sp., F-10 *Mucor* sp., T-1 *Trichoderma pseudokoningii* , T-2 *T. viride* , T-3 *T. harzianum* , T-4 *T. hamatum* olarak tanılanmıştır. Antagonist bakteri izolatlarının floresan pigment oluşumu, tütünde aşırı duyarlılık, potasyum hidroksit, oksidaz, nişasta hidrolizasyon, levan oluşumu, arginindehidrolaz, patates çürüklük testlerine karşı gösterdikleri reaksiyonlar incelenmiştir. Floresan pigment oluşumuna pozitif reaksiyon veren B-8 ve B-9 nolu izolatlar *Pseudomonas* cinsine dahil edilmişlerdir.

SUMMARY

Investigations on root infections caused by *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian, and its population dynamics and biological control

The population changes, root infection, and antagonistic microorganisms of *Phytophthora citrophthora*, which causes gummy trunk, root rot, and brown rot of fruit, were investigated between 1990-1994.

12 isolate of *P. citrophthora* was obtained from soil, root and fruit samples collected in the orchards showing disease symptoms by isolations using some specific methods and PARPH selective medium.

Three lemon orchards each in Büyük Kapılı, Tömük, and Davultepe, where disease symptoms were visible, and other three orchards in Kale, Yakapınarı, and Şihmurat, where trees were not showing disease symptoms, were selected to study population changes of *P. citrophthora* in soil. The inoculum of *P. citrophthora* in soil was the highest in June in all orchards.

The average temperature, with the value of 24.5° C a very close level to optimum disease development, and the high moisture with the precipitation of 91.40 mm have created a very appropriate conditions for the disease development. The inoculum of disease in soil decreased with the high temperature and low moisture in July and August, but increased slightly with a mild temperature and increasing precipitation from September till mid November. Disease inoculum has decreased again with the decreasing temperature from second half of November on. In addition it was found very low inoculum of disease as a result of lethal effect of low temperature, between December and May. As a results of isolations, it was determined that climatic factors could play a major role in the distribution of pathogen in soil. Also water should be accepted as a primer factor of the distribution.

Under controlled conditions, 18 SKD+I application by using rough lemon resulted in a successful control with 11 % root rot. In field, it was determined very high percentage of root infection in April and May, as a result of appropriate climatic factors, when compared to December and January. Since the temperature was nearly

optimum for the pathogen, the percentage of root infection occurred slightly higher under controlled conditions.

It was found 9 antagonistic fungi and 12 antagonistic bacteria in the isolations from soil and root.

In the comparative study in vitro, *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *Mucor* sp., *Trichoderma pseudokoningii*, *T. viride*, *T. harzianum*, and *T. hamatum* performed the percent inhibition of 39.00, 39.00, 53.34, 64.50, 70.54, 71.24, 71.38, and 71.66, respectively. Fungi performed an inhibition varying between 49.53-78.70 % in gliotoksin-fermentation in liquid culture.

In vitro, bacteria performed the inhibition between 28.94-51.49 %. Antagonist bacteria showed the inhibition between 50-100 % when agar-hook method was used. In PD liquid culture, all bacteria-isolates made the pathogen lysed.

When antagonistic microorganisms were found effective to suppress root rot disease in vitro, then these antagonists were tested in pot trials under controlled conditions.

In the trials, where pathogen and antagonist bacteria were applied together (U1), effect was varying between 50-100 %; where pathogen was applied one week after antagonist (U2), effect was between 63-100 %. Antagonistic fungi in U1 and U2 gave a protecting effect of 40-100 % and 53-100 %, respectively.

As a result of identification of fungi; F-2, F-7, F-9, F-10, T-1, T-2, T-3, and T-4 were determined as *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp., *Mucor* sp., *Trichoderma pseudokoningii*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. hamatum*, respectively. In addition, to obtain some characteristics of antagonist bacteria, fluorescent pigment production, hypersensitive reaction on tobacco, potassium hydroxide, oxidase, hydrolysis of starch, levan production, arginine dehydrolase, and soft rot on potatoes were tested. Since isolates named B-8 and B-9 gave positive reaction to fluorescent pigment production, they were included into *Pseudomonas* spp.

KAYNAKLAR

- AKTEKE, Ş. A. , 1993. Turunçgillerde *Phytophthora citrophthora* (Sm. et Sm.) Leonian 'nın Biyolojik Mücadele Olanakları Üzerinde Çalışmalar. 1987-1993 Yılı Sonuç Raporu, 51 s (Yayınlanmamış).
- ANDERSEN, E. J., 1951. Effect of nutrient salt concentrations on infections of pineapple roots by *P. cinnamomi* (Abstr). *Phytopathology*, 41: 2.
- ANONYMOUS, 1984. Integrated Pest Management-Citrus. University of California, Publication, 3303: 144 pp.
- ANONYMOUS, 1994. Tarımsal Yapı ve Üretim, 1991. Başbakanlık D.İ.E., Yayın No:1633.
- APPLE, J. L., 1961. The Development of black shank in tobacco as influenced by host nutrition. *Phytopathology*, 51: 386-389.
- BAKER, K. F. and R. J. COOK, 1974. Biological Control of Plant Pathogens. W. H. Freeman and CO., San Fransisco, XVI+433 p.
- BIÇİCİ, M., A. ÇINAR, Ö. ÇINAR, Y. DEDE, 1987. Limon ağaçlarında zamklanmaya karşı antagonist *Trichoderma* türlerinin kullanılması. *Kükem* 10 (2): 44-45.
- BINGHAM, F. T. and G. A. ZENTMYER, 1954. Relation of hydrogen-ion concentration of nutrient solution to *Phytophthora* root rot of avacado seedlings. *Phytopathology* 44: 611-614.
- BINGHAM, F. T., G. A. ZENTMYER and J. P. MARTIN, 1958. Host nutrition relation to *Phytophthora* root rot of avacado seedlings. *Phytopathology* 48: 144-148.
- BLAKER, N. S. and J. D. MAC DONALD, 1986. The role of salinity in the development of *Phytophthora* root rot of citrus. *Phytopathology* 76: 970-975.
- BRASIER, C. M., 1975. Stimulation of sex organ formation of *Phytophthora* by antagonistic species of *Trichoderma* . 1. The effect in vitro. *New. Phytol.* 74: 183-194.
- BROADBENT, P., 1977. *Phytophthora* disease of citrus. A rewiev. *Proct. Int. Soc. Citriculture* 3: 986-988.
- BROADBENT, P. and K. F. BAKER, 1974 a. Behavior of *Phytophthora cinnamomi* in soil suppressive and conducive to root rot. *Aust.5. Agric. Res.* 25: 127-137.
- BROADBENT, P. and K. F. BAKER, 1974 b. Association of bacteria with sporangium formation and breakdown of sporangia in *Phytophthora* spp. *Aust.5. Agric. Res.* 25:139-145.

- BROADBENT, P., K. F. BAKER and Y. WATERWORTH, 1971. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soils. *Aust. I. Biol. Sci.* 24: 925-944.
- CHEE, K. H. and F. J. NEWHOOK, 1965. Improved methods for use in studies on *Phytophthora cinnamomi*. Rand and other *Phytophthora* species. N. 2-J. Agric., Res. 8:88-95.
- ÇINAR, A., 1974. Poliakrilamid Gel Elektroferez Tekniği ile elde edilen protein ve enzim diyagramları yardımıyla *Phytophthora* türlerinin tanımı. Habiltasyon, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Adana, 69 s.
- ÇINAR, A., 1976. İçel ve Adana bölgesi turuncgil ağaçlarında *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian zararı ve topraklarda hastalık potansiyeli indeksinin araştırılması. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Yıllığı 5 (1-2)' den ayrı basım.
- ÇINAR, A. ve Ö. TUZCU, 1976. Resistance study of the citrus rootstocks to *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian II. The use of new method in selecting resistant citrus rootstocks to *P. citrophthora* (Smith and Smith) Leonian. *Turkish Phytopathology*, 5 (2-3): 99-104.
- DARVAS, J. M. and J. J. BEZIDUENHOUT, 1988. Control of *Phytophthora* root rot of avocado by trunk injection. *Review of Plant Pathology*, V., 67(5): 267.
- DAVINO, M., O. GAMBERINI, R. AREDDIA and S. F. ALDERESI, 1990. Field effectiveness of fosetyl-al against citrus root rot and brown rot. *Eppo Bulletin* Vol. 20 (1): 129-132.
- DEDE, Y. ve M. BİÇİCİ, 1987. *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian tarafından limonlarda neden olunan zamklanma hastalığının oluşum düzeyi, etmenin topraktaki dağılımı ve bu hastalığa karşı antagonist *Trichoderma* türlerinin kullanılması. TÜBİTAK V. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Antalya.
- DENNIS, C. and J. WEBSTER, 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma* : III. Hyphal Interaction. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57: 363-369.
- DOMSCH, K. H., W. GAMS and T. H. ANDERSEN, 1980. Compendium of soil fungi. Vol. 1, Acad. Press, London, 859 p.
- DURELL, L. W., 1968. Hyphal invasion by *Trichoderma viride*. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 35: 138-144.
- ECKERT, J. W., P. H. TSAO, 1962. A selective antibiotic medium for isolation of *Phytophthora* and *Phythium* from plant roots. *Phytopathology*, 52: 771-777.

- ELFAHL, A. M. and E. L. CALVERT, 1976. The effect of soil treatment with sulphur and lime on the incidence of potato diseases with special reference to blight. *Rec. Agric. Res. Minist. Agric. North. Irel.*, 24:7-12.
- EL-GOORANI, M. A., S. A. FARAG and M. R. A. SHEHATA, 1976. The effect of *Bacillus subtilis* and *Penicillium patulum* on in vitro growth and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora cryptogea*. *Phytopathol. Z.* 85:345-352.
- ERKILIÇ, A., S. KORKMAZ, A. ÇINAR ve B. CEVİK, 1993. Farklı sulama sistemlerinin limonda *Phytophthora citrophthora* 'nın hastalık oluşturmaya üzerine etkileri. *Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yıllığı*, 8(4): 115-128.
- FAWCETT, H. S., 1911. *Diplodia natalensis* as gum-inducing and fruit-rotting fungus. *Fla. Agric. Exp. Stn. Annu. Rep.*, 61-67.
- FEICHTENBERGER, E., 1990. Control of *Phytophthora citrophthora* by fentin acetate in laboratory experiments and by soil drench application in a lemon orchard. *Eppo Bulletin*, 20 (1):139-148.
- FELD, S.J., J.A. MENGE and L.M. STOLZY, 1990. Influence of drip and furrow irrigation on *Phytophthora* root rot of citrus under field and greenhouse conditions. *Plant Disease*, 74: 21-27.
- GEDİKOĞLU, İ., 1990. Türkiye Gübre ve Gübreleme Rehberi. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Şanlıurfa Araştırma Enstitüsü Yayınları, Genel Yayın No: 57. Teknik Yayın No: 13, Şanlıurfa.
- GEES, R. and M. D. COFFEY, 1989. Evaluation of a strain of *Myrothecium roridum* as a potential biocontrol agent against *Phytophthora cinnamomi*. *Phytopathology* 79:1079-1084.
- GERRETSON-CORNEL, L., 1991. Actinomycetes interaction with *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Phytophthora Newsletter* Edit. Richard Shattock, P.N.: 1731 p.
- GÖKSEDEF, M. O., 1980. Akdeniz Bölgesi limonlarında (*Citrus limon* Lin. Brum) gövde zamklanma etmeni *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian 'nın yayılışı, bazı biyolojik özellikleri ve tarımsal savaş yöntemleri ile infeksiyon süresinde etmene karşı farklı duyarlılık gösteren turuncgil çeşitlerindeki dayanıklılık nedenlerinin saptanması üzerinde araştırmalar. (Doktora tezi). Çukurova Üniversitesi, Adana, 101 s.
- GRAHAM, J. H., 1990. Evaluation of tolerance of citrus rootstocks to *Phytophthora* root rot in chlamydospore-infested soil. *Plant Disease*, 74 (10):743-746.

- GÜNCÜ, M., 1983. Güney Anadolu Bölgesi' nde kültür bitkilerinde zarar yapan *Phytophthora* türlerinin saptanması, bunların morfolojik ve biyokimyasal yöntemlere göre tanılanması. (Doktora tezi).Çukurova Üniversitesi, Adana, 141 s.
- IANNOV, N. and R.G. GROAN,1977. The influence of soil matric potential on the production of sporangia of *Phytophthora parasitica* in relation to its isolation by baiting techniques (Abstr.) *Proc. Phytopathol. Soc.*, 4:173.
- JEFFERS, S. N. and S. B.MARTIN, 1986. Comparisa of two media selective for *Phytophthora* and *Pythium* species . *Plant Disease*, 70:1038-1043.
- KANNWISHER,M. E.and D. J. MITCHELL, 1978. The influence of a fungicide on the epidemiology of black shank of Tobacco. *Phytopathology*, 68:1760-1765.
- KAREL, G., 1958. A priliminary list of plant disease in Turkey. Ayyıldız, 14. Ankara.
- KELLEY, W. D.,1977. Interactions of *Phytophthora cinnomomi* and *Trichoderma* spp. in relaton to propagul production in soil cultures at 26° C. *Can. J. Microbiol.*, 23: 288-294.
- KELLEY, W. D. and R. RODRÍGUEZ-KABANA, 1976. Competition between *Phytophthora cinnamomi* and *Trichoderma* spp. in autoclaved soil. *Can. J. Microbial.*, 22:1120-1127.
- KING, E. O., M. K. WAND and D. E. RANEY, 1954. Two simple media for the demonstration of pyocianin and fluoresin. *J. Lab. Clin. Med.*, 44:301-307.
- KLEMENT, Z. and R. N. GOODMAN, 1967. The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 5:17-44.
- KLEMENT, Z., K. RUDOLPH and D. C. SANDS, 1990. Methods in Phytobacteriology. Akademia Kiado, Budapest, 133-145.
- KLOTZ, L.J., 1978. Fungal, bacterial and nonparasitic diseases and injuries orginating in the seedbed, nursery and orchard. The Citrus Industry, Vol IV,Crop Protection. W.Reuther, E. C.Calavan and G. E. Carman (eds.).
- KLOTZ, L.J. and T. A. DE WOLFE, 1958. Techniques for isolation *Phytophthora* spp. which attack citrus. *Plant Disease, Rep.* 42: 675-676.
- KNAUSS, J. F., 1976. In vitro antagonistic activity of several *Streptomyces* spp. against species of *Pythium* and *Phytophthora*. *Plant Dis. Reprt.*, 60:846-850.
- KOVAKS, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyonea* by the oxidazereaction. Nuture, London, 178:703 p.

- LACEY, J., 1965. The infectivity of soils containing *Phytophthora infestans*. *Ann. Appl. Biol.*, **56**:363-380.
- LELLIOT, R. A. and D. E. STEAD, 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. Oxford, London, Edinburgh, 169-199.
- LUCAS, J. A., L. A. BOWER, M. D. COFFEY, 1990. Fungicide resistance in soil-borne *Phytophthora* species. *Eppo Bulletin* **20** (1):199-206.
- LUTZ, A. L. and J. A. MENGE, 1991. Populations fluctuations and the numbers and types of propagules of *Phytophthora parasitica* that occur in irrigated citrus groves. *Plant Dis.*, **75**: 173-179.
- MACIEJOWSKA, Z. and E. B. WILLIAMS, 1961. The isolation and their relation to root rot of apple. *Proceedings, Indian Academy of Sciences*, **70** (1960):52-53.
- MAGNANO DI SAN LIO, G., G. CACCIOLA-SO and R. TUTTOBENE, 1988. Factors affecting soil population of *Phytophthora* in citrus orchards. *Citriculture Proceedings of the 6th International Citrus Congress, Middle-East, Tel Aviv, Israel, 6-11 March, 1988. Vol.2. Cultural Practices Diseases and Nematodes* (edited by Goren, R. and K. Mendel), 1988:767-774.
- MAGNANO DI SAN LIO, G., F. MESSINA, G. GRECO and G. PERROTA, 1990. Effect of irrigation on the dynamics of *Phytophthora citrophthora* populations in soil of citrus orchards. *Eppo Bulletin*, (20):83-91.
- MALAJCZUK, N., 1981. Microbial antagonism to *Phytophthora*. *International Symposium Phytophthora*. April 1981. Department of Plant Pathology, University of California, Riverside.
- MALAJCZUK, N., 1983. Microbial antagonism to *Phytophthora*, pages 197-218. In: *Phytophthora: Its biology, taxonomy, ecology, and pathology*. D. C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia, and P. H. Tsao, eds. American Phytopathological Society, St. Paul. MN.
- MALAJCZUK, N., H. J. NESBITT and A. R. GLENN, 1977. A light and electron microscope study of the interaction of soil bacteria with *Phytophthora cinnomomi* Rands. *Can. J. Microbial*, **23**:1518-1525.
- MASAGO, H., M. YOSHIKAWA, M. FUKADA and N. NAKANISHI, 1977. Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plants. *Phytopathology*, **67**:425-428.
- MATHERON, M. E. and J. C. MATEJKA, 1993. Seasonal difference in susceptibility of three citrus rootstocks to root lesion caused by *Phytophthora citrophthora* and *P. parasitica*. *Plant Dis.*, **77**:729-732.

- MC CARTER, S. M., 1965. Effect of certain soil environmental factors and host nutrition on black, shank disease development in tobacco. Diss. Abstr., 26:6955.
- MC KENZIE, U., 1988. The influence of metalaxyl (Ridomil) on *Phytophthora* root and collar rot of citrus in South Africa. **Review of Plant Pathology** (Abstr) Vol. 67, No:2, 83 p.
- MENGE, S. A., 1990. Unseen diseases hurting yields. *Citrus California Grower*, 6 p.
- MISAGHI, I. and R. G. GROGAN, 1969. Nutritional and biochemical comparisons of plant pathogenic and saprophytic fluorescent *Pseudomonas*. **Phytopathology**, 59:1436-1450.
- MUCHOVEJ, J. J., I. A. MAFFIA and R. M. C. MUCHOVEJ, 1980. Effect of exchangeable and growth of *Phytophthora capsici* from green pepper. **Phytopathology**, 70:1212-1214.
- NEEMA, N., H. MARATIE and S. A. MEYER, 1985. Selection in vitro de souche de *Phytophthora citrophthora* resistances au metalaxyl. **Eppo Bulletin**, 15:443-449.
- OFFER, J. A., 1987. Citrus diseases, Defects Citrus Survey and Consulting Bureau, Netherlands, 69 pp.
- PRATT, R. G., L. F. ROTH, E. M. HANSEN and W. D. OSTROFSKY, 1976. Identity and pathogenicity of species of *Phytophthora* causing root rot of Douglas-fir in the Pacific Northwest. **Phytopathology**, 66: 710-714 p.
- ROSEDALE, D. O., 1943. Gum Disease and irrigation. *Calif. Citrograph*, 48:5 pp.
- SALERNO, M., G. CUTULI, 1985. Gummosis of the collar (*Phytophthora gummosis*) **Review of Plant Pathology**, 64 (6):253-255.
- SALIH, H., 1974 a. Adana ve çevresinde turuncgillerde meyve ve kökboğazı çürüklüğü yapan (*Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian)' ın yayılışı ve biyoekolojisi üzerinde araştırmalar. Adana Bölge Zir. Müc. Araş. Enst. Yayın. Araştırma Eserleri Serisi, No: 35, Adana.
- SALIH, H., 1974 b. *Phytophthora* species new for Turkey determined in citrus orchards in Adana. **Journal of Turkey Phytopathology**, 3:113-115.
- SARBINI, G. and T. KOMMEDAHL, 1977. Effect of bacterial seed treatment on stand and yield of soybeans in *Phytophthora*-infested soil. (Abstr.). **Proc. Amer. Phytopathol. Soc.** 4:146-147.
- SCHIFFMANN-NADEL, M. and E. COHEN, 1968. Method for production of sporangia of *Phytophthora citrophthora*. **Phytopathology**, 58:550.

- SERRHINI, N., H. MARAITE and S. A. MEYER, 1985. Selection in vitro de souche de *Phytophthora citrophthora* résistantes au metalaxyl. *Eppo Bulletin* (15):443-449.
- STOLTY, L. M., 1960. Influence of irrigation on *Phytophthora* root rot. *Calif. Citrograph*, 45-3:60 pp.
- SULISTYOWATI, L., P. J. KEANE, 1992. Effect of salinity and water content on stem rot caused by *Phytophthora citrophthora* and accumulation on phytoalexin in citrus rootstocks. *Phytopathology*, 82:771-777.
- THOMSON, S. V. and R. M. ALLEN, 1976. Mechanisms of survival of zoospores of *Phytophthora parasitica* in irrigation water. *Phytopathology*, 66:1198-1202.
- TIMMER, L. W. and J. H. GRAHAM, 1990. The florida *Phytophthora* Experience, Diagnosis, Importance and Management California Grower:8-10.
- TIMMER, L. W., H. S. SANDLER, J. H. GRAHAM, and E. S. ZITKO, 1988. Sampling citrus orchards in Florida to estimate populations of *Phytophthora parasitica*. *Phytopathology*, 78:940-944.
- TIMMER, L. W., E. S. ZITKO, H. S. SANDLER, and J. H. GRAHAM, 1989. Seasonal and spatial analysis in citrus orchards in Florida. *Plant Disease*, 73:810-813.
- TSAO, P. H., 1960. A serial dilution and point method for estimating disease potentials of citrus *Phytophthora*s in soil. *Phytopathology*, 50:717-724.
- TSAO, P. H., 1977. Prospects of biological control of Citrus disease fungi. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 3:857-863.
- TSAO, P. H., 1983. Factors affecting isolation and quantitation of *Phytophthora* from soil pages 219-236. In: *Phytophthora* its biology, ecology, and pathology. D.C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia and P. H. Tsao, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- TSAO, P. H. and S. O. GUY, 1977. Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a *Phytophthora* isolation medium containing Hymexazol. *Phytopathology*, 67:796-801.
- TURCETTI, T., 1982. Antagonism of some *Bacillus* species to a *Rhizoctonia solani* Kuhn. isolate and its effect on the germination of *Pinus nigra* Arn. seed. *Eur. J. For. Path.*, 12 :36-41.
- TURHAN, G., 1981. A new race of *Streptomyces ochraceiscleroticus* in the biological control of some soil borne plant pathogens I. Effects of the isolate C/2 on some of the most important soil-borne fungi in vitro. *Z. Pfl. Krankh. Pfl. Schutz*, 88: 373-381.

- TUSET, J. J., M. T. PORTILLA, 1990. Control of *Phytophthora* brown rot of citrus fruits. *Eppo Bulletin*, 20(1):153-162.
- TUSET, J. J., C. HINERAJOS, J. GARCIA, 1990. *Phytophthora* foot rot control in citrus with *Myrothecium roridum*.. *Eppo Bulletin*, 20(1):169-177.
- UZAK, Y., S. DROBY, E. COHEN, E. CHALUTZ, Z. NOIMAN, B. SHAPIRO, Y. SHALOM, 1994. Biological control of citrus fruit caused by *Phytophthora citrophthora* by various *Trichoderma* species. 9 th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union, Kuşadası-Aydın-Türkiye, 1994.
- ÜLGEN, N., N. YURTSEVER, 1988. Türkiye Gübre ve Gübreleme Rehberi. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Yayınları, Genel Yayın No: 151. Teknik Yayınlar No: T-59, Ankara.
- VAN DER PLANK, J. F., 1975. Principles of Plant Infection. Academic Press, London, 216 pp.
- VON BROEMSEN, S., 1979. *Phytophthora cinnamomi*, a threat to the Western Cape? *Veld Flora* June:53-55.
- WATERHOUSE, G. M., 1963. Key to the species of *Phytophthora* De Bary. C. M. I. Kew-Surrey, 22pp.
- WATERHOUSE, G. M. and WATERSONE, I., 1964. C.M. I. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No:33. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 1964.
- WESTE, G., 1983. Population dynamics and survival of *Phytophthora*, pages 237-258. In *Phytophthora* its biology, taxonomy, ecology and pathology (Editörler, Erwin, D. C., S. Bartnicki-Garcia and P. M. Tsao. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- WHITESIDE, J. O., 1971. Some factors affecting the occurrence and development of foot rot citrus trees. *Phytopathology*, 61:1233-1238.
- WILLIAMS, L. E. and VILLIS, G. M., 1962. Agar-ring method for in vitro studies of fungistatic activity. *Phytopathology*, 52: 368-369.
- WILLS, W. H. and MOORE, L. D., 1969. Calcium nutrition and black shank of tobacco. *Phytopathology*, 59:346-351.

TEŞEKKÜR

Turunçgillerin önemli fungal hastalık etmeni *Phytophthora citrophthora* 'nın turunçgil bahçe topraklarındaki populasyon dalgalanmalarını, kök infeksiyonlarını ve antagonistleri üzerinde çalışmaları kapsayan bu Doktora konusunu bana veren ve ilgiyle yol gösteren Sayın Hocam Prof. Dr. Ahmet ÇINAR' a, çalışmalarım sırasında bilgilerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Özden ÇINAR, Prof. Dr. Mehmet BİÇİCİ ve Yrd. Doç. Dr. Ali ERKILIÇ' a, Enstitü olanaklarından yararlanmamı sağlayan Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitü Müdürü Dr. Şaban KARAAT' a, laboratuvar çalışmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı Laborant Ahmet ULU' ya ve tüm Enstitü çalışanlarına, ayrıca çalışmalarımı sabırla yüreklendiren ve yazımında emeği geçen eşim Doç. Dr. Hüseyin BAŞPINAR' a teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

Mersin' de 1963 yılında doğdum. İlk, Orta ve Lise öğrenimimi Mersin' de tamamladım. 1984 yılında Ç. Ü. Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü' nden mezun oldum ve aynı yıl Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı' nda Yüksek Lisans öğrenimime başladım. Yüksek Lisans tezimi 1987 yılında tamamladıktan sonra aynı yıl Tarım ve Köyişleri Bakanlığı' nda çalışmaya başladım ve halen aynı bakanlıkta görevimi sürdürmekteyim. 1990 yılında Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı' nda başladığım Doktora Tez çalışmasını bitirme aşamasında bulunmaktayım. Evli ve 2 çocuk annesiyim.

