



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TURUNÇGİLDE DERİM SONRASI EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI
ETMENİ *Geotrichum citri-aurantii*' YE KARŞI ANTAGONİST
BAKTERİLER ve BOR ÜRÜNLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİLERİ**

MERAL GEDİK

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
OCAK-2019



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TURUNÇİLDE DERİM SONRASI EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI
ETMENİ *Geotrichum citri-aurantii*' YE KARŞI ANTAGONİST
BAKTERİLER ve BOR ÜRÜNLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİLERİ

MERAL GEDİK

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANSTEZİ

HATAY
OCAK-2019

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TURUNÇİLDE DERİM SONRASI EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI
ETMENİ *Geotrichum citri-aurantii*' YE KARŞI ANTAGONİST
BAKTERİLER ve BOR ÜRÜNLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİLERİ**

MERAL GEDİK

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Emine Mine SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez **11/01/2019** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Emine Mine SOYLU
Başkan

Prof. Dr. Şener KURT
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Davut Soner AKGÜL
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

Bu çalışma HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 15169

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

11.01.2019

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yüksek Öğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Meral GEDİK

ÖZET

TURUNÇGİLDE DERİM SONRASI EKŞİ ÇÜRÜKLÜK HASTALIĞI ETMENİ *Geotrichum citri-aurantii*'YE KARŞI ANTAGONİST BAKTERİLER ve BOR ÜRÜNLERİNİN ANTİFUNGAL ETKİLERİ

Ülkemizde turunçgil meyvelerinin hasat sonrası depolanması ve pazarlanması sırasında meyve çürüklük etmenlerinden dolayı önemli kayıplar ortaya çıkmaktadır. Turunçgillerde derim sonrası meyvelerde çürümelere neden olmak suretiyle kalite ve verim kayıplarına neden olan fungal hastalık etmenlerinden biri de ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'dir. Günümüzde ekşi çürüklük hastalığı başta olmak üzere hasat sonu görülen hastalıklara karşı imazalil, thiabendazole, pyrimethanil veya fludioxonil gibi fungisitler kullanılmakla birlikte, hastalık çıkışı etkili bir şekilde kontrol edilememektedir. Bu yüzden turunçgillerde derim sonrası ekşi çürüklük hastalığının kontrolü için ticari fungusitlere alternatif, çevre dostu etkili mücadele yaklaşımlarına gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışmada, turunçgilde derim sonrası ekşi çürüklük hastalığı etmeni *G.citri-aurantii*'ye karşı farklı antagonist *Bacillus* spp.'ye ait izolatların ve bor ürünlerinin antifungal etkileri *in vitro* ve yarı *in vivo* koşullarında araştırılmıştır. *In vitro* çalışmalarında *G. citri-aurantii*'ye karşı 19 farklı *Bacillus* spp.'ye ait izolatın antagonistik etkinlikleri araştırılmıştır. *In vitro* etkinlik çalışmaları sonuçlarına göre misel gelişimini engelleyen en etkili antagonist bakteri izolatlar % 66.95 ve % 66.10 engelleme oranı ile *Bacillus cereus* (G1B:3:6) ve *B. pumilus* (G4B:0:4) olmuştur. Antagonist bakteri izolatlardan *Bacillus subtilis* (K3B:4:8:1), *B. subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus amyloliquefaciens* (K5B:0:5:1), *Bacillus pumilus* (G4B:0:4) ve *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4) borik asit+boraks (0.5-1.0 g/L) karışımında herhangi bir etkilenme olmaksızın gelişmişlerdir.

G. citri-aurantii'nin misel gelişimini yüksek oranda engelleyen aynı zamanda borik asit+boraks karışımında canlılığını koruyabilen antagonist bakteri izolatların tekli ve borik asit+boraks ile karışımlarının hastalık çıkışının engellenmesi üzerine olan koruyucu ve tedavi edici etkinlikleri yarı *in vivo* koşullarda araştırılmıştır. Uygulamaların koruyucu etkinliği, tedavi edici etkinliğine kıyasla daha yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. *Bacillus subtilis* G3B:3:5, *Bacillus pumilus* G4B:0:4, *Bacillus subtilis* K3B:4:8:1, *Bacillus amyloliquefaciens* K5B:0:5:1 teksel veya borik asit+boraks karışımı (0.5g+1.0 g/L) ile birlikte koruyucu uygulaması *in vivo* hastalık çıkışını % 81.93- 89.69 düzeyinde engellemiştir. Uygulamaların tedavi edici etkinliği hastalık çıkışının engellenmesi üzerinde % 40.37-54.92 düzeylerinde görülmüştür.

Söz konusu çalışma, bilindiği kadarı ile, ekşi çürüklük hastalığı ile mücadelede antagonist bakterilerin etkinliğinin araştırıldığı ilk çalışma niteliindedir. Elde edilen sonuçlar, antagonist *Bacillus* spp.'ye ait izolatların bor bileşikleri ile karışımlarının, mandarin meyvelerinde ekşi çürüklüğün mücadelesinde etkili bir şekilde uygulama olanağına sahip olduğunu göstermiştir.

2019, 56 sayfa

Anahtar Kelimeler: Turunçgil, hasatsonu mücadele, *Geotrichum citri-aurantii*, bor ürünleri, biyolojik mücadele

ABSTRACT

ANTIFUNGAL EFFECTS OF BORON COMPOUNDS and ANTAGONISTIC BACTERIA AGAINST THE POST-HARVEST CITRUS SOUR ROT DISEASE AGENT *Geotrichum citri-aurantii*

In Turkey, during marketing and storage of citrus fruits, significant losses were caused by citrus post-harvest rot diseases. Fungal post-harvest sour rot disease agent *Geotrichum citri-aurantii* is one of the most important fungal fruit rot disease agent which causes significant effect on quality and quantities during the storage of the citrus fruits. Although fungicides such as imazalil, thiabendazole, pyrimethanil and fludioxonil may be used against diseases caused by sour rot disease agent and others, these chemicals cannot control occurrence of these disease efficiently. Therefore, there is a need for effective alternative approach to commercial citrus sour rot control of postharvest diseases.

In this study, antagonist bacterial isolates of *Bacillus* spp and different boron derivatives were investigated for their possible antifungal activity against post-harvest citrus sour rot disease agent *in vitro* and semi *in vivo* conditions. Antagonistic potentials of nineteen different antagonist bacterial isolates of *Bacillus* spp. were assessed against *G. citri-aurantii in vitro* studies. Among the bacterial isolates, *Bacillus cereus* (G1B:3:6) and *B. pumilus* (G4B:0:4) were determined as the most effective isolates, causing 66.95% and 66.10% inhibition on mycelial growth of the fungus. *Bacillus subtilis* (K3B:4:8:1), *B. subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus amyloliquefaciens* (K5B:0:5:1), *Bacillus pumilus* (G4B:0:4) and *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4) were found to be ineffective boric acid+borax mixture (boric acid+borax: 0.5+1.0 g/L).

Antagonist bacterial isolates, which were grown in boric acid+borax mixture displaying the high antagonistic activities on inhibition of mycelial growth of *G. citri-aurantii*, were used to determine protective or curative effects on disease occurrence in semi *in vivo* conditions as alone or combination. Protective effect of the treatments were higher than those recorded for curative effect. *Bacillus subtilis* G3B:3:5, *Bacillus pumilus* G4B:0:4, *Bacillus subtilis* K3B:4:8:1 and *Bacillus amyloliquefaciens* K5B:0:5:1 alone or in combination with boron suppressed disease incidence by 81.93- 89.69%. Curative effect of these treatments on disease incidence ranged from 40.4% to 54.9%.

To the best of our knowledge, this is the first report on the use of antagonist bacteria as a biological control of sour rot pathogen. The results showed that the isolates of the antagonist *Bacillus* spp alone and in combination with boron compounds with could be effectively applied to the mandarin fruits to control of sour rot disease.

2019, 56 pages

Keywords: Citrus, postharvest control, *Geotrichum citri-aurantii*, boron compounds, biological control

TEŐEKKÖR

Tez konumun belirlenmesi, planlanması, yürütülmesi, laboratuvar çalışmaları ve yazım aşamasında değerli bilgilerini ve tecrübelerini esirgemeyen; eğitim sürecimde her türlü desteği sağlayan, etik davranma ve düzenli çalışmayı felsefe edinmeme vesile olan, kendisiyle çalıŐmaktan çok mutlu olduğum kıymetli danıŐman hocam Prof. Dr. E.Mine SOYLU'ya, bölümde yer alan deneyimlerini paylaŐan değerli hocalarım Prof. Dr. Şener KURT, Prof. Dr. Soner SOYLU'ya, tez çalıŐmalarım sırasında tüm bölüm imkânlarından yararlanmamı sağlayan HMKÖ Ziraat Fakóltesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na, maddi destek veren HMKÖ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (Proje No: 17YL013) teŐekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bakteri ve fungus izolatlarımın tanısında ve *in vitro* etkinliklerin belirlenmesi aşamasında yardımcı olan Ar. Gör. Merve KARA ve Zir. Yük. Müh. Aysun UYSAL'a, laboratuvar çalıŐmalarımda yardımcı olan arkadaşlarım Zir. Yük. Müh. NeŐe KAMÇILI'ya Zir. Müh. Koray ÇETİNER'e ve Zir. Müh. Serhat BABUR'a, beni her zaman en iyisini yapabileceğime inandıran, bu günlere gelmemi sağlayan ve maddi manevi her türlü desteklerini esirgemeyen aileme en içten teŐekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	28
3.1. Materyal.....	28
3.1.1. Meyve.....	28
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Hastalık Etmeni.....	28
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Antagonist Bakteri İzolatları.....	28
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları.....	29
3.1.5. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar.....	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Antagonist Bakteri İzolatları ve Bor Ürünleri İle Yapılan <i>in vitro</i> Çalışmalar.....	30
3.2.1.1. Antagonist Bakteri İzolatlarının <i>G.citri-aurantii</i> 'nin miselyal Gelişimine Etkisinin Belirlenmesi.....	30
3.2.1.2. Farklı Bor Karışımlarının Antagonist Bakterilere Karşı <i>in vitro</i> Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	31
3.2.2. Antagonist Bakteri İzolatları ve Bor Ürünleri İle Yarı <i>in vivo</i> Çalışmalar.....	32
3.2.2.1. Antagonist Bakteri İzolatları ile Bakteri+Bor Karışımı Uygulamalarının Hastalığın Engellenmesi Üzerine Etkileri.....	32
3.2.3. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler.....	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
4.1. Antagonist Bakteri izolatlarının <i>G. citri-aurantii</i> 'nin Miselyal Gelişimine Etkisi.....	35
4.2. Bor Ürünlerinin Antagonist Bakterilere Karşı <i>in vitro</i> Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	37
4.3. Antagonist Bakteri İzolatları ile Bakteri+Bor Karışımı Uygulamalarının Hastalığın Engellenmesi Üzerine Etkileri.....	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	55
EK-1.....	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 3.1. İkili kültür testi ile aday antagonist bakteri izolatının fungal etmenin misel gelişimi üzerine olan etkinliği. (A) Kontrol petrisindeki misel gelişimi (MG), (B) antagonist bakteri uygulanmış petride misel gelişiminin (MG) engellenmesi..... 31
- Şekil 3.2. Antagonist bakterilerin, bor bileşenleri ile tekli ve komkombinasyon halinde yarı *in vivo* koşullarda yürütülen inokulasyon ve inkübasyon çalışmaları. (A) Yaralanmış meyveler bakteri süspansiyonuna daldırılıp gece boyunca bekletilmesi, (B) meyvelerin hastalık etmeninin spor süspansiyonu ile inokule edilmesi, (C) uygulama yapılmış meyveler kasalar içerisinde üzeri naylonla örtülerek inkübasyona bırakılmıştır..... 34
- Şekil 4.1. Farklı türlere ait antagonist bakteri izolatlarının ikili kültür testi ile *in vitro* koşullarda fungal etmenlerin misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine olan etkinliğin belirlenmesi..... 36
- Şekil 4.2. Yarı *in vivo* koşullarda farklı antagonist bakteri ve bor bileşiklerinin ekşi çürüklük hastalığı çıkışı üzerine olan etkinliği. (A) uygulama sonrası kasalar bir süre nemli ortamda bekletilmiş daha sonra (B) kontrol ve (C) uygulama görmüş meyvelerde hastalık lezyonları (ok) değerlendirilmiştir..... 40
- Şekil 4.3. Antagonist bakteri ve bor uygulamalarının mandarin meyvelerinde ekşi çürüklük oluşumuna etkileri. (A) Bor karışımı, (B) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4), (C) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4)+Bor karışımı uygulamaların hastalık çıkışı üzerine “koruyucu” etkisi. (D) Bor karışımı, (E) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4), (F) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4)+Bor karışımı uygulamaların hastalık çıkışı üzerine “tedavi edici” etkisi. İnokulasyon noktalarında hastalık belirtileri (lezyon alanı, ok) uygulamaların “koruyucu” etkinliğinde “tedavi edici” etkinliğine kıyasla daha düşük seviyelerde gerçekleşmiştir..... 42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan bakteriyel izolatlar.....	29
Çizelge 3.2.	Denemede kullanılan bor ürünlerinin teknik özellikleri.....	30
Çizelge 4.1.	Antagonist bakteri izolatının <i>in vitro</i> koşullarda fungal hastalık etmeni <i>G. citri-aurantii</i> 'nin misel gelişimini engelleme (%) potansiyeli.....	35
Çizelge 4.2.	Borik asit+boraks karışımlarının farklı konsantrasyonlarının antagonist bakteri izolatlarının canlılığı üzerine etkileri.....	38
Çizelge 4.3.	Yarı <i>in vivo</i> koşullarda antagonist bakteri ile bor uygulanan mandarin meyvelerinde <i>G.citri-aurantii</i> tarafından oluşturulan hastalık lezyonları (mm) ve lezyon gelişiminin engelleme oranı (%)......	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Celsius (derece)
Da	: Dekar
Ha	: Hektar
µg	: Mikrogram
Mg	: Miligram
g	: Gram
Kg	: kilogram
µl	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
L	: Litre
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
dk	: Dakika
rpm	: revolution per minute (dakikada dönme sayısı)

KISALTMALAR

TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organisation of The United Nations)
KB	: King's B Agar Besi yeri
Gca	: <i>Geotrichum citri-aurantii</i>
LB	: Luria Bertani Agar Besi yeri
NA	: Nutrient Agar Besi yeri
PDA	: Patates Dekstroz Agar Besi yeri
TSA	: Trypic Soybean Agar Besi Yeri
HR	: Tütün aşırı duyarlılık testi (Hypersensitive Reaction)

MALDI-TOF	: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time of Flight Mass Spectrometry
LLS	: Likit Lime Sulphure
Wtvol	: Weight volume (Ağırlık hacmi)
PHMB	: Polyhexamethylene biguanide
PHMG	: Polyhexamethylene guanide
SA	: Sorbik Asit
SK	: Potasyum Sorbat
ITS	: Internal Transcribed Spacer
rDNA	: Ribosomal DNA
PCR	: Polimeraz Chain Reaction
NCBI	: The National Center for Biotechnology Information
EC ₅₀	: Fungus misel gelişimini %50 düzeyinde engelleyen Konsantrasyon (Efficient Concentration)
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences

1. GİRİŞ

Teknoloji ve iletişim araçlarının kullanımı ve yaygınlaşması ile son otuz yıl içerisinde ülkeler arasında çok hızlı bir rekabet ortamı doğmuş ve sınırlar daralmıştır. Uluslararası ticaret şartlarının rekabete dayalı olduğu bu dönemde, diğer pek çok üründe olduğu gibi tarımsal ürünlerde de üretim sonrasında işleme ve pazarlamada çok önemli gelişmeler kaydedilmiştir.

Dünya nüfusu hızla artarken tarımsal ürünlere talep artmakta ancak tarımsal üretim alanları azalmaktadır. Bunun için verimi ve üretimi artırma üzerine birçok araştırmalar yapılırken, elde edilen ürünün tüketiciye ulaşıncaya kadar geçen derim sonrası kayıpları ülkelere göre değişmekle beraber çok yüksek rakamlara ulaşabilmektedir. Depolama, pazarlama ve diğer uygulamaların modern olarak yapıldığı gelişmiş ülkelerde bile derim ile tüketim arasındaki pazarlama kanalında önemli kayıplar gözlenmektedir. Ülkemizde bu kayıpların boyutlarının daha yüksek olduğu, % 25-30'lara kadar çıktığı ve 40 milyon tona yakın yaş meyve ve sebzenin 9-11 milyon tonunun derim sonrası kayıp olduğu tahmin edilmektedir (Şen, 2004).

Ana vatanı Çin, Güneydoğu Asya ve Hindistan olan turunçgillerin, subtropik iklimlere sahip hemen hemen tüm ülkelerde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Turunçgiller bir bitki topluluğu olup, yetiştiriciliği en yaygın ve ekonomik değeri olan türleri portakal, mandarin, limon, altıntop ve laym olup, şadok, ağaç kavunu ve bergamot gibi diğer türler de turunçgiller içerisinde yer almaktadır. Bünyesinde yüksek düzeyde C vitamini içeren, insan sağlığına önemli yararları bulunan turunçgiller, sofralık taze tüketimin yanısıra reçel, marmelat ve meyve suyu olarak değerlendirilmekte, kabuğu ve çiçeğinden elde edilen uçucu bileşenler kozmetik sektöründe de ham madde olarak kullanılmaktadır. Turunçgil yetiştiriciliğinde ılıman iklime ihtiyaç duyulmakta olup, yurdumuzda en fazla yetiştiriciliği subtropik iklime sahip olan Akdeniz ve Ege bölgelerinde yapılmaktadır. Bu bölgelerin yanısıra turunçgillerin az da olsa Marmara ve Doğu Karadeniz bölgelerinde üretimi yapılmaktadır. Ülkemiz 2014 yılında yaklaşık 51 milyon ton yaş meyve ve sebze üretim miktarı ile önemli bir yaş meyve ve sebze üretici ülke konumunda yer almaktadır (Anonim, 2014). Türkiye'de turunçgil meyveleri, üretim miktarı ve dış satım geliri alanlarında yaş meyve ve sebze grubu içerisinde çok önemli bir konuma sahiptir. Turunçgil üretimi, toplam meyve üretimi içerisinde miktar olarak üzüm ve elmadan sonra

üçüncü sırada yer almaktadır. Tarım ürünleri ihracatı içerisinde ise % 12 pay alan yaş meyve sebze ürünlerinin yaklaşık % 5'ini turunçgiller oluşturmaktadır. Yaş meyve-sebze ihracatı içerisinde ise turunçgillerin payı yaklaşık % 44 düzeyindedir (Anonim, 2014).

Dünya Tarım ve Gıda Örgütü (FAO) verilerine göre, 2016 yılı itibarıyla dünyada toplam 66.974.100 ton portakal, 32.968.500 milyon ton mandarin, 15.981.800 ton limon, 8.321.600 ton altıntop ve 12.400.000 ton diğer turunçgiller olmak üzere yaklaşık 136.646.00 milyon tonun üzerinde turunçgil üretimi gerçekleşmiştir (Anonymous, 2016a).

FAO verilerine göre 2016 yılı itibarı ile ülkemiz yaklaşık 4.290.750 ton toplam turunçgil üretimi ile Çin, Brezilya, Hindistan, A.B.D, İspanya, Meksika, Mısır ve İran gibi ülkelerden sonra 9. sırada yer almaktadır. Turunçgiller açısından ülkemiz Dünya turunçgil üretiminin % 3.74'nü karşılamaktadır. Dünyadaki mevcut üretimin yaklaşık olarak % 47'si portakal, % 25'i mandarin, % 21'i limon ve % 7'si altıntop olarak kaydedilmiştir (Anonymous, 2016b). Ülkemizde Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2016 yılında toplam turunçgil üretiminde ilk sırayı 1.850.000 ton ile portakal, ikinci sırayı 1.337.037 ton ile mandarin, üçüncü sırayı 850.600 ton ile limon ve son sırayı 253.120 ton ile altıntop almaktadır (Anonim, 2016). Ülkemizde Akdeniz bölgesi 3.728.586 ton ile 1. sırada, Ege Bölgesi ise 545.167 ton ile 2. sırada yer alırken, Batı Marmara bölgesi 12.420 ton, Doğu Karadeniz bölgesi 6.817 ton, Batı Karadeniz bölgesi ise 1.596 ton ile turunçgil üretiminin yapıldığı bölgelerdir (Anonim, 2016).

Taze sebze ve meyvelerde derim sonrası kayıpların sürecini fizyolojik, fiziksel ve patolojik nedenlere bağlı kayıplar olmak üzere 3 temel faktör etkilemektedir. Bu kayıplar arasında en önemli olanı patolojik nedenlere bağlı kayıplardır. Bu nedenle derim sonrası oluşabilecek kayıpları en aza indirmek önem kazanmaktadır. Turunçgillerde derim sonrası ortaya çıkan çürüklükler meyve kalitesini ve pazar değerini etkileyen en önemli faktörlerdendir. Derim sonrasında turunçgillerde oluşan hastalıklar mavi ve yeşil küf (*Penicillium italicum* ve *P. digitatum*), ekşi çürüklük (*Geotrichum citri-aurantii*) ekonomik anlamda en önemli olanlarıdır (Snowdon, 1990). Bunlardan *Galactomyces citri-aurantii* E.E. Butler (anamorf evresi: *G. citri-aurantii* (Ferraris) E.E. Butler)'nin turunçgil meyvelerinde neden olduğu ekşi çürüklük hastalığı, yeşil ve mavi küf hastalıklarına göre daha az yaygın olmakla birlikte yağışın fazla görüldüğü mevsimlerde oldukça fazla kayıplara yol açmaktadır (Liu ve ark., 2009). Olgun meyveler, bu hastalığa

karşı, olgunlaşmamış meyvelere göre daha duyarlıdır. Hastalık, nemli dönemlerin uzun sürdüğü bölgelerde ve uzun süre depolanan meyvelerde oldukça ciddidir. Etmen, çoğunlukla karışık enfeksiyonlarda *P. digitatum* ve *P. italicum* ile ilişkili olarak ortaya çıkmaktadır (Eckert ve Brown, 1988).

G. citri-aurantii, limon, mandarin, portakal ve altıntop meyvelerinde yüksek düzeyde derim sonrası kayıplara yol açmaktadır. Günümüzde turunçgil meyvelerinde derim sonrası görülen *Penicillium* çürüklüklerine karşı ruhsatlı olarak kullanılan fungusitlerin hiçbiri, ekşi çürüklük hastalığına karşı etkili ve ruhsatlı değildir. Sodium o-phenylphenate (SOPP), ekşi çürüklüğü kısmen kontrol altına alabilen tek ticari fungusittir, ancak kullanımı, meydana getirdiği meyvede yüksek oleosellozis oluşumu ve kabukta siyahlaşma gibi zararlarından dolayı çok sınırlı düzeydedir (Ladaniya, 2008). Turunçgil ekşi çürüklük hastalığına karşı, dünyanın değişik ülkelerinde en etkili fungusit olarak guanidine grubundan olan “guazatine” kimyasalı ruhsatlandırılmış ve halen kullanılmaktadır. Buna karşılık, ABD gibi bazı ülkelerde bu fungusit, çok fazla etken madde içerdiği için ve uygulama sonrası meyve üzerindeki ilaç kalıntısını analiz edebilecek yöntem bulunmadığından uygulamadan kaldırılma aşamasına gelmiştir (McKay ve ark., 2012). Ülkemizde Ege ve Akdeniz bölgelerindeki turunçgil paketleme evlerinden toplanan *G. citri-aurantii* izolatlarının tümü, imazalil ve thiabendazole’e karşı dirençli bulunmuştur. Ayrıca guazatine’e karşı fungus izolatlarının % 40’ı duyarlı ve % 56’sı dirençli olarak belirlenmiştir (Horuz ve Kınay, 2009). Bu yüzden turunçgillerde derim sonrası ekşi çürüklük hastalığının mücadelesi için etkili ve ticari olarak uygun alternatif uygulamalara gereksinim duyulmaktadır. İçinde yaşadığımız çevrenin kirlenme problemleri, kullanılan tarım ilaçlarının insan sağlığına, doğaya verdiği zararlar, pestisitlere bir süre sonra bağışıklık kazanılması ve tüketicilerin organik ürünleri tüketme istekleri göz önüne alındığında biyolojik mücadele dünyada önem kazanmaktadır (Özaktan ve ark., 2010). Derim sonrası hastalıklarla biyolojik mücadeleye yönelik bilgiler oldukça eski tarihlere dayanmakla birlikte (Pusey ve Wilson, 1984), kimyasallara alternatif olarak yoğun çalışmalar, yaklaşık otuz yıl öncesinde başlamıştır (Wilson ve Wisniewski, 1989, Chalutz ve ark., 1990, Wilson ve ark., 1991; Droby ve ark., 1995).

Günümüzde derim sonrası hastalıkların mücadelesinde mayalar, biyolojik mücadele elemanı olarak önem kazanmış olup çok geniş bir ürün yelpazesinde kullanılmaktadır. Limondan izole edilen ve diğer turunçgillerin derim sonrası

hastalıklarına karşı da başarı ile kullanılan *Candida oleiphila* Montrocher, paketleme evlerinde Aspire adı altında ticari adıyla kullanılan ilk biyopreparattır (Katz ve ark., 1995). Bunun yanında *Pichia guilliermondi* Wickerham, birçok *Candida* türü (*C. sake*, *C. saitoana*, *C. oleiphila*), *Rhodotorula spp.* ve *Cryptococcus spp.* (*C. infirmo-miniatus*) ile yapılan çalışmalar, mayaların derim sonrası biyolojik savaşta etkili şekilde kullanılabilmesine göstermektedir (Roberts, 1990; Arras, 1996; Wisniewski ve ark., 1990). Son olarak, *Metschnikowia fructicola* Kurtzman & Droby, sp. nov., mayası içeren Shemer (Bayer Crop Sci.) isimli bir preparat hasat sonrasında ruhsatlandırılmıştır (Kurtzman ve ark., 2001).

Derim sonrası limon hastalıklarının kontrolü için hava kökenli bir fungus olan *Muscolor albus*'un ürettiği uçucu bileşiklere *in vitro*'da üç gün boyunca maruz kalan *P. digitatum* ve *G. citri aurantii*'nin gelişimi engellenmiştir (Mercier ve Smilanick, 2005). Ayrıca *M. albus* ile yapılan fumigasyon, taşıma paketlerinde veya bekletme odalarında çürümeyi etkin bir şekilde kontrol altına almıştır. Liu ve ark. (2010), derim sonrası *G.citri-aurantii*'nin neden olduğu ekşi çürüklüğe karşı iki antagonist mayanın (*Cryptococcus laurentii* ile *Rhodosporidium paludigenum*) olası mekanizmalarını değerlendirerek antifungal etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda *Cryptococcus laurentii*'nin 10^8 - 10^9 hücre/ml konsantrasyonundaki hücre süspansiyonu, 26 °C'de 5 günlük inkubasyondan sonra ekşi çürüklük oluşumunu % 55,6'dan % 20,7-29,9'a etkili bir şekilde düşürmüştür. Ren ve ark.(2012), Cecropin A genini expression vektörü olan pPIC9k'ye klonlamış ve methylotrophic maya olan *Pichia pastoris* GS115 içerisinde ekspresyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bu mayanın *G. citri-aurantii* sporları üzerinde etkili antimikrobiale aktiviteye sahip olduğu thiazolyl blue (MTT) testiyle ortaya konmuştur. Transforme olmamış ırk GS115 ve rekombinant ırk GS115/CEC arasında turuncgil meyvelerindeki yaralar üzerinde belirgin bir gelişme farkı olmamıştır. Maya transformantları *G. citri-aurantii* sporlarının çimlenmesini ve çürüme oluşumunu maya ırkı GS115/pPIC göre önemli ölçüde engellemiştir. Bu çalışma mayalarda antifungal peptid ekspresyonunun derim sonrası hastalıkların kontrolünde yeni bir yaklaşım oluşturabileceğini göstermektedir. Bakteri içerikli BioSaveTM (*Pseudomonas syringae* van Hall ESC 110 ve 111), yine turuncgillerde ve yumuşak çekirdeklielerde derim sonrasında kullanılan preparatlardır. Belirli düzeyde etkili bulunan antagonistler, pilot testlerle ticari boyutta sınanmakta ve biyofarmülasyonları hazırlanmaktadır (Droby ve

ark., 1993; Kınay ve ark., 2005; Janisiewicz, 2007; Kınay ve Yıldız, 2008).

Bacillus cinsine dahil bakteri türlerine ait üyeleri genellikle ürettikleri fitopatojenlerin gelişimini engelleyen çok sayıda biyolojik olarak aktif bileşik ürettiklerinden mikrobiyal fabrikalar olarak nitelendirilmektedirler (Emmert ve Handelsman, 1999). *Bacillus* türlerinin spor oluşturma yetenekleri, onları etkili biyopestisit ürünlerinin geliştirilmesinde en iyi adaylar yapmaktadır. Bu sporlar kuruluğa yüksek düzeyde dayanıklılık sağlama özelliği ile formülasyonun stabil olmasını sağlamaktadırlar (Ongena ve Jacques, 2008).

Ülkemiz, dünyada bor ürünlerinin en büyük üreticisi konumundadır. Bor ürünü olan tuzların, son zamanlarda taze ürünlerde kalıntı toleransından muaf tutulması önerilmekte ve bu nedenle uygun bir şekilde kullanıldığında, çevresel yönden güvenli olduğu vurgulanmaktadır. Ülkemizde bor ürünleri rafine formda olup, borik asit, boraks dekahidrat, boraks pentahidrat, sodyum perborat monohidrat, sodyum perborat tetrahidrat, susuz boraks ve bor oksitleri isimleri ile bilinmektedir. Bor, borik asit formunda suda çözünebilir, antiseptiklerin, insektisitlerin ve fungusitlerin içeriğinde bulunan ve bitki gelişimine yardımcı olan temel bir mikro besin elementidir (Hanaoka ve ark., 2014). Bunların yanı sıra borik asit ABD gibi ülkelerde 1945 yılından bu yana turunçgilde derim sonrası *Penicillium* çürüklüklerine karşı önerilmiş ve uygulamalarda yer verilmiştir. 1960'lı yıllardan sonra Benzimidazole sınıfından benomyl ve thiabendazole gibi sistemik fungusitlerin ve imazalil gibi DMI grubu bileşiklerin, turunçgil *Penicillium* çürüklüklerine karşı kullanılmaya başlanması ile borik asit yerini bu fungusitlere bırakmıştır. Ancak bu fungusitlerden bazılarının karşı patojenlerin direnç geliştirmelerinin yanı sıra çevre ve insan sağlığı açısından ortaya çıkan sorunlar nedeniyle bu sentetik fungusitlere karşı alternatif arayışlar, giderek daha fazla önem kazanmaya başlamıştır.

Winston (1935), turunçgil meyvelerinde sıcaklığı 32 °C olan suda paketleme evine girer girmez uygulanan bir boraks banyosunun, yaygın görülen sap ucu çürüklüğü ve mavi küf etmenlerini neden olduğu çürümeleri geciktirdiğini saptamıştır. Son yıllarda Borik asit ve tuzları derim sonrasında hem koruyucu hem de fungusit olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Borik asitle yapılan uygulamalarının meyve sertliğini, toplam çözünebilir kuru madde, toplam şeker ve antosiyanin içeriklerini arttırabildiği, buna karşılık toplam asitliği, ağırlık kaybını ve elmalarda *Botrytis cinerea*'nın neden olduğu

kurşuni küfö azalttığı belirlenmiştir (Hafez ve Haggag, 2007). Borik asit bağlarda *Eutypa lata* veya *Botrytis cinerea*'nin neden olduğu hastalıkların mücadelesinde (Rolshausen ve Gubler, 2005; Qin ve ark., 2010) kullanılmıştır. Borik asit uygulamasının soğuk depolamada elmalarda *B. cinerea*'nin neden olduğu yumuşak çürüklüğu azalttığı (Hafez ve Haggag, 2007), mavi çürüklük etmeni *Penicillium expansum*'un virölensliği ve patulin üretimi konusunda engelleyici etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Bor (Power B ve Boraks) şeftalilerde *Monilinia laxa* gelişimini önemli ölçüde azaltmıştır (Thomidis ve Exadaktylou, 2010). Potasyum tetraborat mangoda *Colletotrichum gloeosporioides* gelişimini engellemiş (Shi ve ark., 2011) ve jojoba meyvesinde *P. expansum*'a karşı kullanılan *Cryptococcus laurentii*'nin biyolontrol aktivitesini desteklemiştir (Cao ve ark., 2012).

Ülkemizdeki bor ürünlerinin *G. citri-aurantii*'nin turunçgil meyvelerinde neden olduğu ekşi çürüklük hastalığının mücadelesinde, farklı bor ürünlerinin ve kombinasyonlarının laboratuvar ve yarı ticari (Gür ve Kurt, 2017) ve depo koşullarında (Kurt ve ark., 2018) etkileri olduğu ortaya konmuştur. Yaptığımız literatür araştırmasında turunçgil meyvelerinde ekşi çürüklük hastalık etmeni ile biyolojik mücadele kapsamında antagonist mayaların kullanıldığı bir çalışma mevcut olup (Liu ve ark., 2010), hastalık etmeni ile biyolojik mücadelede bakteri izolatlarının kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Dolasıyla bu çalışma bu konuda yapılmış ilk araştırma niteliğindedir.

Bu çalışmada, *G. citri-aurantii*'nin turunçgil meyvelerinde neden olduğu ekşi çürüklük hastalığının mücadelesinde, farklı kompost materyallerinden izole edilmiş *Bacillus* türlerine ait antagonist bakteri izolatlarının tekli ve bor ürünleri ile içerisinde kombinasyonlarının laboratuvar (*in vitro*) ve yarı ticari koşullarındaki (yarı *in vivo*) antifungal etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Winston (1935), turunçgil meyvelerinde paketlenme evine girdiği anda sıcaklığı 32 °C olan su içerisinde uygulanan boraks banyosunun, yaygın görülen sap ucu çürüklüğü ve mavi küf etmenlerinin neden olduğu çürümeleri geciktirdiğini belirlemiştir. Bu çalışmada boraks uygulamasının, sarartma uygulamasına ihtiyacı olan meyvelerde de etkili olduğu belirlenmiştir. Antiseptik uygulamasının ise, daldaki meyvelere göre, dökülmek üzere olan aşırı olgun meyvelerde daha etkili olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte, boraks konsantrasyonunun % 8'den daha az olmamak kaydı ile yapılan uygulamalarının en iyi sonucu ortaya çıkardığı belirlenmiştir. Taze turunçgil meyveleri hafifçe kurutulduktan sonra boraksın birkaç saat süreyle meyve üzerinde kalması sağlanmıştır. Sudaki meyve sıcaklığının yaklaşık 32 °C olduktan sonra boraks uygulaması yapılmadan önce boraks solüsyonunun maksimum etkili miktarının sabit kalması sağlanmıştır. Bu işlemde meyveler, ısıtılmış boraks solüsyonu tanklarından yavaşça geçirilerek ya da sarartma odalarını ısıtarak gerçekleştirmiştir. Bu uygulamalar sonrasında; perakendeci, tüketici ve pazara taşınma sonrasında meyve kalitesinin korunması ile meyvelerdeki çürümelere büyük oranda azaltılmıştır.

McCornack (1970), ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nin turunçgil meyveleri ve hibritleri için derim sonrasında kullanılmak üzere 4 fungusiti uygun bulunduğunu açıklamıştır. Bunların, thiabendazole (TBZ), o-phenylphenol ve tuz formları, Sodium O-PhenylPhenate (SOPP, Dowicide 1 ve Dowicide A), biphenyl (diphenyl) ve boraks ve borik asit olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, 2,4-D'nin izopropil esterinin yalnızca limonlarda derim sonrasında kullanılacağı açıklanmıştır. Bu fungusitlerin karşılaştırmalı etkinlikleri, formülasyonları ve kullanım yöntemleri ile birlikte değerlendirilmiştir. ABD Gıda ve İlaç Dairesi, etiketleme talimatlarını, turunçgil meyvelerine uygulanan derim sonrası fungusitler için yeniden oluşturulmuştur. Florida Turunçgil Düzenleme Komisyonu; taze turunçgil meyveleri için fungusit veya fungistatik uygulama talimatlarını, tüm kayıtlı paketlenme evlerinde kullanılan işlemler için gözden geçirmiştir. Boraks, 1924 yılında ticari anlamda derim sonrası ilk fungusit olarak kullanılmıştır. Florida'da 1952 yılında bu fungusitin pratikte kullanılması yasaklanmıştır. Boraks ve borik asit, 1969 yılında turunçgil yetiştiricilerinin isteği üzerine, turunçgillerde derim sonrası kullanım için 12

toplamda 8 ppm maksimum kalıntı limiti ile onaylanmıştır. Ayrıca bu tolerans sınırına, turunçgil meyvelerinde doğal oluşan bor miktarının da dahil edildiği bildirilmiştir.

Kitagawa ve Kawada (1984), agar kültür testlerinde, ortam pH'sı ayarlanmadan salisilik asitin (SA), ekşi çürüklüğü (*Geotrichum citri-aurantii*) kontrol etmek için, sodyum o-fenilfenat (SOPP) kadar etkili olduğunu, ancak potasyum sorbatın (PS) daha az etkili olduğunu belirlemiştir. Ortamın pH'sı ayarlandığında, SA ve PS'in etkinliğini aynı bulmuş ve her ikisinin de, pH=5'ten düşük olduğunda SOPP'a göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda % 2 oranındaki PS'in, yapay olarak inokulasyon yapılan limonlardaki ekşi çürüklüğü kontrol etmede etkili bulunduğu ifade edilmiştir. Bununla birlikte limonlara 2 dakika boyunca daldırma ve 50 °C'de su çözeltisi uygulandığı zaman SK'nın etkinliğinin, SOPP'a göre daha etkili veya aynı oldukları saptanmıştır.

Brown (1988), 'un yaptığı *in vitro* çalışmada derim sonrası çürüklükleri kontrol etmede guazatine ve iminoctadine'nin etkililiği üzerine yapılan çalışmada, sap ucu çürüklükleri (*Diplodia natalensis* ve *Phomopsis citri*), yeşil küf (*P. digitatum*) ve ekşi çürüklük (*G. candidum*) kontrolünde iminoctadine'in guazatine'e eş ya da daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Ayrıca iminoctadine'in depo koşullarında yeşil küf sporulasyonunu ve ekşi çürüklük yayılımını kontrol altına aldığı belirlenmiştir.

Brown ve Chambers (1999),'nın Florida'da turunçgillerde derim sonrası hastalıklarla mücadelede dezenfaktan olarak kullanılan polihexametilen biguanide ile yaptıkları çalışmada, ekşi çürüklük kontrolünde SOPP'e oranla daha fazla etki düzeyi tespit edilmiştir. Yeşil küf kontrolünde ise TBZ ve imazalille aynı oranda bir etki olduğu görülmüştür.

Smilanick ve Sorenson (2001), turunçgillerde *Penicillium digitatum*'un neden olduğu yeşil küfün görülme oranının, % 0,75 (ağırlık/hacim) kalsiyum polisülfid içeren ılık (40,6-43,3 °C) sıvı kireç kükürt (LLS) solüsyonuna 1-4 dakika daldırılan portakal ya da limonlarda % 80 veya daha fazla oranda azaldığını bildirmiştir. *Geotrichum citri-aurantii*'nin neden olduğu ekşi çürüklük hastalığı için ise, aynı uygulama ile görülme oranının % 35-70 düzeyinde azaldığı ve derim sonrası çürümleri kontrol amacıyla kullanılan diğer uygulamalar ile benzer etkinlik gösterdiği bulunmuştur. Bu uygulamanın etki düzeyi, portakala oranla limonda, özellikle yeşil limonlarda sarı limonlardan daha yüksek olmuştur. Ayrıca LLS'nin, sporulasyonu engelleyen bazı fungusitler ile birlikte

kullanıldığında daha faydalı olduğu bildirilmiştir. LLS uygulamasından sonra portakal, limon ve altıntop meyvelerinde sülfite içeriği, sırasıyla yaklaşık 31.9, 33.1 ve 36.3 mg/g olarak belirlenmiştir. Ayrıca yüksek basınçlı bir su ile iyice temizlenmiş meyvelere LLS uygulandıktan sonra etkinliğin arttığı, aksine benzer şekilde temizlenen meyvelerde, kullanılan sodyum karbonat ya da boraks ve borik asit solüsyonlarının etkinliğinin azaldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte limon ve Navel portakal çeşitlerinin meyvesine, 40,6 °C de 3 dakika LLS uygulanıp 10 °C'de 7 gün depolandıktan sonra herhangi bir zarar belirlenmemiştir. 48,9 °C' de LLS uygulamasının kullanım etkinliği 5 °C'dekinden daha yüksek olmuştur. Sadece Lizbon limonu ve Bonanza Navel portakalları biraz zarar görmüştür. LLS solüsyonundaki sülfite konsantrasyonu her 24 saatte yaklaşık % 7 oranında azalmıştır. LLS solüsyonunun kullanım şeklinin, diğer tank uygulamalarından daha başarılı olduğu belirtilmiştir.

Smilanick ve ark. (2002), paketlenen evlerinde sanitasyonda kullanılan klorinin yeşil küf (*P. digitatum*) ve ekşi çürüklük (*G. citri aurantii*) sporları üzerine etkisine ilişkin yaptıkları çalışmada, 200 µg saf klorin içeren ve pH'sı 8.3 olan % 3'lük NaHCO₃'e 5 °C'de 180 saniye veya 24 °C'de 32 saniye süreyle klorine maruz kalan *P. digitatum* sporlarının % 95'inin öldüğünü belirlemişlerdir. Aynı şekilde *G. citri-aurantii* sporlarının da klorine 5 °C'de 108 saniye, 24 °C'de 31 saniye süreyle daldırıldığında % 95'inin öldüğü tespit edilmiştir.

Govender ve ark. (2005)'nin Güney Afrika'da derim sonrası hastalıkların kontrolü için yaptıkları çalışmada mangoda *Bacillus licheniformis*'in yarı ticari formunu değerlendirmişlerdir. *B. licheniformis*, bir mango çeşidi olan "Keitt" üzerinde antraknoz ve sap ucu çürümesini kontrol etmek için mango paketlenen evinde yarı-ticari koşullar altında değerlendirmeye alınmıştır. Mango meyvesi 45 °C'lik suda biyokontrol etmeni kullanılarak bir çeyreği prochloraza batırılarak tedavi edilmiştir. Kontrol ve ticari olarak kullanılan prochloraz sıcak su daldırması yöntemleri karşılaştırılmıştır. Uygulama yapılan meyveler kurutulup ticari paketlenen evinde mumlanmıştır. Bu meyvelerin, 10 °C de düşük sıcaklık ile % 90 bağıl nem ve oda sıcaklığında (20 °C % 75 bağıl nem) ve 7 gün süreyle pazar koşulları tutulması sonrasında sap ucundaki çürüklük ve antraknoz oranının azaldığı gözlenmiştir. Bu entegre tedavi, diğer tedavilerle karşılaştırıldığında, meyve rengini ve sertliğini, yüksek pazarlanabilirliğinin olabileceğini etkili bir şekilde göstermiştir.

Rolshausen ve Gubler (2005), asmada (*Vitis vinifera*), *Eutypa lata*'nın uzun yıllar süren bir kanser hastalığının etmeni olduğunu belirtmişlerdir. Hastalık etmeni olan fungus dormant sezon boyunca budama yaralarından enfekte olan asma üzerinde askosporlarını üretmektedir. Bunun için dormant dönem boyunca fungusit uygulamaları yaparak, hastalığa karşı mücadele sağlanmaktadır. Ancak benomyl'in piyasadan kaldırılmasından sonra hiçbir fungusit bu amaç için kullanılabilir etkinlikte olmamıştır. Bu çalışmada *E. lata*'ya karşı benomyl'e bir alternatif olarak, borik asit (% 17.5 lik bor etken maddeli) denemeye alınmıştır. Misel gelişimi ve askospor çimlenmesinin önlenmesinde borik asit için EC₅₀ değerleri, sırasıyla 125 ve 475 µg ml⁻¹ olarak belirlenmiştir. Ayrıca iki bor bileşenli uygulama, 2001-2003 yıllarında *in vitro* ve arazi denemeleri şeklinde yapılmıştır. Uygulanan materyallerden birisi, Biopaste olarak bilinen % 5 borik asit içeren (8,75 mg etken madde/ml) ticari bir macundur. Diğeri ise, Bioshield adı ile *Cladosporium herbarum*'un spor süspansiyonu içinde % 5 borik asit halinde bulunmaktadır. Kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında her iki ürünün de denemelerde hastalığı önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra yaprak ve sürgünlerde bor birikimi tespit edilmemiş, fakat uygulama yapılan yaranın altındaki ilk tomurcukta göz yanması meydana gelmiştir.

Smilanick ve ark. (2007), derim sonrası turunçgillerde yeşil küf ve ekşi çürüklüğe karşı potasyum sorbatın sıcaklık ve fungusitlerle birlikte kullanımının hastalık oluşumu üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada fungusit olarak fludioxonil, imazalil, TBZ ve pyrimethanil kullanılmıştır. 25 °C ve 50 °C sıcaklıktaki su ile uygulamalar kombine edilmiştir. Tek başına potasyum sorbat ya da fungusitlerle kombine edilen potasyum sorbatın sıcak suya uygulandığında daha etkili olduğu gözlenmiştir. Potasyum sorbat ve sodyum bikarbonat karışımı tek kullanımlarına göre biraz daha etkili görülmüştür. Imazalil ve TBZ'ye dayanıklı *P. digitatum* izolatının sıcak su ile uygulanmış imazalil ve TBZ'de etkili şekilde kontrol edildiği belirlenmiştir. Ancak sıcak suya uygulanmış fungusitlerde meyve yüzeyindeki kalıntı miktarının arttığı gözlenmiştir. Bu artış fludioxonilde diğerlerine göre daha az olmuştur. Bununla birlikte sıcak suya potasyum sorbat ve fungusitler uygulandığında meyvelerde kalıntı gözlenmemiştir. 25 °C sıcaklıkta potasyum sorbat ve sodyum bikarbonata 30 saniye süreyle daldırılma yapıldığında ekşi çürüklük etmeni *G. citri-aurantii* kontrole göre % 49.1 ve % 47.2 oranında, 50 °C'de ise % 37 ve % 15.7 oranlarında baskılanmıştır.

Essghaier ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada çilek meyvelerinde kurşuni küfün (*Botrytis cinerea*) biyolojik kontrolü sağlanması amacıyla hipersalin ekosistemlerden etkili halofilik bakterileri seçerek antifungal olanların ekstraselüler hidrolitik enzimleri, anti-*Botrytis* metabolitleri ve uçucuları salgılama yeteneklerini değerlendirmişlerdir. Çilek meyvesine yapay olarak inokule edilen *Botrytis*, halofilik antagonistler ile tedavi edilerek kurşuni küfün azalmasını sağlamıştır. 20 °C’de 30 tür (% 20.2) patojene karşı etkinlik göstermiş ve 3 gün depolamadan sonra % 50’den % 91.66’ya kadar enfekte olan meyve yüzdesi azaltmıştır. Antagonistler, fenotipik testler ve 16S rDNA dizilemesi ile karakterize edilmiştir. Tanımlanan bakterilerin *Virgibacillus marismortui*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *Terribacillus halophilus*, *Halomonas elongata*, *Planococcus rifietoensis*, *Staphylococcus equorum* ve *Staphylococcus sp.* olduğu tespit edilmiştir. Etkili izolatlar antifungal olarak sekonder metabolitler için test edilmiştir. Halofilik bakterilerin, biyolojik mücadele olarak çileklerin hasat sonrası depolanması sırasında bu patojene karşı kullanılabileceği ve sentetik fungusitlere önemli bir alternatif oluşturabileceği ifade edilmiştir.

Jamalizadeh ve ark. (2008), elmada *Botrytis mali*’ye neden olan kurşuni küfün kontrolü için *B. licheniformis*’i değerlendirmişlerdir. *B. licheniformis* kültürü hücresiz, metabolit ve geçici testlerde patojen gelişimini engellediğini göstermiştir. İkili kültür testlerinde % 46.2-65.4, hücresiz metabolit testlerinde % 58.6-58.8 ve geçici testlerde % 28.4-33.8 gibi çeşitli engelleme sonuçları çıkmıştır. *B. licheniformis* elmalarda yeşil küfte 24 °C ve 20 °C arasında iyi bir antagonist etki göstermiştir. Bu 4 °C de kontrol 32-41 mm ile karşılaştırıldığında *B. mali*’nin lezyon çapının 9-11 mm arasında azaldığı gözlenmiştir. 20 °C de lezyon çapı 14 gün sonra kontrol tedavisi için 25.8-38.2 mm, antagonist tedavisi için 3.6-8.4 mm indirildiği belirlenmiştir.

Smilanick ve ark. (2008), turuncgil meyvelerini % 1’lik potasyum sorbat veya sodyum bikarbonat solüsyonlarına 50 °C’de 30 dakika daldırarak ekşi çürüklük hastalığının oluşumunun, sırasıyla % 94.5’ten % 37.0 ve % 15.7’ye düşürüldüğünü bildirmişlerdir.

Sadfi ve ark. (2008), sera, tarla ve depolama koşullarında *Fusarium roseum* var. *sambucinum*’un patates yumrularında neden olduğu kuru çürüklüğün biyolojik kontrolü için tuzlu topraklardan seçilen *Bacillus spp.*’nin baskılayabilme yeteneği değerlendirmişlerdir. Saksılarda yapılan sera denemeleri patates yumrularının çıkışını

bakteriyel antagonistlerin uyardığını göstermiştir. Verim parametreleri değerlendirildiğinde *B. licheniformis* I32 ve *B. cereus*'un X16 izolatlarının hastalık şiddetini azaltmadaki etkinliği belirlenmiştir. Tarla denemeleri tohumluk yumrular üzerindeki *Fusarium* çürümesini kontrol etmek ve verim parametrelerini arttırmak için en etkili izolatın *B. cereus*'un X16 olduğunu göstermiştir. *B. cereus* X16 tarafından tohum yumru kolonizasyonu ekimden 61 gün sonrasına kadar önemli derecede daha yüksek oranda artmış, 75 gün sonra azalmıştır. Ayrıca, çalışılan 6 ve 8 ay boyunca sırasıyla geleneksel ve soğuk depolama denemelerinde fungusit carbendazim ile tedavi edilenlere ve patojen aşılması yapılmış kutulara kıyasla, karışımla (X16 + *B. thuringiensis* var. *galleriae* 55T) ya da tek başına her bir antagonist ile tedavi edilen patates kutularında çürüme önemli oranda azalmıştır.

Arrebola ve ark. (2009a), turunçgillerin derim sonrası fungal patojenlerine karşı Iturin A'nın *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004'ün biyokontrol aktivitesindeki başlıca inhibitör olduğunu belirlemişlerdir. *B. amyloliquefaciens* ırkı, doğal olarak meydana gelen ve meyve yüzeyinde epifitik olarak sağ kalan biyolojik kontrol ajanı aranırken tespit edilmiştir. Bu bakteri türü derim sonrası turunçgillerde seçilmiş 7 patojen fungusa karşı antifungal aktivitesinin olduğu anlaşılmıştır. Denemelerde kullanılan *B. amyloliquefaciens*'in lipopeptid ekstraktları güçlü engelleme etkisi göstermiştir. Farklı lipopeptid ekstraktları konsantrasyonlarının normal olmayan konidi çimlenmesi ve çim tüpü gelişiminde engelleme etkisi gözlemlenmiştir. Ayrıca PCR ve kromatografi kullanılarak fengisin, iturin ve surfaktin varlıkları onaylanmış, Iturin A daha fazla engelleme göstermiştir. Meyve denemelerinde fungus uygulamasından bir gün önce veya bir gün sonra antagonist uygulandığında hastalık gelişimini engellediği gözlenmiştir.

Arrebola ve ark. (2009b),'nın şeftalide derim sonrası hastalıkların kontrolü için antagonist ve uçucu yağların kombine olarak uygulanması amacıyla yaptıkları çalışmada *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum* ve *Rhizopus stolonifer*'in kontrol edilmesinde güçlü antagonist olan *B. amyloliquefaciens* PPCB004 seçilmiştir. PPCB004'ün HPLC verileri sekonder metabolitlerinin Iturin A, fengisin ve surfaktin lipopeptitleri ve GC\MS analizinde dominant bileşiğin 3 hidroksi 2 bütanon olduğunu göstermiştir. Kekik ve limon otu yağları tüm patojenlerin sırasıyla 8 µl yağ petri ile % 50 ve % 25 üzerinde misel yarıçapının gelişimini engellemiştir. Derim sonrası depolama sırasında PPCB004, kekik ve limon otu yağları ile kombinasyon uygulamasının patojenlere olan etkinlikleri

test edilerek belirlenmiştir. PPCB004'ün biyofilm oluşumu limon otunda, kekiğe göre daha yüksek olmuştur. Limon otu yağı (6 µl petri⁻¹) ve PPCB004 patojenlerdeki miselyal gelişimini tamamen engellemiştir. Meyve inokulasyon denemeleri ile PPCB004 + Limon otu yağı NatureFlex™ modifiye atmosferde depo (MAP) ile PPCB004 + MAP, PPCB004 + kekik yağı + MAP, limon otu yağı + MAP, kekik yağı + MAP kombinasyonları veya tek başına MAP 25 °C'de 5 gün içinde hastalık şiddetini ve oranını düşürdüğünü göstermiştir. Doğal olarak enfekteli meyvelerde PPCB004 + limon otu yağı + MAP ve limon otu yağı + MAP tedavileri toplam çözülebilir katılar / titre asit oranı ve etin sertliği muhafaza edilmiş ancak toplam fenolik içerik, fenilalin amilaz, β-1,3 glukanaaz ve sitinaz aktiviteleri uyarısı başarısız olmuştur. PPCB004 (Sprey tedavi) + limon otu yağı (Pet dağıtım sistemi) NatureFlex™ MAP kombinasyonu soğuk depoda 14 gün için 4 °C'den sonra piyasa raf koşullarında meyvelerin genel kabulünü arttırmış (2 gün için 20 °C), genel görünümü korumuş, hastalık oluşmamış ve kötü lezzet gelişmemiştir.

Horuz ve Kınay (2009), Türkiye'de Satsuma mandarini ve limonlarda *Geotrichum citri-aurantii*'in neden olduğu ekşi çürüklüğün, ekonomik ürün kayıplarına neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu hastalıkla savaşmada guazatin kimyasalının kullanımı, paketlenme evleri ile sınırlandırıldığından dolayı, ekşi çürüklük patojeninin etkilerini azaltmak için yeni çözümlere ihtiyaç duyulduğu belirtilmiştir. Ege ve Akdeniz bölgelerindeki paketlenme evlerinden toplanan *G. citri-aurantii*'nin 32 izolatu, bazı fungusitlere karşı denenmiştir. Bu çalışmada, *in vivo* ve *in vitro* koşullarda derim sonrası yaygın olarak kullanılan fungusitlerden guazatin, thiabendazole (TBZ) ve imazalil ile farklı dozlardaki yeni nesil pyrimethanil, fludioxonil ve azoxystrobin gibi derim sonrası fungusitler *G. citri-aurantii*'ye karşı biyolojik etkinlik yönünden araştırmışlardır. Sonuçta izolatların tümü, fungusitlerin yüksek dozlarında imazalil ve TBZ fungusitlerine karşı dirençli bulunmuştur. Bu izolatların guazatin'e karşı duyarlılığı incelendiğinde, bunların % 28'i duyarlı ve % 72'si dirençli olarak tespit edilmiştir. Öte yandan *in vitro* ve *in vivo* denemelerde azoxystrobin'in, patojenin gelişimini ve çürüme oranını etkilemediği belirlenmiştir. Buna karşılık sadece guazatin'in, patojenin gelişimi ve ekşi çürüklük oluşumunda etkili olduğu bildirilmiştir. Ek olarak *in vivo*'da Satsuma mandarini üzerinde yapılan denemelerde, sodyum bikarbonat (% 2) ve guazatin (900 µg/ml)'in en etkili kombinasyonunun ekşi çürüklük hastalığının gelişimini engellediği saptanmıştır.

Liu ve ark. (2009), *Geotrichum citri aurantii*'nin çim tübü uzaması ve arthrokonidi çimlenmesi üzerine kekik yağının antifungal etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre PDA (Patates Dekstroz Agar) ortamında, spor çimlenmesi ve spor çim borusu gelişiminin uçucu yağ tarafından 600 µl/l konsantrasyonunda % 94 oranında engellendiği, *in vivo* koşullarda yapılan denemelerde çürüme oranının kontrol uygulamalarında % 78.1 iken uçucu yağ uygulaması görmüş meyvelerde % 14.1 oranına gerilediğini tespit etmişlerdir. Elektron mikroskobu ve taramalı ışık mikroskobu ile incelemelerinde uçucu yağ uygulamalarına maruz bırakılmış hif ve sporlarda belirgin şekilde kırışmalar, plazma zarının bozulması, mitokondriyal düzensizlikler gibi morfolojik değişiklikler olduğunu belirlemişlerdir. Ek olarak, arthrokonidilerin ve fungal hiflerin morfolojik yapıları üzerine kekik yağının etkilerini ortaya koymuşlardır.

Arrebola ve ark. (2010), *Bacillus* türleri tarafından üretilen uçucu bileşiklerin antifungal etkilerini derim sonrası patojenlerinden *Penicillium digitatum* Sacc., *Penicillium italicum* Wehmer ve *Penicillium crustosum* Thom'a karşı araştırdıkları çalışmada *Bacillus subtilis* PPCB001 veya *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 ve antagonist kombinasyonu (PPCB001 + PPCB004) yapay ve canlı ortamda incelemeye almışlardır. Yapay ortamda tek başına veya kombinasyon halindeki antagonistler, *Penicillium spp.*'nin misel gelişimini engellemişlerdir. Test edilen üç *Penicillium* izolatları arasında, *P. crustosum*'un misel gelişimini, PPCB004 antagonistinin % 73.3 oranında engellediğini göstermiştir. Uçucuların antifungal etkileri zamanla (gün) artmış ve PPCB004 10. günde *P. crustosum*'un radyal misel gelişimini en yüksek oranda engellediği görülmüştür. 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edilen antagonist PPCB004, *P. Crustosum*'da tüm diğer uygulamalara göre spor çimlenmesi ve çim tübü uzaması üzerinde daha yüksek engelleyici etki göstermiştir. PPCB001, PPC004'ten (8 farklı tip) daha yüksek sayıda uçucu bileşik (21 farklı tip) üretmesine rağmen, PPCB001 (% 45.98) ve PPCB004 (% 97.52) tarafından üretilen baskın keton, 3-hidroksi-2-butanon (asetoin) olmuştur. 25 °C 12 gün boyunca *P. crustosum* inokule edilmiş Valensiya meyvelerinde çürüme sıklığı ve şiddetine karşı antagonist PPCB004 önemli bir engelleme göstermiştir.

Hao ve ark. (2010), çay saponin ile birlikte *Bacillus amyloliquefaciens* kullanarak turuncgil yeşil ve mavi küf ve ekşi çürüklüğünün entegre kontrolü amacıyla bu çalışmayı yapmışlardır. *B. amyloliquefaciens* HF-1 ırkı turuncgil meyvelerinden izole edilmiş 16S rDNA dizisinin filogenetik analizleri ve biyolog tanımlamaya dayalı teşhisi yapılmış ve

yapay ortamda *Penicillium digitatum*'a karşı kullanılmıştır. Bu izolat 'Wuzishatangju' mandarin meyvesi üzerine tek başına veya çay saponin (TS) ile kombinasyon olarak uygulanmış ve değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre bu izolatin, yeşil ve mavi küfü ve ekşi çürüklüğü azaltmada su kontrolünden daha iyi performans gösterdiği ama fungusit tedavisi kadar etkili olmadığı ortaya konmuştur. *B. amyloliquefaciens* HF-01'in biyokontrol etkinliği yaralarda antagonistik popülasyonu canlandırmayı ve bakteriye biofilmin oluşumunu etkileyebilen TS'nin eklenmesiyle önemli ölçüde geliştirilmiştir. 50 µg/ml TS ile HF-01 kombine içeren bu uygulama, yeşil ve mavi küf ve ekşi çürüklüğü % 90'dan fazla kontrol edebildiğinden fungusit muamelesi kadar etkili olduğunu göstermiştir. *B. amyloliquefaciens* HF-01 tek veya düşük dozda TS ile kombine edildiğinde, diğer meyvelerde kalite parametrelerini bozmadan derim sonrası çürümelere önemli ölçüde azaltmıştır. *B. amyloliquefaciens* HF-01 ve TS'nin kombinasyonunun, turunçgil derim sonrası hastalıkların kontrolü için sentetik fungusitlere bir alternatif olabileceği ifade edilmiştir.

Liu ve ark. (2010), derim sonrası ekşi çürüklüğe karşı iki antagonist mayanın (*Cryptococcus laurentii* ile *Rhodosporidium paludigenum*) antagonist etkileri ve olası mekanizmalarını değerlendirerek hastalıkla biyolojik mücadele imkanlarını araştırmışlardır. Sonuç olarak *C. laurentii*'nin 10^8 - 10^9 hücre/ml konsantrasyonundaki hücre süspansiyonunun, 26 °C'de 5 günlük inkubasyondan sonra ekşi çürüklük oluşumunu % 55.6'dan % 29.9'ya etkili bir şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir.

Qin ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada bor elementinin 0 °C ve oda sıcaklığındaki sofralık üzümde *Botrytis cinerea*'nın neden olduğu derim sonrası kurşuni küf hastalığının kontrolünde potasyum tetraborat formunda kullanıldığında, önemli bir mikro element olarak etkili olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca meyve çürümesinin engellenmesinde solüsyondaki bor konsantrasyonları ile kısmen pH değeri, sonucu etkilemiştir. Bor elementinin, *B. cinerea*'nın kültür ortamında spor çimlenmesini, misel gelişimini ve çim tübü uzamasını güçlü bir şekilde engellediği belirlenmiştir. Aynı zamanda % 1 bor uygulamasında bazı durumlarda sporlarda anormalliklerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Propidyum iyot floresan boyama tekniği kullanılarak, bor uygulamasından sonra *B. cinerea*'da membran bütünlüğünün kaybolduğu gözlenmiştir. Ayrıca bor, *B. cinerea*'nın hiflerinde çözünür protein ve karbonhidrat gibi hücresel bileşenlerde zararlanmalara sebep olmuştur. Bu durum, hifte stoplazmik materyallerin kaybı ve hücre

membranının çökmesi ile sonuçlanmıştır. Fungal patojenin hücre zarındaki bozulmanın boru uygulaması ile doğrudan ilgili olduğu ve sofralık üzümlerdeki çürüme nedeni olan kurşuni küfün bor ile engellenmesinde bu mekanizmaların etkili olabileceği kanısına varılmıştır.

Feng ve ark. (2011), geniş spektrumlu antibakteriyel ajanlar olan polyhexamethylene biguanid (PHMB) ve polyhexamethylene guanide (PHMG)' in turunçgilde ekşi çürüklük etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı antifungal etkilerini belirlemek amacıyla *in vitro* ve *in vivo* şartlarda bir araştırma yürütmüşlerdir. Çalışma sonucunda *in vitro* koşullarda PHMG ve PHMB uygulamalarının, *G.citri-aurantii*'nin çimlenme oranını ve misel gelişimini önemli ölçüde engellediği saptanmıştır. Ek olarak, PHMG ve PHMB'nin 5 mg/L konsantrasyonda *G. citri-aurantii*'nin arthrokonidi çimlenmesini, sırasıyla % 97.8 ve % 95.8 seviyesinde engellediği belirlenmiştir. Uygulamalar sonucunda ışık mikroskobu, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile yapılan gözlemlerde; PHMG taramalarında hiflerde bozulma, deformasyon ve hiflerde içbükey çöküş, hiflerin ve arthrokonidilerin plazma membranının parçalanması gözlenirken, PHMB uygulamalarında hücreler dahil arthrokonidilerin hücre duvarında hasarlar olduğu ve ultra strüktürel değişiklikler gösterdiği gözlenmiştir. Ayrıca PHMG ve PHMB uygulamalarının, yapay inokulasyon yapılan 'Shatang' çeşidi mandarinlerde meyve çürüklüğü gelişimini önemli azalttığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda PHMG ve PHMB'nin, turunçgilde derim sonrasında çürümelerin kontrolünde alternatif olabileceği önerilmiştir.

Jamalizadeh ve ark. (2011), derim sonrası meyve bozulmasına karşı biyolojik kontrol organizmalarının etki mekanizmaları gözden geçirmişlerdir. Araştırmacılar, derim sonrası meyve çürümelerine karşı birkaç biyolojik kontrol mekanizmasının olduğunu belirtmişlerdir. Bunlar arasında (besin ve yer için) rekabet, antibiyosis, parazitizm, konukçu dokuda direnç teşviki ve uçucu metabolitlerin üretiminin yer aldığını bildirmişlerdir. Konukçu-patojen antagonist ve diğer organizmaların ilişki kompleksi hakkındaki bilgiler eksik olduğundan pek çok antogonistin etki mekanizmaları henüz tamamlanmadığı bildirilmiştir. Bununla birlikte, resmi onay alınabilmesi için uygun formülasyonların ve uygulama yöntemlerinin geliştirilmesinden önce eylem mekanizmasının iyi bir şekilde anlaşılmasının önemli olduğu ifade edilmiştir.

See ve ark. (2011), borik asitin farklı fungus türlerine karşı antifungal etkinliğini araştırmışlardır. Bu amaçla, farklı borik asit konsantrasyonlarında fungusların çeşitli ırkları, gelişimi ve β - glikosidaz üretimi için çeşitli ortamlarda denemeye alınmıştır. Elde edilen sonuçlar, *Trichoderma* izolatlarının gelişiminin, artan borik asitin miktarı (% 3, ağırlık/hacim) ile azalma gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak, *Paecilomyces variotii*, borik asiti tolere ederek büyümeyi % 3'ün üzerinde arttırarak gelişme sağlamıştır. *Trichoderma*, *P. variotii* ile karşılaştırıldığında β -glikosidaz üretimi daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmada borik asitin fungusların gelişimini ve β -glikosidaz üretimini engellediği, fungusit etkisinin olduğu belirlenmiştir.

Shi ve ark. (2011), mangoda derim sonrası mango *Colletotrichum gloeosporioides*'in konidilerinin çimlenmesi üzerine potasyum tetraboratın etkisini araştırmışlardır. Çiçeklenme aşamasında mango ağaçlarına $K_2B_4O_7$ uygulaması, meyve fidanının gelişimini arttırmış ve meyve deriminde antraknoz oranını azaltmıştır. Çimlenme, nükleer bölünme, endositoz ve *C. gloeosporioides* konidilerinin ultra yapısal özellikleri üzerinde boratın etkileri, ışık konfokal ve transmisyon elektron mikroskobu kullanılarak belirlenmiştir. Sonuçlara boratın, çimlenme ve 20 çim tübü uzamasını engellediğini nükleer bölünmeyi geciktirdiğini ve *C. gloeosporioides* konidilerini bozduğunu göstermiştir. Ultra yapısal değişiklikler mitokondri bozulması, stoplazma dağılması, vakuol sayısındaki artış olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlara göre borat, *C. gloeosporioides*'in neden olduğu mango meyvelerinin derim sonrası hastalığının kontrolünde, sentetik fungusitlere potansiyel bir alternatif olarak önerilmiştir.

McKay ve ark. (2012), DMI-triazole sınıfı fungusitlerden propiconazole'ün turunçgil ekşi çürüklük (*G. citri-aurantii*) ve yeşil küf (*P. digitatum*) hastalıklarına karşı etkilerini belirlemek için yürüttükleri çalışmada; fungusitin uygulama şekli ve oranlarını saptamışlardır. Bu çalışma ile propiconazole uygulamalarının, inokulasyondan sonra limon için 8'den 24 saate veya altıntop için 18'den 42 saate uzatıldığında çürüme oranının arttığını belirtmişlerdir. Fungisit EC₅₀ oranları, 64-512 $\mu\text{g/ml}$ arasında olduğu ve ekşi çürüklük patojeninin inokulum konsantrasyonuna ve turunçgil meyvesinin tipine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca propiconazole'un turunçgil derim sonrası fungusitleri olan fludioxonil ve azoxystrobin ile karışımlarının, imazalil'e duyarlı veya orta düzeyde dayanıklı izolatlarının neden olduğu yeşil küf ve ekşi çürüklük hastalıklarının oluşumunu azaltmada önemli düzeyde etkili olduğu tespit edilmiştir.

Mochizuki ve ark. (2012), *Colletotrichum gloeosporioides*'in neden olduğu antraknoz için biyolojik kontrol ajanı olarak *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3'ün izolasyonu ve karakterizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. *B. amyloliquefaciens* S13-3, *C. gloeosporioides*'in neden olduğu antraknoz için biyolojik bir kontrol ajanı olarak topraktan izole edilmiştir. Yapay ortamda yapılan biyoanaliz sonucuna göre S13-3, *C. gloeosporioides*'in misel gelişimini bastıracağı gözlenmiştir. Bağda olgunlaşmış üzüm meyvesinde çürümeye neden olan *C. gloeosporioides*'e karşı S13-3'ün biyokontrolü doğrulanmıştır. S13-3 ayrıca, çilekte antraknoza neden *C. gloeosporioides*'in çilek yaprakları üzerindeki hastalık şiddetini azaltmıştır. S13-3'ün bazı kimyasal pestisitlere ve bakırlara karşı tolerans gösterdiği bulgusu, S13-3'ün sahada kimyasal pestisit veya bordo bulamacı muamelesinden önce ve/veya sonra uygulanabileceğini göstermiştir. S13-3, ItuD ve İpa-14 genlerine sahip olup her ikisi de iturin A üretiminde rol oynayan genom ve kültür boyunca transkriplerini ifade etmektedir. S13-3 tarafından üretilen iturin A kültür ortamında tespit edilmiş ve 6 gün sonra ortamdaki yoğunluğu 0.064 olmuştur. Bu nedenle S13-3'ün *C. gloeosporioides*'e karşı antagonistik aktivitesi iturin A üretimine bağlı olduğu öne sürülmüştür. *C. gloeosporioides*'un neden olduğu antraknozda S13-3'ün engelleyici etkisi sayesinde, S13-3'ün sahada kullanılan kimyasal fungisitlerin miktarı azaltma olasılığının ve *C. gloeosporioides* karşı entegre yönetim sistemlerinde daha fazla gelişmeye katkıda bulunacağını beklendiği ifade edilmiştir.

Ren ve ark. (2012), Cecropin A genini expression vektörü olan pPIC9k'ye klonlamış ve methylotrophic maya olan *Pichia pastoris* GS115 içerisinde ekspresyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bu mayanın *Geotrichum citri-aurantii* sporları üzerinde etkili antimikrobiale aktiviteye sahip olduğu thiazolyl blue (MTT) testiyle ortaya konmuştur. Transforme edilmemiş ırk GS115 ve recombinant ırk GS115/CEC arasında turunçgil meyvelerindeki yaralar üzerinde belirgin bir gelişme farkı olmamıştır. Maya transformantları, *G. citri-aurantii* sporlarının çimlenmesini ve çürüme oluşumunu maya ırkı GS115/pPIC göre önemli ölçüde engellemiştir. Bu çalışma mayalarda antifungal peptid ekspresyonunun hasat sonrası hastalıkların kontrolünde yeni bir yaklaşım oluşturabileceğini göstermektedir.

Shi ve ark. (2012), *Colletotrichum gloeosporioides* Penz'in neden olduğu antraknoz, hasat edilmiş mango meyvelerinin en önemli hastalıklarından birisi olduğunu ifade etmişlerdir. Bu çalışma kapsamında *in vitro* koşullarda borun fungal

patojenin spor çimlenmesine etkisi, derim işlemi yapılmış mango meyvelerinde antraknozun kontrolü ve antifungal etki mekanizmasını değerlendirmek için bora maruz bırakıldıklarında sporlarda gözlenen mitokondriyal zararlanma araştırılmıştır. Bor uygulamasıyla, fungal patojenin spor çimlenmesi önemli ölçüde engellenmiş ve mango meyvelerindeki antraknoz etkili bir şekilde kontrol edilmiştir. Ayrıca 20mM konsantrasyonda bor uygulamalarının fungal sporlarda reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini teşvik ettiği görülmüştür. 6 saatlik bor uygulamasından sonra sporlarda, lazer taramalı konfokal ve transmisyon elektron mikroskobu kullanılarak mitokondriyal parçalanma gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre borun antifungal etki mekanizması, *C. gloeosporioides*'teki mitokondriyal parçalanma olarak açıklanmıştır.

Talibi ve ark. (2012), Fas'ın güneyindeki farklı bölgelerden alınan 43 değişik bitki türünün öz suyunu ve öğütülmüş formlarını toplamışlardır ve limonda ekşi çürüklüğe neden olan *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı antifungal etkilerini *in vivo* ve *in vitro* da araştırmışlardır. Sonuçlar göstermiştir ki *Rubus ulmifolius*, *Ceratonia siliqua*, *Cistus monspeliensis* ve *Halimium umbellatum* bitkilerinin tozları, patojenin misel gelişimini tamamen inhibe etmiştir. Ayrıca *Cistus villosus*, *Pistacia atlantica*, *Halimium antiatlanticum*, *Inula viscosa*, *Ighermia pinifolia* ve *Hammada scoparia* bitkilerinin tozları, *G. citri-aurantii*'nin misel gelişimini, % 80'den daha yüksek oranda engelleyerek etkili olmuştur. Bitkilerin öz suları, test edilen bitkilere göre spor çimlenmeleri üzerine farklı etki göstermiştir. En güçlü etkinliği, *H. antiatlanticum* ve *C. villosus* bitkilerinin öz suları göstermiştir. Bu bitkiler sırasıyla 2.5-5 mg/ml'de spor çimlenmesini tamamen engellemiştir. Limonlarda ekşi çürüklüğe karşı *in vitro*'da etkili sonuçların alındığı en aktif bitkiler *in vivo*'da da kullanılmıştır. *H. antiatlanticum* ve *C. villosus* bitkilerinin öz suları mandarin meyvelerinde ekşi çürüklük oranını, % 98.2 düzeyindeki kontrol ile karşılaştırıldığında, sırasıyla % 46.3 ve % 44.4'e kadar düşürmüştür. Bu çalışma turunçgil ekşi çürüklük kontrolünde bitki öz sularının yüksek bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Yu ve ark. (2012), mandarin bahçesinin rizosferinden izole edilen *Bacillus amyloliquefaciens* JBC36 kullanarak derim sonrası satsuma mandarinlerinde yeşil ve mavi küfün biyokontrolünü kontrol etmek amacıyla carnauba balmumu ve parafin bazlı formülasyonları geliştirmişlerdir. JBC36 ırkı (10^8 CFU/ml) yaralı mandarin meyvelerinde, yeşil ve maviküf oluşumunu sırasıyla % 88 ve % 80.2 oranında

engellemiştir. JBC36 veya antagonistik metabolitlerin varlığı *P. digitatum* ve *P. italicum*'un misel gelişimi ve spor çimlenmesini yüksek düzeyde engellemiştir. Antifungal etkinliği belirlemek için, antibiyotiğin 3 çeşidi lipopeotit ailesi olarak tanımlanan (RP-HLC) ve ince katman (TLC) analizleri, surfaktin ve fengisin, iturin A ve yüksek performanslı sıvı RP-HLC ters evresi tarafından izole edilmiştir. Fengisin ayrıca sıvı kromatografi / elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometresi (LC / ESI-MS) ve kütle spektrometresi / kütle spektrometrisi (MS/MS) analizi ile fengisin A C16 olarak tanımlanmıştır. Aynı zaman da antagonistin uçucu organik bileşikleri *P. digitatum* ve *P. italicum*'un misel gelişimini de azaltmıştır. JBC36 10^8 CFU/ml formülasyonu karnauba balmumu bazlı ve parafin yağ bazlı kaplama formülasyonları yeşil küfün oluşumunu sırasıyla % 91 ve % 80.9 oranında azaltmıştır. Genel olarak, antagonist *Rhizobacterium* JBC36, mandarin meyvelerinde derim sonrası mavi ve yeşil küf bozulmalarını önlemede umut verici bir biyokontrol etmeni olmuştur.

Yu ve Lee (2013), *Bacillus amyloliquefaciens* JBC36'ya ışık kalitesinin etkisi ve biyokontrol etkisi amacıyla bu çalışmayı yapmışlardır. Işık, birçok mikroorganizmanın fizyolojik süreçlerini düzenleyen en önemli çevresel sinyallerden biridir. Bununla birlikte, derim sonrası bozulmalarda antagonist bakteri kullanımı ve etkili ışık kontrolünün kalitatif ve kantitatif etkileri olarak çok az çalışma bildirilmiştir. Bu çalışma da, beyaz, kırmızı, yeşil ve mavi ışık etkisi ve foton akış yoğunlukları da 20, 240 ve 360 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ile biyocontrol *B. amyloliquefaciens* JBC36 (JBC36) mandarin meyvelerinde mavi ve yeşil küf için incelenmiş ve umut verici olmuştur. 240 ve 360 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mavi ışık haricinde, genellikle karanlık ışıkta tutulmuş kontroller ile karşılaştırıldığında JCB36 büyümesini teşvik etmiştir. Kırmızı ışık yoğunluğuna bakılmaksızın yükselen hareket gücü ve 240 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ biyofilm oluşumunu önemli ölçüde arttırmıştır. Ayrıca ışık kalitesi ile *Penicillium digitatum*'a karşı antifungal metabolitleri ve antifungal faaliyetlerinin üretimi etkilenmiştir. İlginç bir şekilde, JBC36 ve *P. digitatum*, 240 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ yoğunluğunda kırmızı ve yeşil ışık altında birlikte inkübe edildiğinde antifungal aktivitede önemli ölçüde artış olmuştur. Ayrıca ışık kalitesinin yeşil küf kontrolü ve mandarin meyvelerindeki JBC36 kolonizasyonunda değişiklere neden olduğu gösterilmiştir. Özellikle, mandarin meyvesi ve yeşil küflere karşı biyokontrol etkinliği üzerindeki popülasyon seviyesini kırmızı ışık arttırmıştır. Bu sonuçlar, derim sonrası bozulmanın kontrolü için ışık kalitesinin antagonistik bir bakteri

üzerindeki etkisine dair ilk raporu temsil etmektedir.

Li ve ark. (2013), *Bacillus amyloliquefaciens* 9001'in elma meyvesinde halka çürüklüğünde biyolojik kontrolünü incelemek amacıyla bu çalışmayı yapmışlardır. Elma meyvelerinde en önemli hastalıklarından birisi, *Botryosphaeria dothidea* (Moug. Ex. Fr) Ces. et de Not'nın neden olduğu elma halka çürüklüğü hastalığıdır. Bu çalışmada, *in vivo* ve *in vitro* ortamlarında meyve bahçelerinden toplanan sağlıklı elma meyvelerine elma halka çürüklüğü bulaştırılmış ve ona karşı ırk 9001 izolatının biyokontrol etkinliği değerlendirilmiştir. Bakterin 9001 ırkı petride patates dekstroz agarda *B. dothidea* YL-1' ye antagonistik faaliyetini açıkça göstermiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında fungal patojenin yapay aşılamasından önce 9001 ırkın bakteriyel süspansiyonlarına daldırılan sağlıklı elmalarda hastalık oranında büyük oranda düşüş gerçekleşmiştir. Dahası, ya büyüme döneminde arazi uygulaması ya da enfekteli meyve bahçelerinden alınan elmalara 9001 ırkının bakteriyel süspansiyonlarının kullanımı ile 4 ay oda sıcaklığında saklama süresi içinde hastalık oranında önemli derecede düşüşlerle sonuçlanmıştır. 16S rRNA ve gyrA geninin filogenetik analizinde *B. amyloliquefaciens*'in 9001 ırkı olarak tanımlanmıştır. Bu sonuçlar, *B. amyloliquefaciens* 9001 elma meyvelerinde halka çürüklüğünde biyokontrol ajanı olarak kullanıldığında derim sonrası uzun periyotlarda kayıpları en aza indirmek için yardımcı ve umut verici olabileceğini göstermiştir.

Zheng ve ark. (2013), derim sonrası mangolarda antraknoz patojenine iki antagonistik *Bacillus* ırkı tarafından üretilen uçucuların antimikrobiyal etkilerini belirlemek amacı ile bu çalışmayı yapmışlardır. Mangoda antraknoz patojenine karşı antagonist bakteri olan *Bacillus* spp.'nin 4 ırkı izole edilmiş ve taranmıştır. Bunlar arasında, *Bacillus pumilus* ve *Bacillus thuringiensis* TB09 ve TB72 olarak 16S rDNA dizisi ile tanımlanmıştır. *B. pumilus* ve *B. Thuringiensis*, *in vitro* da sırasıyla antraknoz hastalığının misel gelişimini % 88.87 ve % 80.07, *in vivo* da hastalığı ide % 98.24 ve % 87.06 oranında engellediğini göstermiştir. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) analizine dayanarak, *B. pumilus* ve *B. thuringiensis* tarafından üretilen 11 uçucu bileşik tanımlanmıştır. Bunların arasında etkili 5 bileşiğin, patojeni daha iyi engellediği gösterilmiştir. Seçilmiş iki antagonist bakterinin ve üretilen uçucu bileşiklerin ve yapay karışımların bazılarının, derim sonrası mango meyvesinde antraknoz için umut verici kontrol yöntemleri olabileceği sonucunu göstermiştir.

Chavez-Diaz ve ark. (2014), böğürtlen meyvelerinden elde edilen *Rhizopus*

stolonifer üzerinde biyokontrol potansiyeline sahip antagonistik bakterilerin belirlenmesi konusunda çalışma yapmışlardır. Derim sonrası taşıma sırasında böğürtlen meyveleri fitopatojenik fungusun saldırısına maruz kalmaktadır. Toprak rizosferinden ve yapraklardan elde edilen *Rhizopus stolonifer* izolatları patates dekstroz agar (PDA) içeren petrilere yerleştirilmiştir. Buna ek olarak meyveler de 25 °C'lik nem odalarına bırakılmıştır. Bakteri kolonileri izole edilmiş ve PDA üzerine çizilerek saflaştırılmıştır. *R. Stolonifer*'e karşı bakterilerin antagonistik aktivitesi, PDA'da ikili kültür tekniği ile değerlendirilmiştir. Sideroforların üretimini tespit etmek için, krom azurol S analizi gerçekleştirilmiştir. *R. stolonifer*'in böğürtlen meyveleri üzerindeki enfeksiyon süreci ilk kez bu çalışmada tanımlanmıştır. Bitki ve toprak rizosferinin farklı bölgelerinden 86 bakteri izolatu elde edilmiş ve bunlardan 4'ü pathojene karşı antagonistik etki göstermiştir. Toprakta elde edilen *Bacillus subtilis* izolatu en yüksek etkiyi göstermiştir. Bu çalışmada, böğürtlen meyvelerinden elde edilen *R. stolonifer*'e karşı biyolojik kontrol potansiyeli olan antagonistik bakterilerin izole edilip ve tanımlandığı bu konu ile ilgili ilk rapordur.

Jiang ve ark. (2014), *Bacillus subtilis* kullanarak sofralık üzümde *Aspergillus carbonarius* bulaşmasının engellenmesi amacıyla çalışma yürütmüşlerdir. Okratoksin A, üzümde *Aspergillus carbonarius*'un önemli bir maddesidir, çürümesine neden olur ve insan sağlığı açısından önemli bir tehdit oluşturur. *B. subtilis* CCTCC M 207209; önceden üzümde izole edilmiş ve okratoksin üreten ırk olan *A. carbonarius* CCTCC AF 2011004'ün gelişimini engellemek için kullanılmıştır. Canlı ortamdaki etkisi 3 farklı üzüm çeşidi: Thompson çekirdeksiz, Kyoto ve Red Globe meyvelerinde engelleme etkisi Patates dekstroz agar (PDA) ortamında test edilmiştir. *A. carbonarius* ve *B. subtilis* aynı anda uygulandığında 25 °C ve 30 °C engelleyici etkileri, üzüm meyvelerindeki çürük lekelerine ve PDA'daki koloni boyutuna göre değerlendirilmiştir. *B. subtilis* analizlerde sıvı kültür ile hücresiz ve uçucu ürünler kullanılmıştır. *B. subtilis* sıvı kültürleri ile uygulama yapılan tüm örneklerde, özellikle hücresiz kültür uygulamasına maruz kalanlarda, *A. carbonarius*'un belirgin bir şekilde engellendiği gözlenmiştir. *B. subtilis*'in uçucu ürünleri ile muamele edildiğinde *A. carbonarius*'da engelleme gözlenmemiştir. *B. subtilis* kültürünün aynı fraksiyonu kullanıldığında üzümde Red Globe'da en önemli engelleme görülmüş, bunu Kyoto ve Thompson çekirdeksiz çeşitleri takip etmiştir. *B. subtilis* sıvı kültür süpernatantı kullanıldığında üzümde diğer fungal bulaşmalar için de

önemli engelleme gözlenmiştir. Bu çalışma sofralık üzümdeki OTA üreten *A. carbonarius*'un ve diğer fungusların bulaşıklığını önlemek için *B. subtilis*'in potansiyelini ortaya çıkarmıştır.

Kalai-grami ve ark. (2014), *Phoma tracheiphila* ve *Verticillium albo-atrum*'a karşı antagonistik olduğu varsayılan endofitik bakterilerin izolasyonu ve tanımlaması amacıyla bu çalışmayı yapmışlardır. Bu patojenlere karşı 28 izolatın engelleyici etki sergilediği yapay ortamda gözlenmiştir. İzolatlar hidrolitik aktivitelerine, bitki gelişimini teşvik eden bakteri (PGPB) yeteneklerine, ek olarak lipopeptit biyosentezinden sorumlu olan non-rasomal peptid sentetaz (NRPS) genlerinin varlığına göre taranmıştır. Sonuçlar, bir tek NRPS geni ve en az iki PGPB aktivitesi olan 16 izolat için pozitif olmuştur. *Bacillus velezensis*'e dokuz izolat, *Bacillus methylophilus*'a dört izolat, *Bacillus amyloliquefaciens*'e bir izolat ve *Bacillus mojavensis*'e iki izolat, rDNA dizilemesi ile onaylanmıştır.

Slimene ve ark. (2014), kitinolitik bir izolat olan *Bacillus licheniformis* S213 türünün biyolojik kontrol etmeni olarak, *Phoma medicaginis* enfeksiyonuna karşı uygulamasını gerçekleştirmişlerdir. Tunus topraklarından izole edilen dokuz kitinaz üreten tür arasında, S213 olarak adlandırılan bir izolat, güçlü bir kitinolitik aktivite göstermiştir. S213 türü olan *B. licheniformis*, DNA'sında API 50CH sisteminin 16S ribozomal kısmının dizi analizi olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, kitinolitik aktivitede, süpernatant içeren *P. medicaginis* dahil olmak üzere birkaç fitopatogenik fungusun büyümesini engellemiştir.

Sürmeli (2014), farklı bitki uçucu yağları ve ana bileşenlerinin *in vitro* antifungal etkinliğini turunçgil meyvelerinde sorun olan fungal turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'nin misel, spor çimlenmesi ve çim borusu gelişimi üzerine değme ve buhar etkinlikleri farklı dozlar kullanılarak araştırmıştır. Uçucu yağlar ve anabileşenlerin değme ve buhar etkinliklerine bakıldığında en güçlü fungisidal etkinin kekik türleri (*Origanum syriacum* ve *Thymbra spicata* ve *Thymus serpyllum*) ile aldehit ve fenoller (trans-cinnamaldehyde, carvacrol, ve eugenol) tarafından gösterildiğini, en etkili uçucu yağ olan *O. syriacum* buhar fazında fungusun misel gelişimini, spor çimlenmesini ve çimlenme borucuğunun engellenmesi, 5.0 µl/petri dozunda, en etkili uçucu yağ anabileşeni olan carvacrol ve trans-cinnamaldehyde değme fazında fungusun misel gelişimini, spor çimlenmesini ve çimlenme borucuğunun engellenmesi, 20.0 µl/ml

dozunda tespit etmiştir. Yapılan mikroskopik incelemelerde uçucu yağlar ve anabileşenlerin fungusların hiflerinde ve sporlarında sitoplazmik pıhtılaşma, vakuolleşme, erime ve sitoplazmik boşalma şeklinde gözlenen önemli yapısal deformasyonlara neden olduğu bildirilmiştir.

Yamamoto ve ark. (2014), *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3'ün domateste bakteriyel solgunluk ve külleme hastalığının kontrolü üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla bu çalışmayı yapmışlardır. *B. amyloliquefaciens* S13-3 ırkının tek bir toprak uygulaması ile sistemik kazanılmış dayanıklılığının teşvik edilmesi ve antibiyotiklerin üretim yoluyla, *Ralstonia solanacearum*'un neden olduğu domates bakteriyel solgunluğunu baskılamıştır. Ayrıca toprak uygulaması sistemik kazanılmış dayanıklılığın teşvik edilmesi yoluyla domates külleme hastalığı kontrol altına alınmıştır. S13-3 biyolojik kontrol etmeni toprağa uygulanmasında domateste bakteriyel solgunluk ve külemeye karşı iki fonksiyonlu etki göstererek yenilikçi bir yaklaşım oluşturmuştur.

Wang ve ark (2014a),'nın yaptıkları çalışmada kiraz meyvelerinde derim sonrası AR156 kodlu *Bacillus cereus*'un mavi küf hastalığına neden olan *Penicillium expansum*'a karşı biyokontrol etkisi araştırılmıştır. Sonuçlara göre AR156 kodlu *B. cereus*'un hastalığın gelişimini önemli ölçüde azalttığı ve tedavi ettiği görülmüştür. Uygulama meyve içindeki kitinaz ve β -1, 3-glukaz aktivitesini önemli derece arttırmıştır. *B. cereus* AR156 *P. expansum* sporlarının plazma membran bütünlüğünü bozmuş ve yapay ortamdaki patojen misellerinde şeker ve protein eksikliğine neden olmuştur. Sonuç olarak, *B. cereus* AR156'nın kiraz meyvesindeki mavi küf çürümesini kontrol etmedeki etkinliği, patojene fungitoksik özellik göstermesi ve meyvede savunma ile ilişkili enzimlerin indüksiyonu ile doğrudan ilişkili olabileceği bildirilmiştir.

Wang ve ark (2014b), tarafından *Colletotrichum acutatum*'un *Bacillus cereus* AR156 ile uyarılmış dayanıklılığının yenidoğru meyvelerinde savunma yanıtlarının hazırlanması ile ilişkisini araştırmak amacıyla bu çalışma yapılmıştır. Derim sonrası yeni dünya meyvesinde antraknoza neden olan *C. acutatum* için biyolojik kontrol ajanı *B. cereus*'un mekanizması ve etkinliği incelenmiştir. *B. cereus* AR156 uygulanmış meyve ile uygulama yapılmayan meyve karşılaştırıldığında hastalık oranının düştüğü ve lezyon çaplarının küçüldüğü sonucuna varılmıştır. Uygulama kitinaz, β -1, 3-glukanaz, fenilalanin amonyak-liyaz, peroksidaz ve polifenoloksidaz dahil olmak üzere savunma ile ilişkili enzimlerin aktivitelerini arttırmış ve H₂O₂'nin birikmesini teşvik etmiştir.

Pretorius ve ark. (2015),’nın bu çalışması derim sonrası hastalıklar için *Bacillus amyloliquefaciens* tarafından antifungal lipopeptitlerin üretiminin belirlenmesi amacı ile yapılmıştır. Gıda güvenliğini sürdürmek, giderek artan nüfusta küresel bir sorun haline gelmiştir. Derim sonrası depolarda bozulan ürünler gıda güvenliği açısından önemli bir tehdit faktörü oluşturmaktadır. Derim sonrası bozulmalarda başlıca sentetik kimyasalların kullanımını ele alınmıştır. *Bacillus*’un lipopeptitleri, antifungal lipopeptit homolog etkinliği sergileyen, çevresel olarak sorun oluşturmayan özellikte olduğundan özellikle fitopatogenlere karşı önerilebilir. Bu çalışmada derim sonrası genel ve fungal fitopatogenlerine karşı *Bacillus*’un biyokontrolü için özel lipopeptit ürettiği belirlenmiştir. *B. amyloliquefaciens* DSM 23117’ nin tarama yoluyla *Bacillus* adayları arasından, üstün potansiyelli lipopeptid üretimi, antifungal lipopeptid konsantrasyonu, ürün (verim) ve üretkenlik gibi 4 şartı sağlayan bir organizma olarak kararlaştırılmıştır. Bu *Bacillus* türlerinden, *B. amyloliquefaciens*’in lipopeptitlerinin etkinliğinin *Botrytis cinerea*’ya karşı uygun olduğu belirlenmiştir. Sonra ki süreçte *B. amyloliquefaciens* kültürlerinde optimal lipopeptid üretimini belirleyen temel parametrelerde nitrat ve oksijen bulunmuş ve bu süreç koşullarında konsantrasyon ve lipopeptid oranındaki değişiklik önemli olmuştur. Bu çalışma *Bacillus* lipopeptit üretiminin maksimizasyonu ve optimum etkinlik için antifungal oranlarının manipülasyonu için temel parametreleri vurgulamakta ve sentetik kimyasallara çevre dostu bir alternatif olarak antifungal lipopeptitlerin üretim optimizasyonuna yönelik işlemlerin gelişimi üzerine bilgi vermektedir.

Zhang ve ark. (2015), Çin’de Hünnap meyvesinde önemli meyve patojenlerine karşı yüksek oranda baskılayan iki *Bacillus amyloliquefaciens* türünün tanımlanması amacıyla bu çalışmayı yapmışlardır. Çin hünnapından izole edilmiş iki bakteri türünün (ZJ01 ve ZJ02), hünnap meyvesinde 3 temel patojen olan *Phoma destructiva*, *Alternaria alternata* ve *Fusicoccum spp.*’ne karşı antifungal aktiviteleri ve morfolojik mekanizmaları test edilmiştir. Fizyolojik karaktere ve 16S rDNA gen dizilerine dayanarak her iki tür de *B. amyloliquefaciens* olarak tanımlanmıştır. Bu üç önemli patojenik fungusun sporları ile inokulasyonundan önce, delme yoluyla oluşturulan yaralara ZJ01 ve ZJ02’ nin fermantasyon sıvısı püskürtülen hünnap meyvelerinde hastalığın ortaya çıkma oranı % 10 ve % 66.7 olmuştur. Bu sonuçlar, ZJ01 ırkının, Çin hünnap meyve hastalıkları için potansiyel bir biyolojik kontrol ajanı olabileceğini göstermektedir. Antagonistik bakteriler, bu zamana kadar gözlenen hastalıklara sebep

olan etmenlerin fungal türlerde hiflerinin değişimine neden olmuştur.

Sayın ve ark (2016) borik asit ve disodium octaborate tetrahydrate gibi bor bileşikleri içeren biyofilmlerin farklı bakterilere (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aeromonas hydrophila* ATCC 19570, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Brucella melitensis* Rev1 ve tarla izolatları *Vibrio anguillarum*, *Aeromonas hydrophila*, *Yersinia ruckeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Lactococcus garvieae*, ve *Brucella abortus*) karşı antibakteriyel etkinliğini araştırdıkları çalışmada minimum engelleme konsantrasyonunun 0.385 ve 0.644 mg/ml olduğunu bildirmişlerdir.

Mohammadi ve ark. (2017) 10 adet bakteri izolatının (4 *Bacillus subtilis*, 2 *Bacillus pumilus*, 2 *Bacillus cereus*, 1 *Bacillus megaterium*, ve 1 *Agrobacterium radiobacter*) turunçgillerde yeşil küf etmeni *Penicillium digitatum*'a karşı antagonistik özelliklerini *in vitro* koşullarda test etmişlerdir. Bakterilerin sıvı kültürde patojenik fungusun misel gelişim, spor çimlenmesi ve spor üretimine etkileri de gözlenmiştir. *in vitro* antagonistik test ve enzim aktivitesi sonuçlarına göre en ümitvar bakteriler *B. subtilis* ve *A. radiobacter* olmuştur. Bakteriler limon meyvesinde hastalığın baskılanması yönünden de test edilmişlerdir. Bu bakteriler aynı zamanda limon meyvesinde belirgin antifungal aktivite göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları *B. subtilis* ve *A. radiobacter*'in patojene karşı antifungal etkisinin yüksek olduğunu göstermiştir. Test edilen tüm bakterilerin kitinaz ve ve glukanaaz enzim aktivitesi pozitif olmuştur. Proteaz enzimi için *A. radiobacter* dışında tüm bakteriler için pozitif aktivite göstermiştir. Tüm bakteriler (*A. radiobacter* dışında) fungusun misel gelişimi ve spor çimlenmesini engellemiştir. *B. subtilis*, *B. cereus*, ve *A. radiobacter* sıvı kültürde fungusun spor üretimine engel olmuştur. *B. subtilis* ve *A. radiobacter* limon meyvelerinde hastalık şiddetini belirgin derecede azaltmıştır. Sonuçlar, bu izolatların *P. digitatum*'un neden olduğu turunçgillerde derim sonrası çürümelerin mücadelesinde yeni biyokontrol etmenleri olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Gür ve Kurt (2017), turunçgilde derim sonrası ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı bor ürünlerinin antifungal etkileri araştırılmıştır. *In vitro* çalışmalarında % 10 luk Etidot-67'nin 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ve 2.0 µl konsantrasyonlarında misel gelişimi ve arthrokonidi çimlenmesinin etkileri incelenmiştir. Sonuçta, konsantrasyon arttıkça misel gelişimi ve arthrokonidi çimlenmesinde doğrusal bir azalma gözlenmiştir. Misel gelişimi ve arthrokonidi çimlenmesine sırasıyla, en yüksek konsantrasyonda % 96,6

ve % 85,5 oranında etki belirlenmiştir. Borikasit (% 0,3), Boraks (% 0,6), Borikasit (% 0,3) + Boraks (% 0,6) konsantrasyonunun misel gelişimi ve arthrononidi çimlenmesine antifungal etkisi araştırılmıştır. Misel gelişimi ve arthrononidi çimlenmesine en yüksek etki sırasıyla % 95 ve % 92,7 oranında boraksta kaydedilmiştir. Bor ürünlerinin yarı *in vivo* da ekşi çürüklük hastalığına etkisi incelendiğinde, en yüksek etki % 97,8 ile borik asit + boraks (30+60g) karışımı ile etidot-67'nin 45g dozunda saptanmıştır. Uygulama yapılan meyvelerde usare miktarı, suda çözünebilir kuru madde (SÇKM) miktarı, titre edilebilir asitlik ve pH değerleri gibi kalite özellikleri en yüksek borik asit + boraks karışımında tespit edilmiştir.

Kurt ve ark (2018)'nin yaptıkları çalışmada, *G. citri-aurantii*'nin turunçgil meyvelerinde neden olduğu ekşi çürüklük hastalığının mücadelesinde, farklı bor ürünlerinin ve kombinasyonlarının depo koşullarında etkisi araştırılmıştır. Hatay Antakya'da faaliyet gösteren özel bir işletmenin paketleme tesislerinde seçilmiş olan Okitsu mandarin meyveleri, bor ürünlerinin tekli ve bakteri ile birlikte hazırlanmış olan süspansiyonlarında daldırma uygulama ile muamele edilmiştir. Kontrol olarak kullanılan meyveler ise sadece saf su içerisine daldırılmıştır. Uygulamadan çıkarılan mandarin meyveleri, temiz bir yerde bir süre bekletildikten sonra standart depo koşullarının olduğu paketleme tesisinde uygun bir alanda yaklaşık olarak 21 gün boyunca bekletilmiştir. Depo sıcaklıkları 18-22 °C arasında ve % 85 nem oranına sahip olan ortamda haftalık gözlem ve kontrol yapılarak gelişmeler yerinde izlenmiştir. Böylece her bir uygulama ve tekrarlardaki hastalık oranları hesaplanmış ve kaydedilmiştir. Buna göre kontrol uygulamalarında % 48,3 hastalık oranı kaydedilirken bunu % 21,9 ile Etidot-67 izlemiştir. Uygulamaların etkisi değerlendirildiğinde; en yüksek etki düzeyini % 75,6 ile Etidot-67+K uygulaması gösterirken, bunu % 66,1 ile Borik asit + boraks + K ve % 60,9 ile borik asit + boraks uygulamaları takip etmiştir. En düşük etki, % 54,7 ile bakteri uygulaması içermeyen Etidot-67 uygulamasında kaydedilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Meyve

Bu çalışmada deneme materyali olarak, Hatay ili Erzin ilçesinde ticari olarak yetiştiricilik yapılan üretici bahçesinden, ekşi çürüklük hastalığına duyarlı ve derim sonrası ömrü kısa olan Owari Satsuma çeşidi mandarinler kullanılmıştır. Meyveler Eylül ayı içerisinde hasat edilmiş, şekil, renk ve büyüklük bakımından homojen olacak şekilde seçilmiş olup, lekeli, yaralı veya hastalıklı meyveler denemeye alınmamıştır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Hastalık Etmeni

Çalışmanın ana materyalini oluşturan fungal etmeni *Geotrichum citri-aurantii* izolatı MKÜ BAP-8580 projesi kapsamında, Hatay ili, Erzin ilçesindeki mandarin yetiştiriciliği yapılan Turunçgil bahçesinden izole edilmiş olup, tür teşhisleri gerek morfolojik gerekse MALDI-TOF ile moleküler yöntemlerle yapılmıştır. Fungal etmenlerin patojenite testi sağlıklı mandarin meyveleri üzerine inokule edilmek suretiyle yapılmış ve benzer belirtiler elde edilmek suretiyle patojenite düzeyleri teyit edilmiştir. Fungal izolatlar PDA besi yerinde, +4 °C de muhafaza edilerek denemelerde kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Antagonist Bakteri İzolatları

Çalışmalarda kullanılan hastalık etmenine karşı etkinliği belirlenen antagonist bakteri izolatları, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiş olan 1101Y0110 ve 1105Y0104 nolu projeler kapsamında farklı kompostlardan seçici King's B Agar (**KB**) ve genel Trypic Soybean Agar (**TSA**) besi ortamlarına üzerinde izole edilmiş olup, tür teşhisleri gerek morfolojik gerekse MALDI-TOF ile moleküler yöntemlerle yapılmıştır (Çizelge 3.1). Rutin kullanımlar için geliştirilen kültürler petri kaplarında 5 °C'de saklanmıştır. Bakteri

kültürleri uzun süreli saklamalar için % 40'lık gliserol içerisinde –20 °C veya –80 °C'de korunmuştur.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan antagonist bakteriyel izolatlar

İzolat no	Tür ismi
G1B:2:5	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>
G1B:3:6	<i>Bacillus cereus</i>
G2B:0:4	<i>Bacillus thuringiensis</i>
G2B:2:5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
G2B:3:4	<i>Bacillus subtilis</i>
G2B:3:7	<i>Bacillus atrophaeus</i>
G2B:5:4	<i>Bacillus pumilus</i>
G3B:3:5	<i>Bacillus subtilis</i>
G4B:0:4	<i>Bacillus pumilus</i>
G5B:0:5	<i>Bacillus pumilus</i>
G5B:1:3	<i>Bacillus subtilis</i>
G5B:3:5	<i>Bacillus pumilus</i>
K1B:4:8:1	<i>Bacillus cereus</i>
K3B:1:5:1	<i>Bacillus pumilus</i>
K3B:4:8:1	<i>Bacillus subtilis</i>
K5B:0:5:1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
K5B:1:5:1	<i>Bacillus subtilis</i>
K5B:3:8:2	<i>Virgibacillus-pantothenicus</i>
K5B:4:7:2	<i>Bacillus cereus</i>

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamları

Çalışmada kullanılan besi ortamları kullanılmadan önce 121 °C'de 15 dk. otoklav edilmiştir. Antagonist bakteriyel etmenlerin izolasyonu, tanısı, etkinlikleri ve etki mekanizmalarının belirlendiği çalışmalarda kullanılan King's B Agar (**KB**), Luria Bertani Agar (**LB**), Nutrient Agar (**NA**), Trypic Soybean Agar (**TSA**) ile Patates Dekstroz Agar

(PDA) gibi besi yerlerin hazır ticari olarak (Merck, Darmstad, Germany) satın alınmak suretiyle çalışmalarda kullanılmıştır (besi yerlerinin içerikleri Ek-1 de verilmiştir).

3.1.5. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Denemede kullanılan kimyasallardan borik asit ve boraks dekahidrat Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü (BOREN) ve ETİ Maden İşletmesinden sağlanmıştır. Bu kimyasal maddelere ait özellikler Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan bor ürünlerinin teknik özellikleri (Boren, 2014)

İsim	Formulasyon	İçerik	Birim	Değer (min.)	pH Değeri
Borik asit	H ₃ BO ₃	B ₂ O ₃	%	56.25	2.61
		Safiyet	%	99.90	
Boraks	Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O	B ₂ O ₃	%	36.50	9.82
		Safiyet	%	99.90	

3.2. Yöntem

3.2.1. Antagonist Bakteri İzolatları ve Bor Ürünleri İle Yapılan *in vitro* Çalışmalar

3.2.1.1. Antagonist Bakteri İzolatlarının *G. citri-aurantii*’nin Miselyal gelişimine Etkisinin Belirlenmesi

Antagonist bakteri izolatların hastalık etmeninin misel gelişimini engelleme potansiyelleri 9 cm çapında PDA içeren petri kaplarında “**ikili kültür testleriyle**” belirlenmiştir (Landa ve ark, 1997). Çizelge 3.1’de verilen antagonist bakteri izolatları, çizgi ekim yöntemi ile petrinin üst noktasından 2 cm gerisine çizilmiştir ve 48 saat süre ile 25 °C de inkübatörler (Velp, FOC225, İspanya) içerisinde gelişmeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda çizimi yapılan bakteri noktasının 4 cm gerisine, PDA ortamında gelişmiş 7 günlük *G. citri-aurantii* kültürünün uç kısımlarından alınan 5 mm çapında miselyal diskler yerleştirilmiştir (Şekil 3.1). Uygulama yapılan tüm petrilere 25 °C de

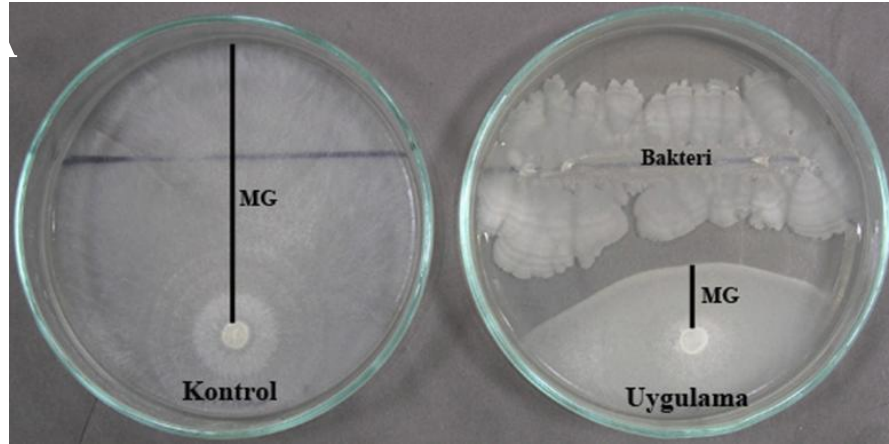
inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol petrilere herhangi bir bakteri izolatu çizilmeden fungus ekimi yapılmış olup, fungusların dışardan kalemle çizilmiş bakterilerin çizildiği yere ulaşması beklenilmiştir.

Kontrol petrilinde hastalık etmeni bakterilerin çizildiği noktaya ulaşması ile birlikte (inokulasyondan 4-7 gün sonra), ikili kültür petrilindekide fungal etmenlerin bakteriye doğru yönelen misel gelişimi (MGu) ölçülmüş ve kontrol petrilindeki misel (MGk) gelişmeye göre engelleme oranlarının % si hesaplanmıştır (Ahmed ve ark. 1999).

$$\% \text{Engelleme} = ((\text{MGk} - \text{MGu}) / \text{MGk}) * 100$$

Her bakteri-fungus kombinasyonu için misel gelişim ölçümleri 3 farklı petri kabında yapılmıştır. Denemeler 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

İkili kültür testleri sonucu bakteri izolatlarının test edildiği fungal etmenin misel gelişimlerini engelleme oranları; (-) hiç engelleyemeyenler, (+) % 0.5-24.9 zayıf düzeyinde engelleyenler; (++) % 25.0-49.9 orta düzeyinde engelleyenler ve (+++) % 50.0> güçlü düzeyde engelleyen izolatlar olmak üzere 4 grup altında incelenmiştir (Dalal ve Kulkarni, 2013).



Şekil 3.1. İkili kültür testi ile aday antagonist bakteri izolatının fungal etmenin misel gelişimi üzerine olan etkinliği belirlenmiştir. (A) Kontrol petrisindeki misel gelişimi (MG), (B) antagonist bakteri uygulanmış petride misel gelişiminin (MG) engellenmesi

3.2.1.2. Farklı Bor Karışımlarının Antagonist Bakterilere Karşı *in vitro* Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi

Çalışmalarda kullanılan bor bileşenlerinin antagonist bakteri izolatları üzerine olan antibakteriyel etkinliği çalışmalarında kullanılan dozlar daha önceden Gür (2015)

tarafından *G. citri-aurantii*'ye karşı etkinliği belirlenmiş Borik asit+Boraks'ın karışım dozları serisi (0.25+0.5; 0.5+1.0; 1+2; 3.0+6.0 g/L) olup, bu konsantrasyonları içeren 10 ml NA besi yerleri steril petri kaplarına dökülmüştür. Denemelerde kullanılan antagonist bakteriler, NA besi yerinde 25 °C'de 48 saat gelişmeye bırakıldıktan sonra, konsantrasyonları, (spektrofotometri cihazında 620 nm'de 0.12 absorbans değeri) 10⁶ hücre/ml ayarlanmıştır. Hazırlanmış bakteri süspansiyonunda 0.2 ml alınarak farklı konsantrasyonlarda bor karışımı içeren besi ortamı yüzeyine yayıldıktan sonra petriler 25 °C'de 48 saat gelişmeye bırakılmıştır. Bu süre sonunda yüzeyde gelişen bakteri kolonileri sayılarak bor ürünlerinin bakteri gelişimi üzerine olan etkinliği ortaya komuştur. Ayrıca bor bileşenleri içermeyen besi yerleri kontrol olarak kabul edilmiştir. Denemeler, her bir bakteri izolatu konsantrasyon kombinasyonu 3 tekrür olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre kurulmuştur. Her deneme en az 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Uygulamaların % etkinliği aşağıda verilen Abbot formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Engelleme (\%)} = [(K_{BG}-U_{BG})/K_{BG}] \times 100$$

K_{BG} = Kontrol petrilerdeki bakteri gelişim (koloni sayısı)

U_{BG} = Uygulama yapılmış petrilerdeki bakteri gelişim (koloni sayısı)

3.2.2. Antagonist Bakteri İzolatları ve Bor Ürünleri İle Yarı *in vivo* Çalışmalar

3.2.2.1. Antagonist Bakteri İzolatları ile Bakteri+Bor Karışımı Uygulamalarının Hastalığın Engellenmesi Üzerine Etkileri

Antagonist bakterilerin tekli ve bor ürünleri ile kombinasyon halinde uygulamalarının yapay olarak bulaştırılmış mandarin meyvelerinde ekşi çürüklük hastalığının engellenmesi üzerine olan etkileri, yarı *in vivo* koşullarda araştırılmıştır. *In vitro* etkinlik çalışmalarında misel gelişimini engelleyen, aynı zamanda bor ürünlerinden etkilenmeyen etkili antagonist bakteri izolatları arasında *Bacillus subtilis* (G3B:3:5), *Bacillus pumilus* (G4B:0:4), *Bacillus subtilis* (K3B:4:8:1) ve *Bacillus amyloliquefaciens* (K5B:0:5:1) seçilerek yarı *in vivo* koşullarda yapılan meyve denemelerinde kullanılmıştır. Denemede kullanılan Owari Satsuma çeşidi mandarin meyveleri çeşme suyu ile yıkayıp, % 0.1'lik NaOCL çözeltisinde 2 dakika bekletildikten sonra steril saf su ile durulanmıştır. Dezenfekte edilen bu meyveler, kurutma kağıdı üzerine alınarak fan yardımı ile

kurutulmuştur (Liu ve ark.,2009). Meyvelerin ekvatorial bölgesinde, eşit aralıklarla 3 adet olacak şekilde yüzeyden dezenfekte edilmiş bir delici ile üniform şekilde yaklaşık 2 mm derinliğinde ve 5 mm genişliğinde yaralar açılmıştır.

Antagonist bakteri ve bor ürünlerinin “koruyucu etkinliğini” araştırmak için, yaralanmış olan mandarin meyvelerine önce hazırlanmış olan (i) sadece bakteri süspansiyonu (10^6 hücre/ml), (ii) Borik asit: Boraks (0.5g + 1.0 g/L) karışımı, (iii) Borik asit: Boraks (0.5g + 1.0 g/L) karışımı içerisine eklenmiş bakteri süspansiyonu (10^6 hücre/ml) içerisinde 2 dakika bekletilmiştir (Şekil 3.2A). Meyveler laboratuvar koşullarında (22-25 °C) gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün yüzey gerilimini azaltmak amacıyla içine % 1 oranında yayıcı yapıştırıcı eklenmiştir. *Geotrichum citri-aurantii*'nin 10^6 konidi/ml konsantrasyonda hazırlanmış olan arthrokonidi süspansiyonu, önceden açılmış olan yaralanmış noktalara püskürtülerek (Şekil 3.2B) patojen inokulasyonu gerçekleştirilmiştir.

Antagonist bakteri ve bor ürünlerinin “tedavi edici” etkilerini belirlemek için mandarin meyveleri, % 1 oranında yayıcı yapıştırıcı eklenmiş 10^6 konidi/ml konsantrasyonda *G. citri-aurantii* süspansiyonu 2000 ml hacmindeki fungal arthrokonidi süspansiyonuna 1-2 dakika süreyle daldırılarak inokulasyonlar gerçekleştirilmiştir. İnokule edilen mandarin meyveleri, laboratuvar koşullarında (22-25 °C) gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında inokulasyon noktalarına (i) sadece bakteri süspansiyonu (10^6 hücre/ml), (ii) Borik asit: Boraks (0.5g + 1.0 g/L) karışımı içerisine eklenmiş bakteri süspansiyonu (10^6 hücre/ml) püskürtülmüştür. Negatif kontrol olarak sadece steril saf suya daldırılmış ve inokule edilmemiş meyveler, pozitif kontrol olarak ise patojen inokulasyonu yapılmış ve yukarıda belirtilen bileşenlerin uygulanmadığı meyveler kullanılmıştır.

Denemelerde kullanılan tüm meyveler, plastik kasalar içerisinde polietilen torbalara yerleştirilerek 22-25 °C'de ve % 95 nem koşullarında 2 gün süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur (Şekil 3.2C). Daha sonra meyve kasalarındaki torbalar açılarak inkübasyon devam ettirilmiştir. Meyveler, laboratuvar koşullarında 5 gün süre ile bekletildikten sonra uygulama yapılmış meyveler “enfekteli” ve “sağlıklı” olarak sayım işlemi yapılmış ve hastalanan meyvelerde lezyon (ıslak/yumuşama gösteren belirti) çapı ölçülmüştür. Her bir uygulama 3 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 10 meyve olacak şekilde toplam 30 meyve kullanılmıştır. Deneme iki kez tekrarlanmıştır.



Şekil 3.2. Antagonist bakterilerin, bor bileşenleri ile tekli ve komkombinasyon halinde yarı *in vivo* koşullarda yürütülen inokulasyon ve inkübasyon çalışmaları. (A) Yaralanmış meyveler bakteri süspansiyonuna daldırılıp gece boyunca bekletilmesi, (B) meyvelerin hastalık etmeninin spor süspansiyonu ile inokule edilmesi, (C) uygulama yapılmış meyveler kasalar içerisinde üzeri naylonla örtülerek inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.3. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Tüm *in vitro* ve yarı *in vivo* denemeler ise tesadüf parselleri deneme desenine göre, her bir uygulama için 3 tekerrür olacak şekilde kurulmuştur. Farklı uygulamaların yapıldığı petriyelerdeki misel gelişiminin engellenme oranları % oranlarına çevrilmeden ArcSin transformasyonu uygulandıktan sonra SPSS istatistik programı (SPSS Statistics 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve uygulamalar arasındaki farklılık Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile analiz edilmiştir ($P \leq 0.05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Antagonist Bakteri İzolatlarının *G.citri-aurantii*'nin Miselyal Gelişimine Etkisi

Farklı *Bacillus* türlerine ait antagonist bakteri izolatlarının fungal etmen *G. citri aurantii*'nin misel gelişimi üzerine etkisi ikili kültür testleri ile belirlenmiştir (Şekil 4.1). Elde edilen sonuçlar Çizelge 4. 1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Antagonist bakteri izolatının *in vitro* koşullarda fungal hastalık etmeni *G. citri-aurantii*'nin misel gelişimini engelleme (%) potansiyeli^a

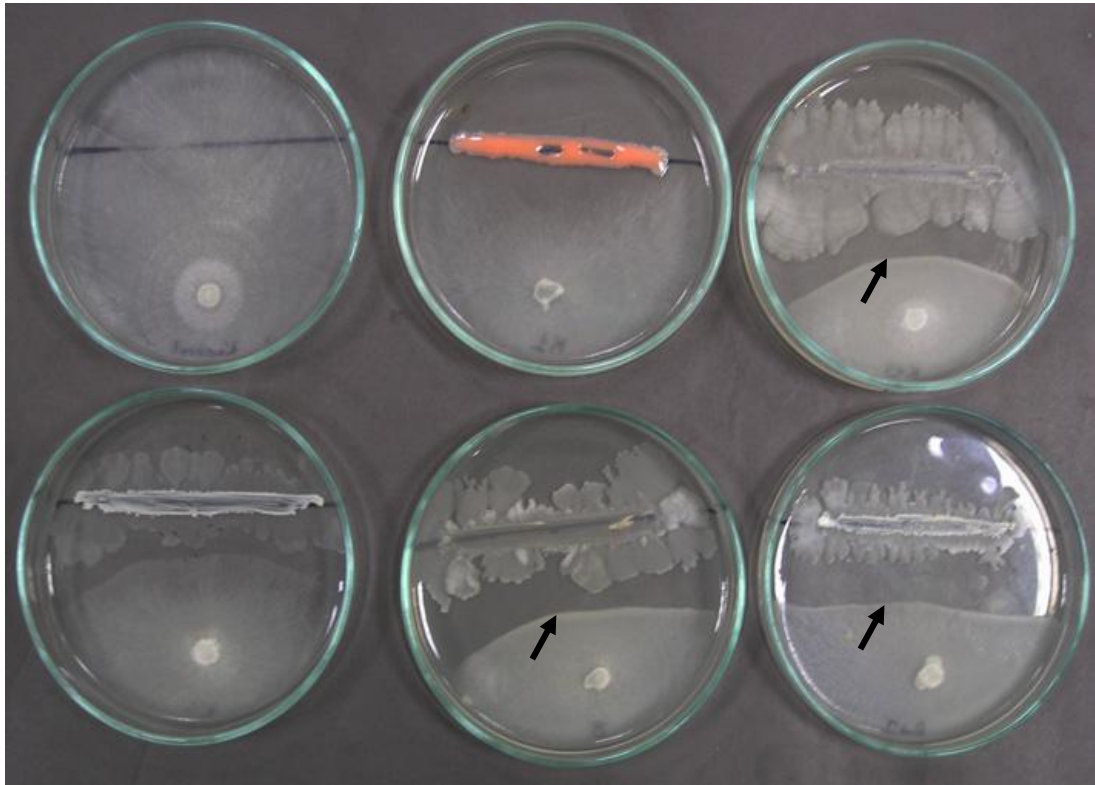
İzolat no	Tür ismi	Misel gelişimi (mm) ^b	Engelleme oranı (%)
G1B:2:5	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	17.33def	55.93
G1B:3:6	<i>Bacillus cereus</i>	13.00g	66.95
G2B:0:4	<i>Bacillus thuringiensis</i>	23.33b	40.67
G2B:2:5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	21.00bc	46.61
G2B:3:4	<i>Bacillus subtilis</i>	14.33fg	63.56
G2B:3:7	<i>Bacillus atrophaeus</i>	19.33cde	50.84
G2B:5:4	<i>Bacillus pumilus</i>	16.00efg	59.32
G3B:3:5	<i>Bacillus subtilis</i>	14.00fg	64.40
G4B:0:4	<i>Bacillus pumilus</i>	13.33g	66.10
G5B:0:5	<i>Bacillus mojavensis</i>	19.67cd	50.00
G5B:1:3	<i>Bacillus subtilis</i>	16.67defg	57.62
G5B:3:5	<i>Bacillus pumilus</i>	16.33defg	58.47
K1B:4:8:1	<i>Bacillus cereus</i>	16.33defg	58.47
K3B:1:5:1	<i>Bacillus pumilus</i>	19.00cde	51.69
K3B:4:8:1	<i>Bacillus subtilis</i>	14.00fg	64.40
K5B:0:5:1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	14.67fg	62.71
K5B:1:5:1	<i>Bacillus subtilis</i>	15.33fg	61.01
K5B:3:8:2	<i>Virgibacillus-pantothenicus</i>	16.00efg	59.32
K5B:4:7:2	<i>Bacillus cereus</i>	21.67bc	44.91
Kontrol	<i>Geotrichum citri-aurantii</i>	39.33a	0.00

^a Bakteri izolatları PDA üzerine patojen inokulasyonundan 48 saat önce çizilmiştir. Bakterilerin bulunduğu petrielerde fungusun bakteriye doğru giden misel gelişimi (mm) ölçülerek kontrol petrielerdeki gelişmeye göre kıyaslanmış ve engelleme oranları (%) hesaplanmıştır.

^b Elde edilen değerler 3 farklı petri kabında ölçümlerin ortalaması olup, deneme farklı zamanlarda 2 kez tekrar edilmiştir. Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P<0.05$).

Çizelge 4.1’de gösterildiği gibi, test edilen antagonist bakterilerin antifungal etkinliği fungal etmenin misel gelişimini engelleme düzeyleri açısından değerlendirildiğinde; 3 izolatın misel gelişimini % 25.0-49.9 gibi değişen oranlarda “**orta düzeyde**” engellediği, geri kalan 16 izolatın ise misel gelişimini >% 50 oranlarda olmak üzere “**güçlü düzeyde**” engellediği belirlenmiştir.

Hastalık etmeninin misel gelişimini güçlü düzeyde engelleyen aynı istatistiksel gruba giren ilk 2 izolat % 66.95 engelleme oranı ile *Bacillus cereus* (G1B:3:6) ve % 66.10 ile *B. pumilus* (G4B:0:4) olmuştur. Bu izolatları sırasıyla % 64.40 engelleme oranı ile *B. subtilis* (G3B:3:5) ve *B. subtilis* (K3B:4:8:1), %63.56 ile *B. subtilis* (G2B:3:4), % 62,71 ile *B. amyloliquefaciens* (K5B:0:5:1) ve % 61.01 ile *B. subtilis* (K5B:1:5:1) takip etmiştir. Bu izolatlar arasında misel gelişimini engellenmesi açısından istatistiksel olarak fark bulunmadığı görülmüştür.



Şekil 4.1. Farklı türlere ait antagonist bakteri izolatlarının ikili kültür testi ile *in vitro* koşullarda fungal etmenlerin misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine olan etkinliğin belirlenmesi.

Elde edilen bulgularla bağlantılı olarak yapılan çalışmada Mohammadi ve ark., (2017) *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. megaterium* ve *Agrobacterium*

radiobacter'in turuncgillerde yeşil küf etmeni *Penicillium digitatum*'a karşı antagonistik özelliklerini *in vitro* koşullarda test ettikleri çalışmada antagonistik etkinliği ve enzim aktivitesi sonuçlarına göre en ümitvar bakterilerin *B. subtilis* ve *A. radiobacter* olduğunu belirlemişlerdir. Bu bakteriler aynı zamanda limon meyvesinde belirgin antifungal etkinlik göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları *B. subtilis* ve *A. radiobacter*'in patojene karşı antifungal etkisinin yüksek olduğunu göstermiştir. *A. radiobacter* dışındaki tüm bakteriler fungusun misel gelişimi ve spor çimlenmesini engellemiştir. *B. subtilis*, *B. cereus* ve *A. radiobacter* sıvı kültürde fungusun spor üretimine engel olmuştur. *B. subtilis* ve *A. radiobacter* uygulanmış limon meyvelerinde hastalık şiddetinin belirgin derecede azaltıldığı bildirilmiştir.

Günümüzde biyopreparatı yapılmış olan önemli bakteri türlerinin *Agrobacterium*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine bağlı olduğu bilinmektedir (Fravel, 2005). Antagonist karakterli farklı *Bacillus* türleri arasında *B. subtilis* türünün, % 6'sının farklı kimyasal özellikle antibiyotik maddeleri sentezleyebilme özelliğine sahip olmasından dolayı üzerinde biyolojik mücadele çalışmalarında en fazla çalışılan bakteri türü olduğu bildirilmiştir (Stein, 2005). *Bacillus* spp. (özellikle *Bacillus subtilis*) farklı moleküler yapıya sahip antimikrobiyal bileşikler üretmeleri, üretilen bileşiklere karşı patojenlerin kolayca dayanıklılık geliştirememesi, olumsuz çevre koşullarına karşı dayanıklı endospor oluşturmaları gibi üstün biyolojik özellikten dolayı biyopestisitlerin üretilmesinde en uygun mikrobiyal türler olduğu bildirilmiştir.

4.2. Bor Ürünlerinin Antagonist Bakterilere Karşı *in vitro* Antibakteriyel Etkinliklerinin Belirlenmesi

In vitro etkinlik çalışmalarında bakterilerle birlikte kullanılma olanaklarının araştırılması kapsamında, Borik asit + Boraks karışımının 4 farklı konsantrasyonlarının (0.25+0.5; 0.5+1.0; 1.0+2.0; 3.0+6.0 g/L) bakterilerin gelişimi üzerine olan antibakteriyel etkinlikleri NA besi yeri üzerinde belirlenmiştir. Farklı bor karışım konsantrasyonları içeren besiyerinde gelişen antagonist bakteri kolonilerinin sayıları değerlendirildiğinde kullanılan dozlar arasında sadece 2 konsantrasyon (0.25+0.5 ve 0.5+1 g/L) bakteri gelişimini engellemezken (Çizelge 4.2), diğer kullanılan konsantrasyonu bakteri gelişimini engellendiği belirlenmiştir (data verilmemiştir).

Kullanılan dozlar arasında 0.25+0.5 g/L konsantrasyonunda en fazla gelişme gösteren antagonist bakteri izolatları sırasıyla *Bacillus thuringiensis* (G2B:0:4), *B. subtilis* (K3B:4:8:1), *B. subtilis* (G3B:3:5), *B. amyloliquefaciens* (K5B:0:5:1), *B. pumilus* (G5B:3:5), *B. subtilis* (K5B:1:5:1) ve *B. pumilus* (G4B:0:4) olmuştur. Bu dozda en az gelişen izolatlar ise sırasıyla *B. atrophaeus* (G2B:3:7), *B. subtilis* (G5B:1:3), *B. pumilus* (K3B:1:5:1) ve *B. cereus* (K1B:4:8:1) olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Borik asit+boraks karışımının farklı konsantrasyonlarının antagonist bakteri izolatlarının canlılığı üzerine etkileri

İzolat no	Tür ismi	Uygulamalar ve Gelişen Bakteri Koloni Sayıları ^a		
		Kontrol	0.25+0.5 g/L	0.5+1.0 g/L
G1B:2:5	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	203.33deA	170.00cdA	147.00cA
G1B:3:6	<i>Bacillus cereus</i>	120.00bcC	81.00abB	0.00aA
G2B:0:4	<i>Bacillus thuringiensis</i>	604.33gA	515.00hA	482.33fA
G2B:2:5	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	86.67abcA	62.00abA	55.00abA
G2B:3:4	<i>Bacillus subtilis</i>	147.00cdA	130.67bcA	120.00bcA
G2B:3:7	<i>Bacillus atrophaeus</i>	150.33cdB	20.00aA	4.67aA
G2B:5:4	<i>Bacillus pumilus</i>	78.33abcB	46.33abA	32.33aA
G3B:3:5	<i>Bacillus subtilis</i>	320.00fA	279.00efgA	258.00deA
G4B:0:4	<i>Bacillus pumilus</i>	261.67efA	237.33defA	224.33dA
G5B:0:5	<i>Bacillus mojavensis</i>	305.00fC	210.33cdefB	63.67abA
G5B:1:3	<i>Bacillus subtilis</i>	26.00aA	23.67aA	15.00aA
G5B:3:5	<i>Bacillus pumilus</i>	604.33gA	515.00hA	482.33fA
K1B:4:8:1	<i>Bacillus cereus</i>	283.33fC	41.67aB	9.33aA
K3B:1:5:1	<i>Bacillus pumilus</i>	54.00abA	42.33aA	16.67aA
K3B:4:8:1	<i>Bacillus subtilis</i>	335.67fA	334.33gA	317.67eA
K5B:0:5:1	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	312.00fB	293.33fgAB	242.00deA
K5B:1:5:1	<i>Bacillus subtilis</i>	303.00fB	262.67efgB	2.33aA
K5B:3:8:2	<i>Virgibacillus pantothenicus</i>	127.00bcB	60.00abA	3.33aA
K5B:4:7:2	<i>Bacillus cereus</i>	298.33fB	205.67cdeA	192.33cdA

^a Elde edilen değerler 3 farklı petri kabında ölçümlerin ortalaması olup, deneme farklı zamanlarda 2 kez tekrar edilmiştir. Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük harfler ile satır içerisinde yer alan değerlerin yanındaki büyük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P<0.05$).

Bor bileşenlerini 0.5+1.0 g/L konsantrasyonunda ise en fazla gelişme gösteren izolatların sırasıyla *B. thuringiensis* (G2B:0:4), *B. subtilis* (K3B:4:8:1), *B. subtilis* (G3B:3:5), *B. amyloliquefaciens* (K5B:0:5:1) ve *B. pumilus* (G4B:0:4) olduğu gözlenirken, en az gelişen izolatlar ise sırasıyla *B. subtilis* (K5B:1:5:1), *V. pantothenicus* (K5B:3:8:2), *B. atrophaeus* (G2B:3:7), *B. mojavensis* (G5B:0:5), *B. subtilis* (G5B:1:3), *B. pumilus* (K3B:1:5:1) ve *B. pumilus* (G2B:5:4) olmuştur. İzolatlar arasında bu konsantrasyonda *B. cereus* izolatu (G1B:3:6) hiç gelişme göstermemiştir (Çizelge 4.2).

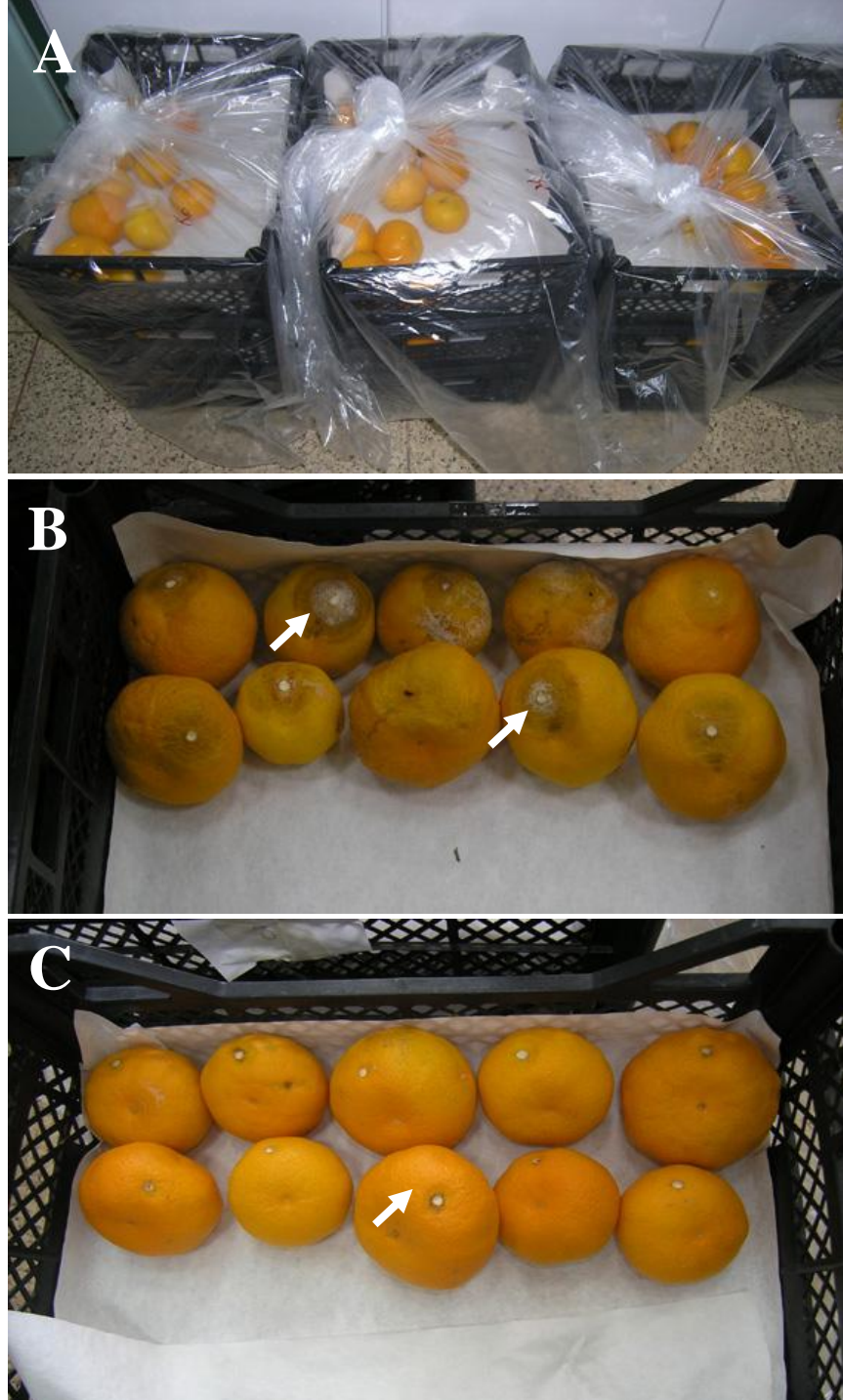
Bor bileşenlerinin kullanıldığı karışımın her 2 konsantrasyonda en fazla sayıda gelişme gösterebilen bakteri izolatlarından *B. thuringiensis* (G2B:0:4), *B. subtilis* (K3B:4:8:1), *B. subtilis* (G3B:3:5) ve *B. pumilus* (G4B:0:4)'un kontroller ile aynı istatistiksel gruba girmek suretiyle bor bileşenlerinden herhangi bir şekilde etkilenmediği belirlenmiştir.

Yapmış olduğumuz literatür araştırmasında antagonist bakteriler ile bor ürünlerinin etkileşimi ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ancak içme sularında bor elementi fazlalığını gidermek için bakterilerin değerlendirildiği çalışmalarda çeşitli topraklardan elde edilen *Bacillus firmus*, *B. boroniphilus* (Ahmed ve ark. 2007a; Verce ve ark. 2012), *B. fusiformis* ve *B. sphaericus* (Ahmed ve ark. 2007b) bakteri türlerinin bor bileşiklerine karşı dayanıklı olduğu bildirilmiştir.

4.3. Antagonist Bakteri İzolatları ile Bakteri+Bor Karışımı Uygulamalarının Hastalığın Engellenmesi Üzerine Etkileri

Yapılan *in vitro* çalışmalarda fungal etmenin misel gelişimini engellenmesinde etkinlik gösteren izolatları arasında aynı zamanda bor bileşenlerinden etkilenmeyen antagonist bakteri izolatları seçilerek yapay inokulasyon yapılmış mandarin meyveleri üzerinde hastalık lezyonlarının gelişimini “koruyucu” ve “tedavi edici” etkinlikleri yarı *in vivo* çalışmalarla belirlenmiştir (Şekil 4.2).

Bu kapsamda izolatlar arasında misel gelişimini engelleyen aynı zamanda bor bileşenlerden etkilenmeyen 4 antagonist bakteri izolatının (2 adet *B. subtilis*, 1'er adet *B. amyloliquefaciens* ve *Bacillus pumilus* izolatu) hastalık çıkışını engellemede “koruyucu” ve “tedavi edici” etkinlikleri belirlenmiştir.



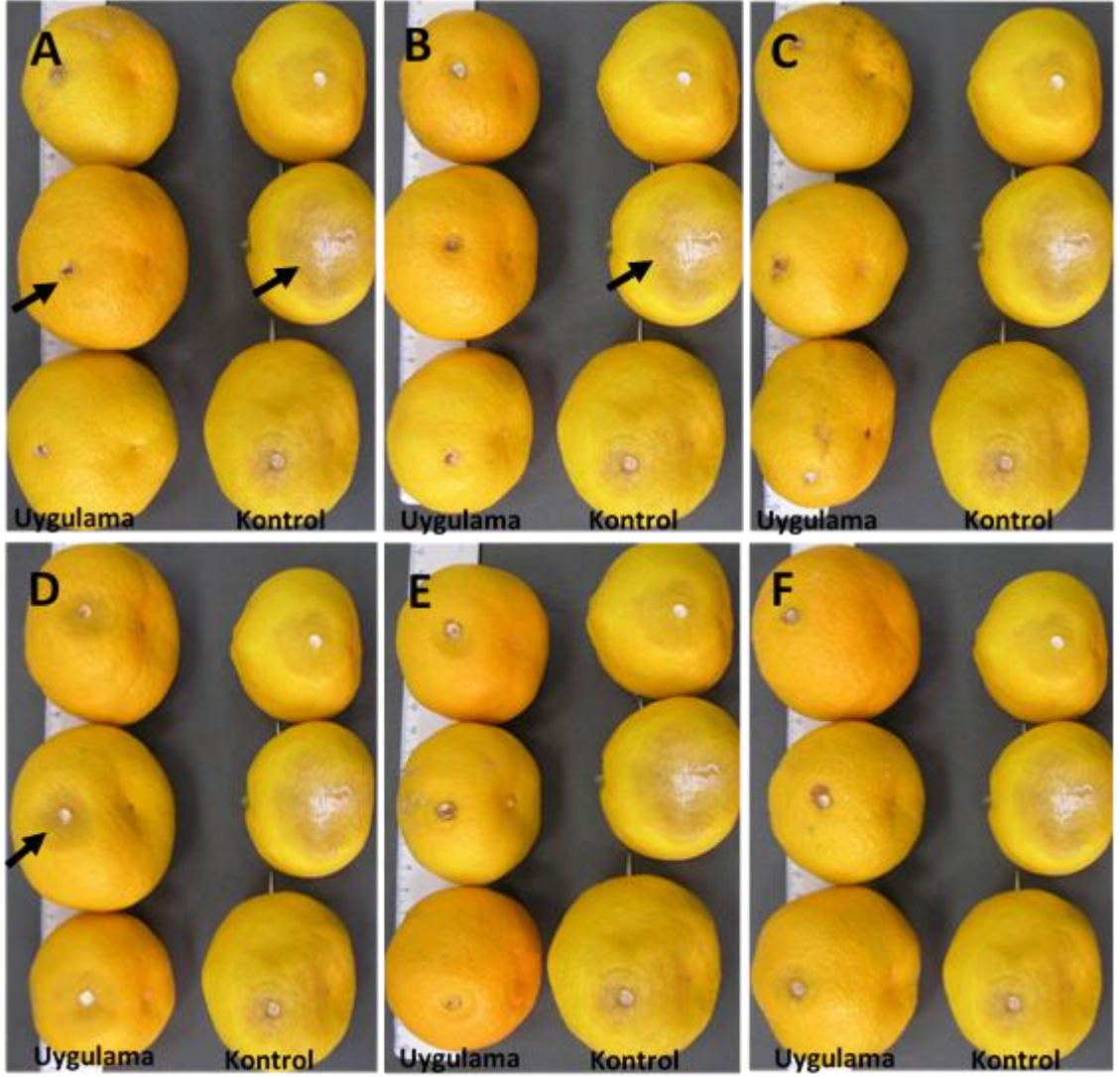
Şekil 4.2. Yarı *in vivo* koşullarda farklı antagonist bakteri ve bor bileşiklerinin ekşi çürüklük hastalığı çıkışı üzerine olan etkinliği. (A) uygulama sonrası kasalar bir süre nemli ortamda bekletilmiş daha sonra (B) kontrol ve (C) uygulama görmüş meyvelerde hastalık lezyonları (ok) değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.3. Yarı *in vivo* koşullarda antagonist bakteri ve bor uygulanan mandarin meyvelerinde *G.citri-aurantii* tarafından oluşturulan hastalık lezyonları (mm) ve lezyon gelişiminin engelleme oranı (%)

Uygulama	Lezyon alanı (mm)	Engelleme oranı (%)
Negatif Kontrol	0.00a	-
Pozitif Kontrol	41.70g	0.00
Koruyucu Etkinlik:		
Bor	5.50b	86.81
<i>Bacillus subtilis</i> G3B:3:5	4.30b	89.69
<i>Bacillus pumilus</i> G4B:0:4	5.33b	87.21
<i>Bacillus subtilis</i> K3B:4:8:1	7.23b	82.65
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K5B:0:5:1	7.53b	81.93
<i>Bacillus subtilis</i> G3B:3:5 + Bor Karışımı	5.50b	86.81
<i>Bacillus pumilus</i> G4B:0:4 + Bor Karışımı	5.13b	87.69
<i>Bacillus subtilis</i> K3B:4:8:1 + Bor Karışımı	4.40b	89.45
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K5B:0:5:1+ Bor Karışımı	6.97b	83.29
Tedavi edici etkinlik		
Bor*	35.50f	14.87
<i>Bacillus subtilis</i> G3B:3:5*	20.67cd	50.44
<i>Bacillus pumilus</i> G4B:0:4*	23.40de	43.88
<i>Bacillus subtilis</i> K3B:4:8:1*	19.10c	54.19
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K5B:0:5:1*	18.80c	54.92
<i>Bacillus subtilis</i> G3B:3:5 + Bor Karışımı*	24.87e	40.37
<i>Bacillus pumilus</i> G4B:0:4 + Bor Karışımı*	21.43cde	48.60
<i>Bacillus subtilis</i> K3B:4:8:1 + Bor Karışımı*	22.23de	44.28
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> K5B:0:5:1+ Bor Karışımı*	22.60de	45.80

* Tedavi edici özelliğini göstermektedir

^a Elde edilen değerler 3 farklı kasadaki ölçümlerin (n=45) ortalaması olup, deneme farklı zamanlarda 2 kez tekrar edilmiştir. Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P<0.05$).



Şekil 4.3. Antagonist bakteri ve bor uygulamalarının mandarin meyvelerinde ekşi çürüklük oluşumuna etkileri. (A) Bor karışımı, (B) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4), (C) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4)+Bor karışımı uygulamaların hastalık çıkışı üzerine “koruyucu” etkisi. (D) Bor karışımı, (E) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4), (F) Bakteri (*Bacillus pumilus* G4B:0:4)+Bor karışımı uygulamaların hastalık çıkışı üzerine “tedavi edici” etkisi. İnokulasyon noktalarında hastalık belirtileri (lezyon alanı, ok) uygulamaların “koruyucu” etkinliğinde “tedavi edici” etkinliğine kıyasla daha düşük seviyelerde gerçekleşmiştir.

Farklı antagonist bakteri ve bor ürünü karışımı (Borik asit + Boraks: 0.5g+1.0 g/L dozunda) uygulanan mandarin meyvelerindeki ekşi çürüklük hastalığı etmeni tarafından oluşturulan lezyon alanı esas alındığında (Çizelge 4.3, Şekil 4.3), uygulamaların “koruyucu” ve “tedavi edici” etkinliği pozitif kontroldeki meyvelerde görülen belirtilere göre farklılıklar göstermiştir.

Bununla birlikte tüm uygulamalar içerisinde sadece bakteri izolatlarının koruyucu olarak uygulandığı meyvelerde hastalık gelişimi % 81.93-89.69 düzeyinde engellenmiştir (Şekil 4.3B). Bakteri uygulamanın koruyucu etkinliğinin tedavi edici olarak uygulandığı meyvelerdeki hastalık gelişimleri (Şekil 4.3E) ile karşılaştırıldığında (% 43.88-54.92 oranlarında engelleme), etkinliğin daha yüksek düzeyde olduğu ($P < 0.5$) gözlenmiştir. Koruyucu olarak uygulanan yalnızca bor karışımı ile bakteri+bor karışımının birlikte olduğu uygulamalarda ekşi çürüklük hastalığı etmeni tarafından oluşturulan lezyon alanı ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.3).

Uygulamalar “tedavi edici” etkinliği açısından değerlendirildiğinde, en yüksek etkinlik bakterilerin bor eklenmemiş tekli uygulandığı (*B. subtilis* K3B:4:8:1, *B. amyloliquefaciens* K5B:0:5:1 ve *B. subtilis* G3B:3:5) meyveler üzerinde gözlenmiştir. Bakteri+bor kombinasyonlarında ise, *B. pumulis* G4B:0:4+Bor ile *B. amyloliquefaciens* K5B:0:5:1+Bor uygulamaları hastalık çıkışının engellenmesinde en yüksek etkinliği göstermiş olmakla birlikte bakterilerin tekli uygulama seviyelerinde gözlenen engelleme değerlerine ulaşamamıştır (Çizelge 4.3). Bakteri ve Bor+Bakteri uygulamaları, sadece bor uygulamasına oranla çok daha etkili olmuştur (Çizelge 4.3). Nitekim bor uygulamasında hastalık gelişimini engelleme oranı % 14.87 seviyesinde kalırken, en etkili uygulama şekli olarak *B. amyloliquefaciens* K5B:0:5:1 izolatı hastalık gelişimini % 54.92 oranında engellediği belirlenmiştir. Aynı bakteriye bor karışımı eklendiğinde etkinlik % 45.80 oranına gerilemiştir (Çizelge 4.3).

Yaptığımız literatür araştırmasında turunçgil meyvelerinde ekşi çürüklük hastalık etmeni ile biyolojik mücadele kapsamında antagonist mayalar ile yapılmış bir çalışma mevcut olup (Liu ve ark., 2010), bakteri izolatlarının kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu kapsamda çalışma bu konuda yapılmış ilk çalışma niteliğindedir.

Liu ve ark. (2010), turunçgillerde ekşi çürüklük hastalığı ile mücadelede bir maya türü olan *Cryptococcus laurentii*'nin 2 farklı izolatının uygulandığı meyvelerde hastalık çıkışının % 55.6 dan % 29.9-29.7 oranına düşürüldüğünü, mayaların hastalık çıkışının engellenmesinde rol oynayan mekanizmaların ise peroxidase ve superoxide dismutase (SOD) enzimlerindeki artıştan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Yine alınan sonuçlara bağlantılı olarak yapılan bir diğer çalışmada (Li ve ark., 2012), patates yumrularında kuru çürüklük hastalığına karşı boraks ve potasyum tetraboratın etkileri araştırılmış ve boraks

ve potasyum tetraboratın önemli bir tedavi edici gösterdiği, ancak denemeye alınan bor elementlerinin patates yumru kuru çürüklük patojeni *Fusarium sulphureum*'a karşı herhangi bir koruyucu etki göstermediği bildirilmiştir. Bununla birlikte bu koruyucu etkinin, biyolojik kontrol etmenlerinin kullanılması gibi diğer derim sonrası uygulamaların entegrasyonu ile telafi edilebileceği ileri sürülmüştür. Wiyono ve ark. (2008)'in yapmış olduğu *Pseudomonas fluorescens* B5 formülasyonu ve antagonistik etkinliğinin artırılmasına yönelik çalışmada, bakteri izolatının antifungal metabolitlerinin üretiminin manganez sülfat, çinko sülfat ve borik asitin 0.05 mM konsantrasyonunda *in vitro* koşullarda artış gösterdiği bildirilmiştir.

Yarı ticari denemelerde mandarin ve portakallarda *Penicillium digitatum* ve *P. italicum* a karşı *Pseudomonas agglomerans* strain CPA-2 ve sodyum bikarbonat (% 3) kombinasyonunun 50 °C 40 saniye süreyle (Torres ve ark., 2007) ve mandarin meyvelerinde *P. digitatum*, *P. italicum* ve *G. citri-aurantii* 'ye karşı *B. amyloliquefaciens* HF-01 ve sodyum bikarbonat (% 2)'in 45 °C de 2 dk. süreyle uygulanmasının tek tek yapılmasından daha etkili olduğunu ortaya koymuşlardır (Hong ve ark., 2014).

Kurt ve ark. (2018)'nin yaptıkları çalışmada, *G. citri-aurantii*'nin turuncğil meyvelerinde neden olduğu ekşi çürüklük hastalığının mücadelesinde, farklı bor ürünlerinin ve bakteri ile kombinasyonlarının depo koşullarında etkisini araştırmak için özel bir işletmenin paketlenme tesislerinde seçilmiş olan Okitsu mandarin meyvelerine uygulama yapılarak 21 gün boyunca bekletilmiştir. Depo sıcaklıkları 18-22 °C arasında ve % 85 nem oranına sahip olan ortamda haftalık gözlem ve kontrol yapılarak gelişmeler yerinde izlenmiştir. Buna göre kontrol uygulamalarında % 48.3 hastalık oranı kaydedilirken bunu % 21.9 ile Etidot-67 izlemiştir. Uygulamaların etkisi değerlendirildiğinde; en yüksek etki düzeyini % 75.6 ile Etidot-67+K uygulaması gösterirken, bunu % 66.1 ile Borik asit + boraks + K ve % 60.9 ile borik asit + boraks uygulamaları takip etmiştir. En düşük etki, % 54.7 ile bakteri uygulaması içermeyen Etidot-67 uygulamasında kaydedilmiştir.

Biyolojik mücadele çalışmalarında sıklıkla izole edilen *Bacillus* spp.'ne ait izolatların 70'den fazla antimikrobiyal etkiye sahip olduğu, metabolit/bileşik/antibiyotik ürettiği ve bu türlerin farklı konukçu bitkilerde yaprak, meyve, çiçek, gövde ve köklerde hastalık oluşturan fungal hastalık etmenlerine karşı en fazla çalışılan ve etkinliği ortaya konmuş türler olduğu görülmüştür (Tekin, 2004; Aktan, 2018). Söz konusu bileşikler

arasında iturin, surfactin, lichenysin ve fengycin gibi antimikrobiyal bileşiklerin *B. subtilis* ve *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans* ve *B. thuringiensis* gibi farklı *Bacillus* türlerine ait izolatlar tarafından üretildiği yapılan önceki çalışmalarla ortaya konulmuştur (Tsuge ve ark., 1999; Kim ve ark., 2004; Huszcza ve Burczyk, 2006).

Bacillus spp. tarafından üretilen bileşiklere karşı patojenlerin kolayca dayanıklılık geliştirememesi, olumsuz çevre koşullarına karşı dayanıklı endospor oluşturmaları gibi üstün biyolojik özellikten dolayı pazarda biyopreparatı yapılmış olan önemli mikroorganizmalar olup, hastalıklara karşı etkili biyopestisitlerin üretilmesinde en uygun adaydır (Fravel, 2005). Günümüzde dünya pazarında yer alan biyolojik preparatların yarısından fazlasını *Bacillus* spp ait biyopreparatlar oluşturur. *Bacillus subtilis* strain GBO3, *B. subtilis* strain QST 713, *B. subtilis* MBI 600, *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* strain FZB24, *B. licheniformis* strain SB3086 ve *B. pumilus* GB 34 nolu izolatlar, biyopreparat pazarında yer almış en önemli bakteri türleridir.

Çalışmada elde edilen izolatlar tür düzeylerinde incelendiğinde endospor üretme kabiliyetinde olan *Bacillus* spp (özellikle *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *B. mojavensis*, *B. amyloliquefaciens*)'in test edilen fungal etmenlerin yanısıra farklı konukçu bitkilerde diğer toprak ve yaprak kökenli hastalık etmenlerine karşı genelde antimikrobiyal bileşiklerin (siderofor, proteaz, amonyak gibi) yanısıra, biyosurfaktan, antibiyotik peptidler, mikolitik enzimlerden chitinaz, β -1,3-glucanase ve β -1,4-glucanase gibi enzimlerden kaynaklı yüksek düzeylerde antagonistik etkinlikler gösterdiği yapılan pek çok çalışmada bildirilmiştir (Huang and Chen, 2004; Araujo ve ark. 2005; Gupta ve ark., 2006; Chung ve ark., 2008; Singh ve ark., 2008; Chaiharn ve ark., 2008; Xiao ve ark., 2009; Senthilkumar ve ark., 2009; Kumar ve ark., 2012; Aktan, 2018).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, satsuma mandarin meyvelerinde derim sonrası büyük kayıplara neden olan ekşi çürüklük hastalığı etmeni *G. citri-aurantii*'nin mücadelesinde antagonist bakterilerin tekli ve bor ürünleri ile kombinasyonlarının etkileri *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırılmıştır. Yaptığımız literatür araştırmasında turunçgil meyvelerinde ekşi çürüklük hastalık etmeni ile biyolojik mücadele kapsamında antagonist mayalar ile yapılmış bir çalışma mevcut olup (Liu ve ark., 2010), bakteri izolatlarının kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu kapsamda çalışma bu konuda yapılmış ilk çalışma niteliğindedir.

Hastalık çıkışının engellendiği yarı *in vivo* çalışmaları için, *in vitro* çalışmalarda gerek *G. citri-aurantii*'nin misel gelişimini yüksek oranda engelleyebilen, gerekse borik asit+boraks karışımında canlılığını koruyabilen bakteriler seçilmiştir. Bu çalışmalar sonunda 2 adet *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens* ve *B. pumilus* türleri olmak üzere toplam 4 bakteri izolatu yarı *in vivo* etkinlik çalışmalarında kullanılmıştır.

Bakteri ve bor ürünleri (Borik asit+Boraks: 0.5g+1.0 g/L) uygulanan mandarin meyvelerinde koruyucu şeklinde yapılan uygulamalarda, hastalık gelişimi % 81.93- 89.69 düzeyinde engellenmiş olup, tespit edilen koruyucu etkinlik aynı uygulamanın tedavi edici etkinliklerine kıyasla istatistiksel olarak daha iyi sonuçlar vermiştir.

Uygulamaların tedavi edici etkinliği değerlendirildiğinde, en yüksek etkinlik bakterilerin tekli kullanılmasıyla (*B. subtilis* K3B:4:8:1, *B. amyloliquefaciens* K5B:0:5:1 ve *B. subtilis* G3B:3:5) sağlanmıştır. Bakteri + bor kombinasyonlarında ise *B. pumilus* G4B:0:4+Bor ve *B. amyloliquefaciens* K5B:0:5:1+Bor uygulamaları en yüksek etkinliği göstermiş olmakla beraber yine de bakterilerin tekli uygulama seviyelerine ulaşamamıştır. Bakteri ve Bor+Bakteri uygulamaları bor uygulamasına oranla daha etkili olmuş, bor uygulamasında fungus gelişimini engelleme oranı % 14.87 seviyesinde kalırken *B. amyloliquefaciens* K5B:0:5:1 % 54.92 oranında engellediği belirlenmiştir. Benzer şekilde aynı istatistiksel düzeyde yer alan *B. subtilis* K3B:4:8:1 izolatu ile yapılan uygulamada hastalık çıkışının % 54.19 oranında engellendiği gözlenmiştir.

Bitki patoloğları ve mikrobiyoloğların bitki hastalıkları ile mücadelede kimyasal pestisitlere alternatif olarak geliştirdikleri en önemli ekolojik yöntemlerden biri de çevre dostu faydalı mikroorganizmaların (biyopestisit) kullanımudur (Ongena ve Jacques, 2008).

Pek çok *Bacillus* spp. antimikrobiyal bileşikler üretmelerinin yanı sıra, olumsuz çevre koşullarına dayanıklı spor oluşturabilme yeteneğine sahip olduğundan uygun teknolojilerle biyolojik preparatlara dönüştürülerek birçok bitki hastalığının kontrolünde kullanılabilir (Emmert ve Hendelsmann, 1999). Bu dönüşümde hem bakteri hücrelerinin doğrudan kullanılarak, hem de bakterilerin üretmiş olduğu antimikrobiyal metabolit (ler) saflaştırılarak sentetik olarak üretilip biopreparat olarak kullanılabilir.

Derim sonrası hastalık etmenlerine karşı az sayıda kullanılan ruhsatlı kimyasalların uzun süre kullanımlarından dolayı fungusitlerin yeni ırklarının direnç kazanmaları ve çevre sağlığına zarar verdikleri bilinmektedir. *In vivo* koşullarda *G. citri-aurantii*'ye karşı etkinliği ortaya konulan *Bacillus* türlerinin biyolojik preparat olarak kullanılmasının yanı sıra, hastalığı engellemede kullandıkları etki mekanizmalarının belirlenmesi üzerine çalışmaların gelecekte sürdürülmesi bu ve benzeri hasat sonu önemli hastalıkların mücadelesi için yeni ufuklar açacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahmed, I., Yokota, A., and Fujiwara, T. 2007a. A novel highly boron tolerant bacterium, *Bacillus boroniphilus* sp. nov., isolated from soil, that requires boron for its growth. **Extremophiles**, 11(2): 217– 224.
- Ahmed, I., Yokota, A., Yamazoe, A., and Fujiwara, T. 2007b. Proposal of *Lysinibacillus boronitolerans* gen. nov. sp. nov., and transfer of *Bacillus fusiformis* to *Lysinibacillus fusiformis* comb. nov., and *Bacillus sphaericus* to *Lysinibacillus sphaericus* comb. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 57(5): 1117–1125.
- Ahmed, A.S., Perez-Sanches, C., Egea, C. and Candela, M.E., 1999. Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot by *Phytophthora capsici* in pepper plants. *Plant Pathology*, 48: 58-65.
- Aktan, Z.C., 2018. Badem ağaçlarında kurumaya neden olan bazı fungal hastalık etmenleri ile mücadelede endofit bakterilerin kullanım olanaklarının araştırılması üzerine bir araştırma. **Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniv. Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma Anabilim Dalı.** 102 sayfa
- Anonymous, 2016a. **FAOSTAT, Word Production data.** <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Erişim Tarihi 02.08.2018)
- Anonymous, 2016b. **Citrus Fruit Fresh and Processed Statistical Bulletin 2016.** <http://www.fao.org/3/a-i8092e.pdf>. 77 sayfa
- Anonim, 2014. Ulusal Turunçgil Konseyi 2014 Dönemi Olağan Genel Kurul Toplantısı, Yönetim Kurulu Faaliyet Raporu. 38 sayfa.
- Anonim, 2016. **Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK), Bitkisel Üretim İstatistikleri,** <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim Tarihi:14.12.2018)
- Araujo, F.F., Henning, A.A. and Hungria, M., 2005. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 21: 1639-1645.
- Arras, G., 1996. mode of action of an isolate of *Candida famata* in biological control of *Penicillium digitatum* in orange fruits. **Postharvest Biology and Technology**, 8: 191-198
- Arrebola, E., Jacobs, R. and Korsten, L., 2009a. Iturin A is the principal inhibitor in the biocontrol activity of *Bacillus amyloliquefaciens* PPCB004 against postharvest fungal pathogens. **Journal of Applied Microbiology**, 108:386-395.
- Arrebola, E., Sivakumar, D., Korsten, L., 2009b. Effect of volatile compounds produced by *Bacillus* strains on postharvest decay in citrus. **Biological Control**, 53(1):122-128.
- Arrebola, E., Sivakumar, D., Bacigalupo, R., and Korsten, L., 2010. Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. **Crop Protection**, 29: 369–377.
- Boren, 2014. www.boren.gov.tr. **Ulusal Bor Araştırma Enstitüsü.**
- Brown, G.E. 1988. Efficacy of guazatine and iminoctadine for control of postharvest decays of Oranges. **Plant Dis.** 72: 906-908.
- Brown, G.E. and Chambers M. 1999. Evaluation of polyhexamethylene biguanide for control of postharvest diseases of Florida citrus. **Proc. Fla. State Hort. Soc.** 112: 118-121.

- Cao, B.H., Li, H., Tian, S.P., and Qin, G.Z., 2012. Boron improves the biocontrol activity of *Cryptococcus laurentii* against *Penicillium expansum* in jujube fruit. **Postharvest Biol. Technol.** 68: 16–21.
- Chaiharn, M., Chunhaleuchanon, S., Kozo, A. and Lumyong, S., 2008. Screening of rhizobacteria for their plant growth promoting activities. **KMITL Sci Tech J.**, 8: 18-23.
- Chalutz, E., Droby, S., Cohen, L.E., Weiss, B., Barkai-Golan, O., Daus, A., Fuchs Y. and C. L. Wilson, 1990. Biological control of *Botrytis*, *Rhizopus*, and *Alternaria* rots of tomato fruit by *Pichia guilliermondii*. **Biological Control of Postharvest Diseases of Fruit and Vegetables Workshop Proceedings**, Shepherdstown, West Virginia, Sept. 12-14, pp: 71-85.
- Chávez-Díaz, I.F., Angoa-Pérez, V., López-Díaz, S., Velázquez-del Valle, M.G. and Hernández-Lauzardo, A.N., 2014. Antagonistic bacteria with potential for biocontrol on *Rhizopus stolonifer* obtained from blackberry fruits. **Fruits**, 69:41–46.
- Chung, S.H., Kong, H.S., Buyer, J.S., Lakshman, D.K., Lydon, J., Kim, S.D. and Roberts, D.P., 2008. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soil borne pathogens of cucumber and pepper. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, 80: 115–123.
- Dalal J., and Kulkarni N., 2013. Antagonistic and plant growth promoting potentials of indigenous endophytic bacteria of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Current Research in Microbiology and Biotechnology**, 1: 62–69.
- Droby, S., Hofstein, R., Wilson, C.L., Wisniewski, M, Fridlander, B., Cohen, L., Weiss, B., Daus, A., Timar, D. and E. Chalutz, 1993. Pilot testing of *Pichia guilliermondii*: a biocontrol agent of postharvest diseases of citrus fruits. **Biological Control**, 3: 47-52.
- Droby, S., Linschinsky, S., Cohen, L., Manulis, S., Mehra, R.K. and Eckert, J.W., 1995. Epiphytic yeasts of citrus tolerant to extreme conditions are effective antagonist green mold decay on Ankara pear. **Journal of Turkish Phytopathology** 27: 27-37.
- Eckert, J.W., and Brown, G.E., 1988. Sour rot. In: Whiteside, J.O., Garnsey, S. M., Timmer, L.W. (Eds.), **Compendium of Citrus Diseases**. APS Press, St Paul MN, pp. 37-38.
- Emmert, E.A.B. and Handelsman, J., 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. **FEMS Microbiol. Lett.** 171: 1–9.
- Essghaier, B., Fardeau, M.L., Cayol, J.L., Hajlaoui, M.R., Boudabous, A., Jijakli, H., and Sadfi-Zouaoui, N., 2008. Biological control of grey mould in strawberry fruits by halophilic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, 106(3):833-846.
- Feng, L., Wu, F., Li, J., Jiang, Y., and Duan, X., 2011. Antifungal activities of polyhexamethylene biguanide and polyhexamethylene guanide against the citrus sour rot pathogen *Geotrichum citri-aurantii* *in vitro* and *in vivo*. **Postharvest Biology and Technology**, 61: 160-164.
- Fravel, D.R., 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, 43: 337-359
- Govender, V., Korsten, L., and Sivakumar D., 2005. Semi-commercial evaluation of *Bacillus licheniformis* to control mango postharvest diseases in South Africa. **Postharvest Biology and Technology**, 38: 57–65

- Gupta, C.P., Kumar, B., Dubey, R.C. and Maheshwari, D.K., 2006. Chitinase mediated destructive antagonistic potential of *Pseudomonas aeruginosa* GRC1 against *Sclerotinia sclerotiorum* causing stem rot of peanut. **BioControl**, 51, 821–835.
- Gür, H., 2015. **Turunçgilde Derim Sonrası Ekşi çürüklük Hastalığı Etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'ye Karşı Bor Ürünlerinin Antifungal Etkileri**. M.K.Ü Fen Bilimleri Enst., Yüksek Lisans Tezi, Hatay, 81 s.
- Gür, H. and Kurt, Ş., 2017. Antifungal Effects of Boron Derivatives against *Geotrichum citri-aurantii*, The Causal Agent of Postharvest Citrus Sour Rot. **International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies (ICAFOF)**, 15-17 May, 2017. Nevşehir, p. 1177.
- Hafez, O., and Haggag, K., 2007. Quality improvement and storability of Apple cv. Anna by pre-harvest applications of boric acid and calcium chloride. **Res. J. Agric. Biol. Sci.** 3: 176–183.
- Hanaoka, H., Uruguchi, S., Takano, J., Tanaka, M., and Fujiwara, T., 2014. OsNIP3;1 a rice boric acid channel, regulates boron distribution and is essential for growth under boron-deficient conditions. **Plant J.** 78: 890–902.
- Hao, W., Li, H., Hu, M., Yang, L., and Rizwan-ul-Haq, M., 2010. Integrated control of citrus green and blue mold and sour rot by *Bacillus amyloliquefaciens* in combination with tea saponin. **Postharvest Biology and Technology**, 59:316–323.
- Hong, P., Hao, W., Luo, J., Chen, S., Hu, M. and Zhong, G., 2014. Combination of hot water, *Bacillus amyloliquefaciens* HF-01 and sodium bicarbonate treatments to control postharvest decay of mandarin fruit. **Postharvest Biology and Technology**, 88:96-102.
- Horuz, S. and Kınay, P., 2009. The effect of some new postharvest fungicides and combination of hot water with sodium bicarbonate against *Geotrichum citri-aurantii* on citrus. **ACTA Horticulturae** 877: 1551-1555.
- Huang, C.J. and Chen, C.Y., 2004. Gene cloning and biochemical characterization of chitinase CH from *Bacillus cereus* 28-9. **Annals of Microbiology**, 54: 289-297.
- Huszczka, E. and Burczyk, B., 2006. Surfactin isoforms from *Bacillus coagulans*. **Zeitschrift für Naturforschung C**, 61: 727-733.
- Jamalizadeh, M., Etebarian, H.R., Alizadeh, A., Aminian, H., 2008. Biological control of gray mold on apple fruits by *Bacillus licheniformis* (EN74-1). **Phytoparasitica**, 36: 23-29.
- Jamalizadeh, M., Etebarian, H.R., Aminian, H., and Alizadeh, A., 2011. A review of mechanisms of action of biological control organisms against post-harvest fruit spoilage. **EPP0 Bulletin**, 41:65-71.
- Janisiewicz, W., 2007. Commercial applications and future prospects for the use of biocontrol after harvest. COST Action 924. **Proceedings of the International Congress: Novel Approaches for the Control of Postharvest Diseases and Disorders**, Bologna, Italy, 3-5 May, 2007, pp: 9-18.
- Jiang, C., Shi, J., Liu, Y., and Zhu, C., 2014. Inhibition of *Aspergillus carbonarius* and fungal contamination in table grapes using *Bacillus subtilis*. **Food Control**, 35:41-48
- Kalai-Grami, L., Saidi, S., Bachkouel, S., Slimene, İ. B., Mnari-Hattab, M., Hajlaoui, M. R., and Limam, F., 2014. Isolation and characterization of putative endophytic bacteria antagonistic to *Phoma tracheiphila* and *Verticillium albo-atrum*. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 174:365-375.

- Katz, H., Bercovitz, A., Chalutz, E., Droby, S., Hofstein R. and M. Keren-Tzoor, 1995. Compatibility of ecogens biofungicide Aspire a yeast based preparation, with other commonly used for the control of postharvest decay of citrus. **Phytopathology** 85: 1123.
- Kınay, P., Yıldız, M., Şen, F., Öngen G. ve L. Akdoğan, 2005. Turunçgillerde hasat sonrası *Penicillium* çürüklüklerine karşı maya biyoformülasyonlarının geliştirilmesi ve kullanımı. **TUBITAK TOVAG** 2931 No'lu proje kesin raporu.
- Kınay, P. and M. Yıldız, 2008. The shelflife and effectiveness of granular formulations of *Metschnikowia pulcherrima* and *Pichia guilliermondii* yeast isolates that control postharvest decay of citrus fruit. **Biological Control**, 45: 433–440.
- Kim, P.I., Bai, H., Bai, D., Chae, H., Chung, S., Kim, Y. and Chi, Y.T., 2004. Purification and characterization of a lipopeptide produced by *Bacillus thuringiensis* CMB26. **Journal of Applied Microbiology**, 97, 942-949.
- Kitagawa, H., and Kawada, K., 1984. Effect of sorbic acid and potassium sorbate on the control of sour rot of citrus fruits. **Proc. Fla. State Hortic. Soc.** 97: 133–135.
- Kumar, P., Dubey, R.C. and Maheshwari, D.K., 2012. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. **Microbiol. Res.**, 167, 493–499.
- Kurt, Ş., Soylu, E.M., Uysal, A., Kara, M., and Soylu, S. 2018. Turunçgillerde derim sonrası ekşi çürüklük hastalığı (*Geotrichum citri-aurantii*)'na karşı bor türevlerinin etkileri. **International Erdemli Symposium** 19-21 April, 2018. P. 248.
- Kurtzman, C. P., and S. Droby, 2001. *Metschnikowia fructicola*, a new ascosporic yeast with potential for biocontrol of postharvest fruit rots. **Systematic Applied Microbiology**, 24:395-399.
- Ladaniya M.S., 2008. **Citrus fruit: Biology, technology and evaluation**. San Diego CA. Elsevier Academic Press.
- Li, Y., Yang, Z., Bi, Y., Zhang, J., and Wang, D., 2012. Antifungal effect of borates against *Fusarium sulphureum* on potato tubers and its possible mechanisms of action. **Postharvest Biology and Technology**, 74: 55-61.
- Li, Y., Han, L., Zhang, Y., Fu, X., Chen, X., Zhang, L., Mei, R. and Wang, Q., 2013. Biological control of apple ring rot on fruit by *Bacillus amyloliquefaciens* 9001. **The Plant Pathology Journal**, 29(2):168-173.
- Liu, X., Wang, L.P., Li, Y.C., Li, H.Y., Yu, T., and Zheng, X.D., 2009. Antifungal activity of thyme oil against *Geotrichum citri-aurantii* *in vitro* and *in vivo*. **J. Appl. Microbiology**. 107: 1450–1456.
- Liu, X., Fang, W., Liu, L., Yu, T., Lou, B., and Zheng, X., 2010. Biological control of postharvest sour rot of citrus by two antagonistic yeasts. **Lett. Appl. Microbiol.** 51, 30–35.
- Mercier, J., and Smilanick, J.L., 2005. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*. **Biological Control** 32: 401–407.
- McCornack, A.A., 1970. State of Florida Department of Citrus Florida Citrus Experiment Station, IF AS Lake Alfred. 229-232.
- McKay, A. H., Förster, H., and Adaskaveg, J. E., 2012. Efficacy and application strategies for propiconazole as a new postharvest fungicide for managing sour rot and green mold of citrus fruit. **Plant Dis.** 96: 235-242.
- Mochizuki, M., Yamamoto, S., Aoki, Y. and Suzuki, S., 2012. Isolation and characterisation of *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 as a biological control

- agent for anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Biocontrol Science and Technology**, 22(6): 697-709.
- Mohammadi, P., Tozlu E., Kotan R., and Kotan Ş.M., 2017. Potential of some bacteria for biological control of postharvest citrus green mould caused by *Penicillium digitatum*. **Plant Protect. Sci.**, 53: 134-143.
- Ongena, M. and Jacques, P. 2008. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. **Trends in Microbiology**, 16:115-125.
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F., Kınay, P. 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele. **Türk. Biyo. Müc. Derg.**, 1 (1): 61-78.
- Pretorius, D., Rooyen, J. V. and Clarke, K.G., 2015. Enhanced production of antifungal lipopeptides by *Bacillus amyloliquefaciens* for biocontrol of postharvest disease. **New Biotechnology**, 32(2).
- Pusey, Y. and C. L. Wilson, 1984. Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. **Plant Diseases**, 68: 753.
- Qin, G.Z., Zong, Y.Y., Chen, Q.L., Hua, D.L., and Tian, S.P., 2010. Inhibitory effect of boron against *Botrytis cinerea* on table grapes and its possible mechanisms of action. **Int. J. Food Microbiol.** 138: 145–150.
- Ren, X. , Kong, Q., Wang, H. , Yu, T., Zhou, W., and Zheng, X., 2012. Biocontrol of fungal decay of citrus fruit by *Pichia pastoris* recombinant strains expressing cecropin A. **Food Chemistry**, 131: 796–801.
- Roberts, R.G., 1990. Postharvest biological control of gray mold of apple by *Cryptococcus laurentii*. **Phytopathology**, 80: 526-530.
- Rolshausen, P. E. and Gubler, W. D. 2005. Use of boron for the control of Eutypa dieback of grapevines. **Plant Disease**, 89: 734-738.
- Sadfi, N., Chérif, M., Hajlaoui, M. R., and Boudabbous, A., 2008. Biological control of the potato tubers dry rot caused by *Fusarium roseum* var. *sambucinum* under greenhouse, field and storage conditions using *Bacillus* spp. isolates. **Journal of Phytopathology**, 150: 640-648.
- Sayın, Z., Ucan U.S., and Sakmanoglu., 2016. Antibacterial and antibiofilm effects of boron on different bacteria. **Biol Trace Elem Res.**, 173:241-246.
- See, S. A., Salleh, A. B. Bakar, F. A., Yusof, N. A., Zaman, M. Z. and Heng, L.Y., 2011. Effect of boric acid on the growth and production of β -glucosidase in *Paecilomyces variotii*. **African Journal of Microbiology Research**, 5(17): 2451-2454.
- Senthilkumar, M., Swarnlakshmi, K., Govindasamy, V., Lee, Y.K. and Annapurna, K., 2009. Biocontrol potential of soybean bacterial endophytes against charcoal rot fungus *Rhizoctonia bataticola*. **Curr. Microbiol.**, 58: 288-293.
- Shi, X.Q., Li, B.Q., Qin, G.Z., and Tian, S.P., 2011. Antifungal activity and possible mode of action of borate against *Colletotrichum gloeosporioides* on mango. **Plant Dis.**, 95: 63–69.
- Shi, X., Li, B., Qin, G., and Tian, S., 2012. Mechanism of antifungal action of borate against *Colletotrichum gloeosporioides* related to mitochondrial degradation in spores. **Postharvest Biology and Technology.**, 67: 138–143.
- Singh N., Pandey, P., Dubey, R.C. and Maheshwari D.K., 2008. Biological control of root rot fungus *Macrophomina phaseolina* and growth enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by rhizosphere competent *Bacillus subtilis* BN1. **World J. Microbiol Biotechnol.**, 24: 1669-1679.

- Slimene, I.B., Olfa, T., Gharbi, D., Bacem, M., Schmitter, J.M., Urdaci, M.C, and Limam, F., 2014. Isolation of a chitinolytic *Bacillus licheniformis* S213 strain exerting a biological control against *Phoma medicaginis* infection. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 175(7): 494-506.
- Smilanick, J. L., and Sorenson, D., 2001. Control of postharvest decay of citrus fruit with calcium polysulfide. **Postharvest Biological Technology**, 21: 157-168.
- Smilanick, J. L., Aiyabei, J., Mlikota Gabler, F., Doctor, J., Sorenson, D., and Mackey, B., 2002. Quantification of the toxicity of aqueous chlorine to spores of *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citriaurantii*. **Plant Dis.**, 86: 509-514.
- Smilanick, J.L., Mansour, M.F., Gabler, F.M. and Sorenson, D., 2007. Control of citrus postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides. **Postharvest Biol. Technol.**, 47: 226-238.
- Smilanick, J.L., Mansour, M.F., Gabler, F.M., and Sorenson, D., 2008. Control of citrus postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides. **Postharvest Biology and Technology**, 47: 226–238.
- Snowdon, A.L. 1990. **A Colour Atlas of Post-harvest Diseases and Disorders of Fruit and Vegetables: Vol 1. General introduction and fruits.** London, Wolfe Scientific Ltd., 302 sayfa.
- Stein, T., 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Mol Microbiol.**, 56(4): 845-57.
- Sürmeli, E. 2014. Turunçgil ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'ye karşı bitki uçucu yağ ve ana bileşenlerinin antifungal etkinliğinin belirlenmesi. **Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kamal Üniv. Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma Anabilim Dalı.** 62 sayfa
- Şen, F. 2004. Hasat sonrası sıcak su ve diğer bazı koruyucu uygulamaların Satsuma mandarininin kalite ve dayanım gücüne etkileri. **Doktora Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Ens.**, Bornova, İzmir.
- Talibi, I., Askarne, L., Boubaker, H., Boudyach, E.H., Msanda, F., Saadi, B., and Ben Aoumar, A.A., 2012. Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot. **Crop Protection**, 35: 41-46.
- Tekin, Ş., 2004. Farklı biber ekim alanlarında yetiştirilen bitkilerin rizosferlerinden izole edilen antagonist bakterilerin bazı fungal patojenlerin gelişimi üzerine etkinlikleri üzerine bir araştırma. **Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kamal Üniv. Fen Bilimleri Enst. Bitki Koruma Anabilim Dalı.** 52 sayfa
- Thomidis, T., and Exadaktylou, E., 2010. Effect of boron on the development of brown rot (*Monilinia laxa*) on peaches. **Crop Prot.**, 6: 572–576.
- Torres, R., Nunes, C., García, J.M., Abadias, M., Vinas, I., Manso, T., Olmo, M., and Usall, J., 2007. Application of *Pantoea agglomerans* CPA-2 in combination with heated sodium bicarbonate solutions to control the major postharvest diseases affecting citrus at several Mediterranean locations. **Eur. J. Plant Pathol.**, 118: 73–83.
- Tsuge, K., Ano, T., Hirai, M., Nakamura, Y., and Shoda, M., 1999. The genes *degQ*, *pps*, and *lpa-8* (*sfp*) are responsible for conversion of *Bacillus subtilis* 168 to plipastatin production. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 43: 2183-2192.

- Verce, M.F., Stiles, A.R., Chong, K.C., and Terry, N., 2012. Isolation of an extremely boron-tolerant strain of *Bacillus firmus*. **Canadian Journal of Microbiology**, 58: 811-4.
- Yamamoto, S., Shiraishi, S., Kawagoe, Y., Mochizuki, M., and Suzuki, S., 2014. Impact of *Bacillus amyloliquefaciens* S13-3 on control of bacterial wilt and powdery mildew in tomato. **Society of Chemical Industry**, 71: 722–727.
- Yu, S., Oh, B. and Lee, Y., 2012. Biocontrol of green and blue molds in postharvest satsuma mandarin using *Bacillus amyloliquefaciens* JBC36. **Biocontrol Science and Technology**, 22(10):1181-1197.
- Yu, S., and Lee, Y. H., 2013. Effect of light quality on *Bacillus amyloliquefaciens* JBC36 and its biocontrol efficacy. **Biological Control**, 64:203-210
- Wang, L., Jin, P., Wang, J., Jiang, L., Zhang, S., Gong, H., Liu, H., and Zheng, Y., 2014a. **Postharvest Biology and Technology**, 101: 15-17.
- Wang, X., Wang, L., Wang, J., Jin, P., Liu, H., and Zheng, Y., 2014b. *Bacillus cereus* AR156-Induced resistance to *Colletotrichum acutatum* is associated with priming of defense responses in loquat fruit. **Plos One**, 9(11):e112494.
- Wilson, C. L. and Wisniewski, M.E., 1989. Postharvest biological control of *Penicillium* rots of citrus with antagonistic yeasts and bacteria. **Scientia Horticulture**, 40:105-112.
- Wilson, C. L., Wisniewski, M.E, Biles, C. L., McLaughlin, R.J., Chalutz, E. and Droby, S., 1991. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: alternative to synthetic fungicides. **Crop Protection**, 10: 172-177.
- Winston, J.R., 1935. Reducing decay in citrus fruit with borax. **U. S. Dept. Agr. Tech. Bull.** No. 488, pp. 32.
- Wisniewski, M.E., Biles, C. and Droby, S., 1990. The use of the yeast *Pichia guillieromondii* as a biocontrol agent: characterization of attachment to *Botrytis cinerea*. **Biological Control of Postharvest Diseases of Fruit and Vegetables Workshop Proceedings**, Shepherdstown, West Winginia, Sept. 12-14, pp: 167-169.
- Wiyono, S., Schulz, D.F., and Wolf, G.A., 2008. Improvement of the formulation and antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* B5 through selective additives in the pelleting process. **Biological Control**, 46: 348–357
- Xiao, L., Xie, C.C., Cai, J., Lin, Z.J. and Cheun, Y.H., 2009. Identification and characterization of a chitinase producing *Bacillus* showing significant antifungal activity. **Current Microbiology**, 58: 528.
- Zhang, C.H., Li, Y., Liu, P., and Liu, M.J., 2015. Identification of two *Bacillus amyloliquefaciens* strains with high suppression to the key fruit pathogens of Chinese jujube. **Biocontrol Science and Technology**, 25(5): 573–582.
- Zheng, M., Shi, J., Shi, J., Wang, Q., and Li, Y., 2013. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic *Bacillus* strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. **Biological Control**, 65(2):200-206.

ÖZGEÇMİŞ

Yazar 1990 yılında Osmaniye'nin Kadirli ilçesinde doğdu. İlkokul, Ortaokul ve Lise öğrenimini Kadirli'de tamamladı. 2010 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nü kazandı. Mustafa Kemal Üniversitesi'nden 2014 yılında mezun oldu. Aynı yılın Eylül ayında Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

EK-1 Bakteri ve Fungusların Geliştirilmesinde Kullanılan Besi Yerleri

Nutrient (NA) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:105450)

Pepton	5 g/L
Meat Extract	3 g/L
Agar-Agar	12 g/L

King's MediumB (KB) Agar (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110989)

Peptone from caseinpepton	10 g/L
Peptone from meat	10 g/L
K ₂ HPO ₄ 3H ₂ O	1.5 g/L
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.5 g/L
Glyserol	10 ml/L
Agar-Agar	12 g/L

Luria Bertani (LB) Broth (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110285)

Pepton from casein	10 g/L
Yeast Extract	5 g/L
NaCl	10 g/L

Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:105458)

Pancreatic Digest of Casein	15 g/L
Papaic Digest of Soya Bean	5 g/L
NaCl	5 g/L
Agar-Agar	15 g/L

Patates Dekstroz Agar (PDA) (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110130)

Potato infusion	4 g/L (infusion 200 gr potato)
D(+)-glucose	20 g/l
Agar-Agar	15 g/l