

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**VAN'DA DOMATES ALANLARINDAN İZOLE EDİLEN *Alternaria solani* (Ell.
ve G. Martin) Sor.'NİN BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gökhan BOYNO
DANIŞMAN: Prof. Dr. Semra DEMİR

VAN-2019

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**VAN'DA DOMATES ALANLARINDAN İZOLE EDİLEN *Alternaria solani* (Ell.
ve G. Martin) Sor.'NİN BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Gökhan BOYNO

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2018-7553
No'lu proje olarak desteklenmiştir

VAN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Semra DEMİR danışmanlığında, Gökhan BOYNO tarafından sunulan "Van'da Domates Alanlarından İzole Edilen *Alternaria solani* (Ell. ve G. Martin) Sor.'nin Biyolojik Mücadele Olanaklarının Belirlenmesi" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 25/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Semra DEMİR

İmza: 

Üye : Dr. Öğrt. Ü. M. Hadi AYDIN

İmza: 

Üye : Dr. Öğrt. Ü. Ahmet AKKÖPRÜ

İmza: 

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 01/08/2019 tarih ve 2019/41-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü



TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Gökhan BOYNO

ÖZET

VAN'DA DOMATES ALANLARINDAN İZOLE EDİLEN *Alternaria solani* (Ell. ve G. Martin) Sor.'NİN BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ BELİRLENMESİ

BOYNO, Gökhan
Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semra DEMİR
Ağustos 2019, 88 sayfa

Bu çalışmada, Van'da domates alanlarda sorun oluşturan *Alternaria solani* (Ell. ve G. Martin) Sor. (AS)'ye karşı biyolojik mücadele olanaklarının belirlenmesini amaçlamıştır. Van'ın Gevaş, Edremit ve Erciş ilçelerinde survey kapsamında tespit edilen *A. solani* izolatlarından, bölgeleri temsil etmek üzere 10 izolat seçilmiştir. Seçilen izolatlar patojenite testine tabii tutulup, en virulent patojen olarak EAb 1 izolatı belirlenmiştir. Bu patojen izolata karşı 3 farklı biyolojik kontrol ajanı kullanılmıştır. Bunlar: (I) Arbüsküler mikorizal fungus (AMF) olan *Glomus mosseae* (Gm), (II) bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR) antagonistleri arasından seçilen *Bacillus velezensis* V₄₀K₂ izolatu, (III) *Trichoderma* spp. arasından seçilen *Trichoderma viride* NTC₂ izolatu olarak belirlenmiştir. Seçilen biyokontrol ajanlarının patojen ile oluşturulan tekli, ikili ve üçlü kombinasyonlarının genel olarak hastalık şiddetini baskıladığı, bitki gelişimini arttırdığı saptanmıştır. Tüm kombinasyonlarda toplam klorofil miktarı değişmezken, antagonist mikroorganizmaların tekli kombinasyonlarında toplam fenolik madde miktarının arttığı, antioksidan aktivitesinin ise özellikle Gm muamale grubunda diğer uygulamalar göre önemli derecede arttığı belirlenmiştir. Toplam fosfor miktarı AS ve Gm'nin bulunduğu tüm kombinasyonlarda genel olarak kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Muamale grupları arasında AMF'un kolonizasyon oranı ve toprak spor yoğunluğu açısından istatistiki olarak fark görülmezken, mikorizal bağımlılığın dörtlü kombinasyonda (Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS) oluşmadığı saptanmıştır. Ayrıca bu kombinasyonun hastalık şiddeti ve bitkinin gelişimine de kontrol grubuna göre etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *A. solani*, Arbüsküler mikorizal fungus (AMF), Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR), Biyolojik mücadele, Domates, *Trichoderma*



ABSTRACT

DETERMINATION OF BIOLOGICAL CONTROL POSSIBILITIES OF *Alternaria solani* (Ell. and G. Martin) Sor. ISOLATED FROM TOMATO FIELDS IN VAN

BOYNO, Gökhan
MSc. Thesis, Department of Plant Protection
Supervisor: Prof. Dr. Semra DEMİR
August 2019, 88 pages

In this study, it was aimed to determine the possibilities of biological control against *Alternaria solani* (Ell. and G. Martin) Sor. (AS) which causes problems in tomato areas in Van. Ten isolates were selected from *A. solani* isolates identified in the scope of survey in Gevaş, Edremit and Erciş districts of Van. The selected isolates were subjected to pathogenicity test and EAb 1 isolate was determined as the most virulent pathogen. Three different biological control agents were used against this pathogen isolate. These were identified as (I) *Glomus mosseae* (Gm) selected from arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), (II) *Bacillus velezensis* V₄₀K₂ isolate selected from plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) antagonists and (III) *Trichoderma viride* NTC₂ isolate selected from *Trichoderma* spp. It has been found that the single, double and triple combinations of the selected biocontrol agents with the pathogen generally suppress the disease severity and increase the plant growth. While total chlorophyll content did not change in all combinations, it was determined that total amount of phenolic substances increased in single combinations of antagonist microorganisms and antioxidant activity increased significantly in Gm treatment group compared to other applications. Total phosphorus content was generally increased in all combinations with AS and Gm compared to control group. While no statistically significant difference was observed between the treatment groups in terms of AMF colonization rate and soil spore density, it was found that mycorrhizal dependence did not occur in four combinations (Gm + NTC₂ + V₄₀K₂ + AS). In addition, it was determined that this combination had no effect on disease severity and plant development compared to the control group.

Keywords: *A. solani*, Arbuscular mycorrhizal fungus (AMF), Biological control, Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), Tomato, *Trichoderma*



ÖN SÖZ

Yüksek lisansım boyunca, her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, akademik bakış açısı kazanmamı sağlayan danışmanım Sayın Prof. Dr. Semra DEMİR'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca tez çalışmam boyunca fikirlerinden ve yardımlarından faydalandığım Dr. Öğr. Ü. Emre DEMİNER DURAK ve Dr. Öğr. Ü. Ahmet AKKÖPRÜ'ye teşekkürü borç bilirim. Çalışmamın çeşitli aşamalarında yardımcı olan Necmettin TENİZ, Hasret GÜNEŞ, Hayri ATMACA ile Öğr. Gör. Selma KIPÇAK, Arş. Gör. Tuğba Hasibe GÖKKAYA ve Arş. Gör. Bulut SARGIN'a teşekkür ederim. Ayrıca test bitkisi için tohum tedarik eden Samet GÜMÜŞEL ve Tetra Tohumculuk Tar. Tic. Ltd. Şti.'nin sahibi Mehmet YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitimim boyunca desteklerini hiç esirgemeyen aileme, her daim desteğini ve ilgisini üzerimden eksik etmeyen sevgili eşim, Ezgi BOYNO'ya teşekkür ederim.

Son olarak, yüksek lisans tez çalışmamda maddi olarak destek sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına teşekkürlerimi sunarım.

2019

Gökhan BOYNO



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	7
2.1. <i>A. solani</i> (Ell. ve G. Martin) Sor. Hakkında Genel Bilgiler	7
2.2. <i>A. solani</i> 'ye Karşı Yapılan Biyolojik Mücadele Çalışmaları	9
2.2.1. Fungal biyolojik kontrol ajanları	10
2.2.2. Arbüsküler mikorizal funguslar (AMF).....	12
2.2.3. Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR) antagonistleri	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.1.1. Test bitkisi	17
3.1.2. Test patojenleri	17
3.1.3. Biyolojik kontrol ajanları.....	18
3.1.3.1. PGPR antagonistleri.....	18
3.1.3.2. Fungal biyolojik kontrol ajanları	18
3.1.3.3. AMF izolatı.....	19
3.1.4. Bitki besin solüsyonları	19
3.1.5. Besi ortamları.....	20
3.1.6. Bitki yetiştirme ortamları.....	21
3.1.7. Çalışma ortamları.....	22
3.2. Yöntem.....	23
3.2.1. Survey çalışmaları	23
3.2.2. Hastalıklı veya hastalıklı olduğu şüphelenilen domates yaprak örneklerinin alınması.....	23

	Sayfa
3.2.3. Hastalıklı domates yapraklardan <i>A. solani</i> izolasyonu, <i>A. solani</i> izolatlarının tanımlanması ve muhafazası	26
3.2.4. <i>A. solani</i> izolatlarının patojenite testi	27
3.2.5. Patojen re-izolasyonu.....	29
3.2.6. Etkili <i>Trichoderma</i> spp. belirlenmesi	30
3.2.7. PGPR izolatının belirlenmesi	31
3.2.8. Uygulama gruplarının belirlenmesi	34
3.2.9. Belirlenen biyolojik kontrol ajanlarının <i>A. solani</i> 'ye karşı hastalık şiddeti üzerine etkileri.....	35
3.2.10. Morfolojik parametre ölçümleri	37
3.2.10.1 Bitkinin kök ve gövde uzunluğunun ölçümü (cm)	37
3.2.10.2. Bitkilerde yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenmesi (g).....	37
3.2.10.3. Bitkinin yaprak sayısının (bileşik yaprak sayısı/bitki), yaprak alanının (cm ²) ve sürgün çapının (mm) belirlenmesi	38
3.2.11. Toplam fenolik madde miktarının (%) ve antioksidan aktivitesinin (%) belirlenmesi	39
3.2.12. Fosfor analizi	42
3.2.13. AMF kolonizasyon yoğunluklarının belirlenmesi	44
3.2.13.1. AMF kök kolonizasyon yoğunluğunun belirlenmesi	44
3.2.13.2. Bitkinin rizosfer bölgesinde AMF spor yoğunluğunun belirlenmesi	46
3.2.14. Mikorhizal bağımlılığın belirlenmesi (%)	47
3.3. İstatistiksel Analiz.....	47
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	49
4.1. Hastalığın Tarla Koşullarında Tanımı	49
4.2. <i>A. solani</i> 'nin Elde Edildiği Yerler	50
4.3. Virü lent Patojenin Seçimi	51
4.4. Biyolojik Kontrol Ajanlarının Seçimi.....	54
4.4.1. <i>Trichoderma</i> spp.'nin <i>in vitro</i> 'da seçimi ve tanımlanması	54
4.4.2. PGPR izolatının seçimi.....	57
4.5. Biyolojik Kontrol Ajanlarının Kombinasyon Halinde <i>A. solani</i> EAb 1 İzolatı ile İnfekteli Bitkiye Olan Etkileri	61

	Sayfa
4.5.1. Biyolojik kontrol ajanlarının birlikte kullanımının hastalık şiddeti üzerine etkileri	61
4.5.2. Biyolojik kontrol ajanlarının bitkinin morfolojik gelişimine olan etkileri.....	65
4.5.3. Biyolojik kontrol ajanlarının bitkinin klorofil yoğunluğuna, toplam fenolik madde miktarına, antioksidan aktivitesine ve toplam fosfor miktarına olan etkiler	69
4.5.4. Bitki köklerinde <i>G. mosseae</i> 'nin AMF kolonizasyonu ve rizosfer bölgesindeki spor yoğunluğu ile mikorizal bağımlılığa olan etkisi	71
5. SONUÇ.....	75
KAYNAKLAR.....	79
ÖZ GEÇMİŞ.....	89

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Domates üretim miktarına göre ülkeler.....	3
Çizelge 1.2. 2017-2018 yıllarında Van ilçelerinin domates üretim miktarı	4
Çizelge 2.1. <i>A. solani</i> (Ell. ve G. Martin) Sor.'nin bilimsel sınıflandırılması.....	7
Çizelge 3.1. PGPR izolatlarının isimleri ve izole edildiği bitkiler	18
Çizelge 3.2. <i>Trichoderma</i> spp.'nin izole edildiği bölgeler ve izolat isimleri	19
Çizelge 3.3. A besin solüsyonunun içeriği	19
Çizelge 3.4. B besin solüsyonunun içeriği	20
Çizelge 3.5. <i>A.solani</i> izolatları besi yeri olarak kullanılan PDA ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	20
Çizelge 3.6. <i>A.solani</i> izolatları besi yeri olarak kullanılan Su Agarı ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	20
Çizelge 3.7. PGPR besi yeri olarak kullanılan King's B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	21
Çizelge 3.8. PGPR stoklanarak saklanmasında kullanılan NGA ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	21
Çizelge 3.9. Karışım materyali olan torfun özellikleri	22
Çizelge 3.10. Karışım materyali olan perlitin kimyasal kompozisyonu.....	22
Çizelge 3.11. Seçilen ilçelerin toplam ekili alanı ve ziyaretlerde bulunan toplam alan.....	23
Çizelge 3.12. Survey kapsamında ziyaret edilen yerlerin lokasyonları, ziyaret tarihleri, örnek kodları ve alınan örnek sayısı.....	25
Çizelge 3.13. Çalışmada kullanılan uygulama grupları.....	34
Çizelge 4.1. <i>A. solani</i> izolatlarının izole edildiği bölgeler, izolat isimleri ve bölgeleri temsil etmek üzere seçilen izolatlar	51
Çizelge 4.2. <i>A. solani</i> izolatlarının haftalara göre hastalık şiddeti ve ortalamaları.....	52

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.3. <i>Trichoderma</i> spp.'nin <i>A. solani</i> EAb 1 izolatına karşı inhibisyon oranları ve antagonizm dereceleri	54
Çizelge 4.4. PGPR izolatlarının bitki morfolojik gelişim parametrelerine olan etkisi	57
Çizelge 4.5. Seçilen PGPR izolatlarının hastalık şiddeti oranları ve bitki morfolojik gelişim parametrelerine olan etkisi	59
Çizelge 4.6. Uygulama gruplarının haftalara göre hastalık şiddeti oranları, üç haftanın ortalaması ve baskılama oranları	62
Çizelge 4.7. Uygulama gruplarının domates bitkisinin morfolojik gelişim parametreleri üzerine etkileri	65
Çizelge 4.8. Uygulama gruplarının haftalara göre toplam klorofil yoğunluğu ile toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivitesi ve toplam fosfor miktarına olan etkileri.....	69
Çizelge 4.9. AMF'li uygulama gruplarının AMF kök kolonizasyonu, rizosfer spor yoğunluğu ve mikorizal bağımlılığa olan etkileri	72

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. En çok domates üretimi yapan dört ülkenin grafikte görünümü.....	3
Şekil 1.2. Van'ın toplam domates üretimi miktarının 2005-2018 yılları arasında değişiminin 3-B sütun grafiğinde görünümü.....	5
Şekil 2.1. <i>A. solani</i> hastalığının gelişimi	8
Şekil 3.1. Seçilen <i>A. solani</i> izolatlarının Su agarı ve PDA besi ortamlarında görünümü	17
Şekil 3.2. PGPR izolatlarının King's B besi ortamında görünümü.....	18
Şekil 3.3. Çalışmanın yürütüldüğü iklim odası ve laboratuvarlar	23
Şekil 3.4. Survey kapsamında ziyaretlerde bulunan bazı domates tarlaları ve örneklerin toplanması.....	24
Şekil 3.5. Toplanan örneklerin izolasyonu	27
Şekil 3.6. Gelişen <i>A. solani</i> izolatlarının belirlenmesi ve muhafazası	27
Şekil 3.7. Seçilen <i>A. solani</i> izolatlarının inokulasyonu	28
Şekil 3.8. Patojenite testi için kullanılan 0-4 skalasını temsil eden yaprakların görünümü	29
Şekil 3.9. En virulent olarak seçilen izolatın re-izolasyonu	30
Şekil 3.10. İkili kültür tekniği.....	31
Şekil 3.11. PGPR izolatlarının patojen izolata <i>in vitro</i> 'da etkisi.....	32
Şekil 3.12. PGPR izolatlarının bitkilere etkisi.....	33
Şekil 3.13. PGPR ve patojen izolatın uygulanması ve değerlendirilmesi	34
Şekil 3.14. Biyolojik kontrol ajanlarının ve patojen izolatın uygulanması.....	36
Şekil 3.15. Hastalık şiddeti ve toplam klorofil yoğunluğu ölçümü.....	36
Şekil 3.16. Bitkinin gövde ve kök uzunluğu ölçümü	37
Şekil 3.17. Bitkinin yaş ve kuru ağırlıklarının ölçümü	38

Şekil	Sayfa
Şekil 3.18. Bitkinin yaprak sayısı, alanı ve sürgün çapının ölçümü.....	39
Şekil 3.19. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	40
Şekil 3.20. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi	41
Şekil 3.21. Toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi	42
Şekil 3.22. Fosfor analizi işlemi	43
Şekil 3.23. Fosfor okuma işlemi.....	44
Şekil 3.24. AMF kök boyama işlemi.....	45
Şekil 3.25. AMF kök kolonizasyonunun belirlenmesi	46
Şekil 3.26. Toprakta AMF spor yoğunluğunun belirlenmesi	47
Şekil 4.1. Hastalığın tarla koşullarında görünümü	49
Şekil 4.2. Seçilen <i>A. solani</i> izolatlarının tespit edildiği lokasyonların uydu görüntüleri.....	50
Şekil 4.3. <i>A. solani</i> EAb 1 izolatının bitkideki belirtileri	53
Şekil 4.4. Seçilen <i>A. solani</i> izolatlarının üç haftanın oluşturduğu hastalık şiddeti ortalamalarının kümelenmiş sütun grafiğinde görünümü	53
Şekil 4.5. <i>A. solani</i> EAb 1 izolatına karşı <i>T. virens</i> ve <i>T. viride</i> NTC ₂ izolatlarının etkisi.....	55
Şekil 4.6. <i>Trichoderma</i> spp.'nin <i>A. solani</i> EAb 1 izolatına karşı inhibisyon oranları ve antagonizm derecelerinin kümelenmiş sütun grafiğinde görünümü	55
Şekil 4.7. PGPR izolatlarının <i>A. solani</i> EAb 1 izolatı üzerinde antagonistik etkilerinin 3-B sütun grafiğinde görünümü.....	58
Şekil 4.8. PGPR izolatlarının K(-)'ye göre etkisi.....	59
Şekil 4.9. V ₄₀ K ₂ ile T ₁₃ K ₁ PGPR izolatlarının pozitif ve negatif kontrollere göre hastalık şiddeti üzerine etkisi	60
Şekil 4.10. V ₄₀ K ₂ PGPR izolatının bitki gelişimi üzerine etkisi.	61

Şekil	Sayfa
Şekil 4.11. <i>A. solani</i> EAb 1 izolatının 5. haftada bazı uygulama gruplarına olan etkisi	63
Şekil 4.12. Uygulama gruplarının haftalara göre hastalık şiddeti oranları, üç haftanın ortalaması ve baskılama oranlarının 3-B sütun grafiğinde görünümü.....	63
Şekil 4.13. Tekli kombinasyonlarının bitkinin morfolojik gelişimine etkisi.....	67
Şekil 4.14. İkili kombinasyonlarının bitkinin morfolojik gelişimine etkisi	68
Şekil 4.15. Üçlü kombinasyonlarının bitkinin morfolojik gelişimine etkisi	68
Şekil 4.16. Dörtlü kombinasyonun bitkinin morfolojik gelişimine etkisi	68
Şekil 4.17. AMF'li uygulama gruplarının AMF kök kolonizasyonu ve rizosfer spor yoğunluğu	73



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
Ca	Kalsiyum
cfu	Colony Forming Unit
cm	Santimetre
°C	Santigrad Derece
cm²	Santimetre Kare
da	Dekar
dk	Dakika
Fe	Demir
g	Gram
HCl	Hidroklorik Asit
K	Potasyum
Kg	Kilogram
KOH	Potasyum Hidroksit
l	Litre
m	Metre
mg	Magnezyum
ml	Mililitre
mm	Milimetre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
N	Azot
Na	Sodyum
NaH	Sodyum Hidrür
NaHS	Sodyum Hidrosülfit
nm	Nanometre

Simgeler**Açıklama**

P	Fosfor
Pb	Kurşun
pH	Power Hidrojen
ppm	Milyonda bir

Kısaltmalar**Açıklama**

AFA	Alkol / Formaldehit / Asetik asit karışımı sıvısı
AMF	Arbüsküler Mikorhizal Fungus
AS	<i>Alternaria solani</i>
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
Gm	<i>Glomus mosseae</i>
K(+)	Pozitif Kontrol
K(-)	Negatif Kontrol
NGA	Nutrient Glucose Agar
PDA	Potato Dextrin Agar
PGPR	Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rhizobakteri
TPTZ	2.4.6 Tri (2-prdidyl)-s-triazin

1. GİRİŞ

Dünya popülasyonunun her geçen gün artması pek çok problemleri de beraberinde getirmektedir. Bu problemlerin başlarında ise nüfusunun beslenme gereksiniminin karşılanması yer almaktadır. Sınırları daralmış tarım arazilerinde günümüzde bu gereksinimi karşılama olanakları ne yazık ki yetersiz kalmaktadır. Bu durum bilim insanlarını harekete geçirmiş ve sürdürülebilir tarım çerçevesinde birim alandan alınacak verimi artırma çalışmalarına odaklandırmıştır. Özellikle de domateste verimi arttırmaya yönelik yapılan bu çabalar başta gelmektedir.

Domates, ilk defa Meksika veya Peru'da yaşayan yerlilerin kültüre aldığı ve Güney Amerika'da ise tarımı yapıldığı düşünülmektedir. Avrupa'ya ise 16. yüzyılda getirildiği, buradan da Kuzey Amerika'ya geçtiği bilinmekte olup, daha sonraki zamanlarda ise tüm dünyaya yayıldığı kabul görmektedir (Gould, 1983; Anonim, 2014). Ülkemize ise ilk olarak 1900'lü yıllarda Adana'da domates üretimine başlanmıştır (Yoksuloğlu, 2001).

Dünyanın hemen hemen her tarafında yetiştiriciliği yapılan ve Solanaceae familyasına bağlı olan domates (*Solanum lycopersicum* L.) bitkisi; renk, lezzet ve besin içeriği gibi özellikleri açısından önemli sebze ürünlerinin başında gelmektedir (Wang ve ark., 2010). Ayrıca hem Dünya hem de Türkiye çapında, gerek taze bir şekilde gerekse de işlenerek tüketimi en çok yapılan sebze türleri arasında yer almaktadır.

Kendine döllenebilen domates bitkisi, beşli çiçek yapısında, taç yaprakları 1-2 cm çapında; tek yıllık, çift çenekli, tırtıklı kenarlara ve otsu bir yapıya sahip olan bir bitkidir (Acquaah, 2002). Pinnat yaprakları 5 ile 9 yaprakçıklardan oluşan, boy olarak 10 ile 25 cm arasında farklılık göstermekte olup, sırik domates çeşitlerinde bu sayı artmaktadır. Tüylü yapıda bazı yaprakçıklarının boyları ise 8 cm'ye kadar ulaşmaktadır. Güçlü bir köke sahip olan domates bitkisi, dallanma gösteren kazık kök ve bunlardan oluşan sekonder kökler şeklinde gelişir. Ayrıca besin maddelerince zengin olan derin bünyeli her toprakta başarılı bir şekilde yetiştiriciliği yapılabilir (Sevgican, 1999; Vural ve ark., 2000). Meyvesi ise, yabani formlarında 1-2 cm çapında iken, yetiştiriciliği yapılan kültür bitkilerinde daha büyüktür ve genellikle kırmızı renkte olmaktadır.

Ilık ve sıcak iklimleri seven domates bitkisi, özellikle de sıcak iklimlerde meyveleri oldukça olgun ve koyu renkte olup, şeker bakımından da zengin bir içerik kazanmaktadır. Ancak soğuk ve serin iklimlerde ise domates bitkileri tam olgunlaşmamakta hatta -3 °C'ye kadar düşen sıcaklıklarda da ölebilmektedir. Ayrıca domates özellikle de aşırı sıcaklık, tuzluluk, kuraklık ve çevre kirliliği gibi stres koşulları altında oldukça hassastır. Sıcaklık bakımından, genel olarak fidelerin gelişimi için en uygun sıcaklık aralığı gündüzleri 18-22°C, geceleri 13-14°C olması yeterli olurken, en iyi gelişim için sıcaklık aralığı ise 15-28°C'dir. Sağlam bir kök yapısı oluşturması için toprak sıcaklığının da 12-15 °C'nin üzerinde olması istenmektedir (Abak ve ark., 2000). Domates bitkisi 30 °C'nin üzerine çıkan sıcaklıklarda gelişimini devam ettirir ancak dölllenme olayı olumsuz etkilenir ve bunun sonucunda çiçek dökülmeleri meydana gelir, verim azalır; 35 °C'yi aşan sıcaklıklarda ise fide gelişimi hatta tohum çimlenmesi olumsuz bir şekilde etkilemektedir (Kaloo, 1988).

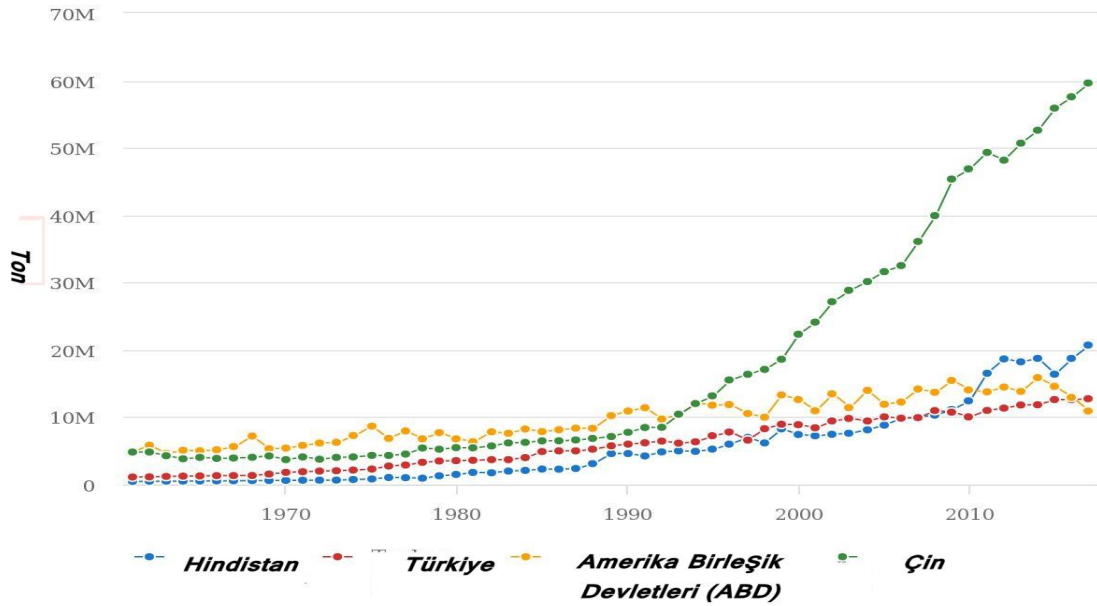
İklim koşulları bakımından ülkemiz domates tarımı için oldukça elverişlidir. 1970'li yıllardan sonra domatesi işleyecek sanayilerin kurulmasıyla da beraber domates üretimi ülkemizde hızlı bir şekilde artış göstermiş ve dünya çapında üretim bakımından üst sıralara kadar tırmanmıştır. Şuan dünya çapında önemli domates üretim merkezlerinden biri haline gelen ülkemizde domates, sadece üretim bazında artış göstermemiş aynı zamanda domatesin işlenmesiyle beraber çeşitli domates ürünleri de elde edilmiştir. Günümüzde domates hem taze hem de işlenerek salça, konserve, turşu, domates suyu, ketçap olarak tüketildiği gibi, dondurularak ya da kurutulularak parça domates şeklinde de tüketilebilmektedir.

Domates besin değerleri bakımından ve sağlıklı yaşam için de oldukça önemli bir yere sahiptir. Orta büyüklüğe sahip bir domateste (yaklaşık 120-123 g) % 94'lere kadar ulaşan su bulunmaktadır. Bunun yanı sıra 26 kcal enerji, 6 g karbonhidrat, 1 g protein, 1.4 g toplam lif ile 6 mg Ca, 0.6 mg Fe, 11 mg Na, 23 mg askorbik asit, 0.8 mg niasin, 0.07 mg tiamin ve 0.06 mg riboflavini bünyesinde barındırmaktadır (Gebhardt ve Thomas, 2002). Ayrıca, antioksidan bakımından da zengin olan domatesin 100 g'da ise 1700 IU A vitamini, 0.10 mg B1 vitamini, 0.55 mg B6 vitamini, 21 mg C vitamini ve 7 µg K vitamini bulunmaktadır (Ünsal, 2010). Vücudun bağışıklık sisteminin güçlenmesini destekleyen likopen içeriği ise yaklaşık 3.7 mg'dır (Aydın, 2004).

Dünya da sebze üretiminde oldukça önemli bir yere sahip olan domates, 388.190.674 ton patates üretiminden sonra 182.301.395 ton ile ikinci sırada bulunmaktadır. Bu ürünleri takiben sırasıyla 118.413.465 ton üretim ile karpuz, 97.862.928 ton üretim ile kuru soğan, 71.451.138 ton üretim ile de lahana takip etmektedir. Ayrıca dünyada önemli domates üretimi yapan ülkeler sırası ile 59.514.773 ton üretim ile Çin ilk sırayı alırken, 20.708.000 ton üretim ile Hindistan ikinci, 12.750.000 ton üretim ile Türkiye üçüncü ve 10.910.990 ton üretim ile de Amerika Birleşik Devletleri (ABD) dördüncü sırada yer almaktadır (Anonim, 2017) (Çizelge 1.1 ve Şekil 1.1).

Çizelge 1.1. Domates üretim miktarına göre ülkeler (Anonim, 2017)

Ülkeler	Üretim Miktarı (ton)
Çin	59.514.773
Hindistan	20.708.000
Türkiye	12.750.000
ABD	10.910.990
Mısır	7.297.108
İran	6.177.209
İtalya	6.015.868
İspanya	5.163.466
Meksika	4.243.058
Brezilya	4.230.150
Diğer Ülkeler	45.290.773
Toplam	182.301.395



Source: FAOSTAT (Apr 09, 2019)

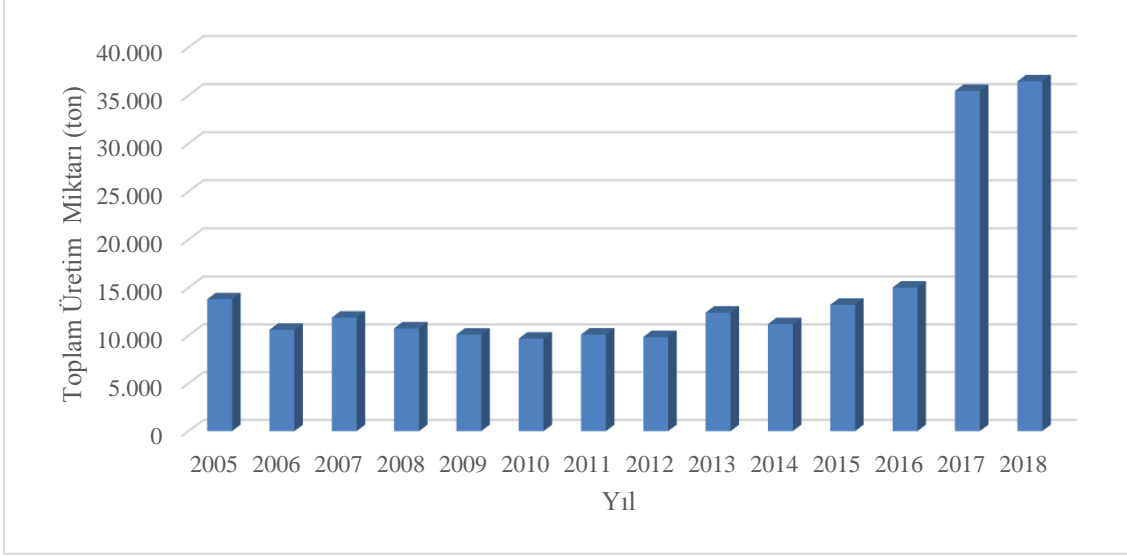
Şekil 1.1. En çok domates üretimi yapan dört ülkenin grafikte görünümü (Anonim, 2017).

Dünyanın önemli domates üretim merkezlerinden biri olan ülkemizde, sofralık domates üretiminin 3.829.831 ton üretimi, örtü altı olmak üzere toplamda 8.789.719 ton iken, salçalık domates üretimi ise 3.960.281 tondur. Ülkemizin hemen hemen her tarafında üretimi yapılmasına rağmen domatesin ekonomik olarak üretiminde, başta Antalya, Mersin ve Adana illeri gibi önemli üretim merkezlerine sahip olan Akdeniz Bölgesi gelmektedir. Daha sonra İzmir, Muğla ve Bursa illeri gibi önemli üretim merkezlerini kapsayan Ege Bölgesi ile Marmara Bölgesi takip etmektedir. Doğu Anadolu Bölgesinde ise Van ili önemli bir üretim merkezidir. Bu ilde domates üretimi 36.371 ton olarak Türkiye'nin domates üretiminin yaklaşık % 0,3'nü, Doğu Anadolu Bölgesi'nin ise yaklaşık % 16'sını karşılamaktadır. Özellikle de bu bölgede domates üretimine 20.735 ton ile Gevaş ilçesi ilk sırada katkı sağlarken, 7.700 ton ile Edremit ilçesi ikinci sırada ve 4.227 ton ile de Erciş ilçesi üçüncü sırada katkı sağlamaktadır (Anonim, 2018) (Çizelge 1.2.).

Çizelge 1.2. 2017-2018 yıllarında Van ilçelerinin domates üretim miktarı (Anonim, 2018)

İlçeler	Üretim Miktar (ton)	
	2017	2018
Gevaş	20.697	20.735
Edremit	6.600	7.700
Erciş	4.391	4.227
Tuşba	1.385	1.331
Çaldıran	1.120	1.180
Muradiye	647	648
İpekyolu	283	284
Gürpınar	212	115
Bahçesaray	86	86
Çatak	53	65
Toplam	35.474	36.371

Nitekim Van ilinde özellikle de son yıllarda domates üretimi önemli derecede artmaktadır (Şekil 1.2). Bu nedenle bu üründe hastalıkların da salgın halde görülmesi kaçınılmazdır.



Şekil 1.2. Van'ın toplam domates üretimi miktarının 2005-2018 yılları arasında değişiminin 3-B sütun grafiğinde görünümü (Anonim, 2018).

Üretimi bakımından oldukça önemli bir yere sahip olan domates bitkisi, ciddi derecede ekonomik kayıplara neden olan fitopatolojik problemlere sahiptir. Bu fitopatolojik problemlerin başında ise fungal patojenler gelmektedir. Özellikle de *Colletotrichum coccodes* (Wallr.), *Ulocladium atrum* (Preuss), *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler, *A. solani*, *Fusarium oxysporum* (Jarvis & Shoemaker), *F. solani*, *Pythium* spp., *Penicillium* spp., *Phytophthora parasitica* (Breda de Haan), *P. infestans* (Mont.) de Bary, *Rhizoctonia solani* (Kühn), *Phoma destructiva*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Verticillium dahliae* (Kleb.), *V. albo-atrum* (Reinke & Berthold), *Spongospora subterranea*, *Erysiphe* spp., *Leveillula taurica* (Lev.) Arn, *Botrytis cinerea* (Pers.), *Stemphylium solani* (Weber), *Cladosporium fulvum* (Cooke), *Cercospora* spp., *Botryosporium* spp, *Septoria lycopersici* (Speg.) ve *Didymella lycopersici* (Kleb.) gibi fungal patojenler, domates bitkisini hastalandırarak önemli derecede ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Kırbağ ve Parlak, 1996; Ozan ve Maden, 2004; Blancard, 2005; Kırbağ ve Turan, 2006; Aybak ve Kaygısız, 2007; Erol, 2007). Bu patojenlerin bir kısmı bitkinin toprak altı aksamalarını, bir kısmı ise toprak üstü aksamalarını hastalandırırken, bir kısmı ise hasat sonrası depolarda meyveleri hastalandırır. Ancak hastalığın oluşmasında patojen için uygun çevre koşulları ve duyarlı bitkinin olması da söz konusudur. Nitekim domates bitkisinin birçok çeşidi bu patojenlere karşı duyarlıdır ve çevre koşullarının da kontrol altına alınmaması durumunda bu patojenlerin hastalık oluşturması kaçınılmazdır. Özellikle de bu fungal patojenler arasında başta gelen A.

solani etmeni, dünya çapında yetiştiriciliği yapılan bütün domates alanlarında önemli derecede “Erken Yanıklık” hastalığına neden olmaktadır (Jones ve ark., 1991; Yiğit, 1993; Shinde ve ark., 2018).

Biyolojik mücadele kapsamında yapılan birçok araştırma, gerek *A. solani*, gerekse de diğer bitki patojenleri üzerinde biyolojik kontrol ajanlarının büyük bir önemi vurgulanmıştır. Özellikle de domates alanlarında önemli derecede sorun oluşturan *A.solani* etmenine karşı biyolojik mücadele araştırmaları hem dünya hem de ülkemiz için büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle bu tezin amacı; Van ilinde ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılan domates alanlarında problem oluşturan *A.solani*'ye karşı bu bölgede biyolojik mücadele olanaklarının belirlenmesidir. Ayrıca elde edilen bulguların diğer araştırmacılara kaynak bilgi ile materyal sağlayarak ışık tutması ve diğer bölgelerde yapılan benzer araştırmalarla karşılaştırma olanağı sağlaması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. *Alternaria solani* (Ell. ve G. Martin) Sor. Hakkında Genel Bilgiler

Domateste erken yanıklık hastalığına neden olan *Alternaria solani* daha önceleri *A. porri* f. sp. *solani* (Neergaard, 1945) olarak bilinmekteydi ve ilk kez 1882 yılında Ellis ve Martin tarafından tanımlanması ile beraber çalışmaların yoğun odağı haline gelmiştir (Strandberg, 1992; Rotem, 1994). Bu patojen, domates, patates ve patlıcan gibi Solanaceae familyasına bağlı bitkiler başta olmak üzere, fasulye gibi sebze türlerinden elma ve portakal gibi meyve türleri ile karanfil gibi süs bitkilerine kadar birçok konukçu dizisine sahiptir. Ayrıca ağır yağışlar ile oldukça yüksek nem ve sıcaklıklarda (24 °C - 29 °C) özellikle de domates bitkisinde, büyümenin her aşamasında, toprak üstü aksamlarında (yaprak, gövde, çiçek ve meyve) çok ciddi hasarlara yol açmaktadır (Peralta ve ark., 2005; Verma ve Verma, 2010). Bilhassa domates bitkisi, meyve verme döneminde bu patojene karşı daha hassas olmaktadır (Cerkauskas, 2005; Momel and Pemezny, 2006).

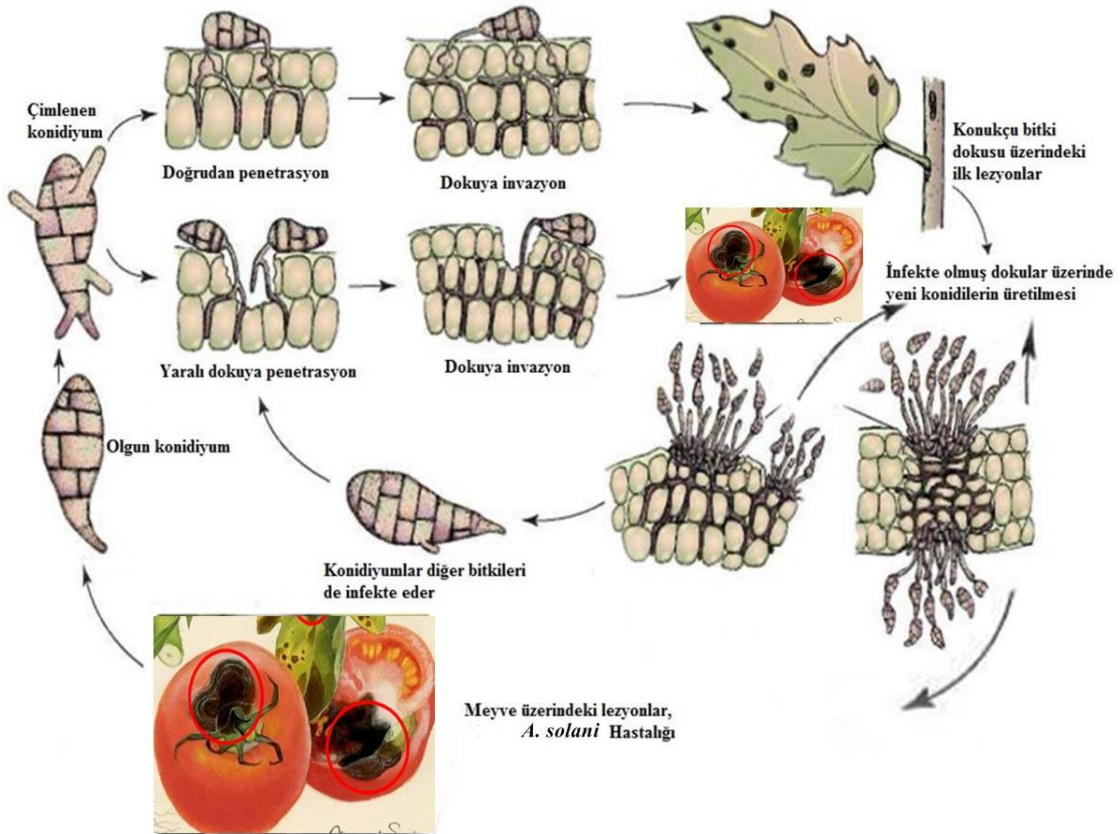
Bilimsel olarak sınıflandırılması Çizelge 2.1’de verilen *A. solani* patojenin konidial yapısı spesifik olup, uzunca yapıya sahip, çok hücreli, boyuna ve enine bölmelidir. Aynı zamanda konidiyoforların üzerinde zincir şeklinde oluşturdukları bu konidiyumlar koyu renkli, sona doğru kuyruk biçiminde incelen ve baş tarafına doğru genişleyen yumurta biçiminde bir şekle sahiptir (Agrios, 1997).

Çizelge 2.1. *A. solani* (Ell. ve G. Martin) Sor.’nin bilimsel sınıflandırılması (Anonim, 2019)

Alem	Fungi
Şube	Ascomycota
Altşube	Pezizomycotina
Sınıf	Dothediomycetes
Altsınıf	Pleosporomycetidae
Takım	Pleosporales
Familya	Pleosporaceae
Cins	<i>Alternaria</i> Ness, 1816

A. solani’nin konidiyumları sağlıklı domates bitkilerine hava kökenli oldukları için çoğunlukla hava akımları ile taşınmaktadır. Domates bitkisine ulaşan bu patojenin konidiyumları bitkinin epidermal hücrelerine ya penetrasyon yaparak ya da stomalar veya

yaralar gibi açıklıklardan girerek infekte eder (Şekil 2.1). İnfekteli bitkide hastalık ilk olarak alt yaprakçıklarda koyu kahverengi nekrotik lekeler olarak başlar ve daha sonraki aşamalarda ise, lezyonların hafif çökük ve iç içe geçmiş hedef tahtası gibi konsantrik halkalar şeklinde koyu siyah ve kahverengi lekeler oluşturarak gözlemlenir (Locke, 1949). Mücadele yapılmadığı takdirde bu patojen bitkinin toprak üstü bütün aksamlarında gözlenebilmektedir. Ayrıca genç fidelerde ise *A. solani* kök boğazı yanıklığına hatta şiddetli infeksiyonlarda kök çürüklüğüne kadar neden olmaktadır. Meyvelerde ise meyve tam olgunlaşmış olsun ya da olmasın, özellikle de sapa bağlanma kısmından patojen tarafından infekte olur. İnfekteli meyveler de ise belirtiler küçük kahverengimsi veya siyah renklere çökükler ve meyveyi tamamen saran derimsi benzeri lekeler oluşturmaktadır. Daha sonra ki aşamalarda ise infekte olmuş bu meyveler zamanla dökülmektedir (Jones ve ark., 1993). Özellikle de meyvede oluşan bu belirtiler, ürünün pazar değerini azaltarak ekonomik olarak kayıplara neden olmaktadır (Yigit, 1993).



Şekil 2.1. *A. solani* hastalığının gelişimi (Agrios, 1997).

2.2. *Alternaria solani*'ye Karşı Yapılan Biyolojik Mücadele Çalışmaları

Domates bitkisinin yetiştirildiği hemen hemen bütün alanlarda problem oluşturan *A. solani*'ye karşı ağırlıklı olarak kültürel ve kimyasal mücadele uygulanmaktadır. Ancak kültürel mücadelenin tek başına yetersiz kalması, ne yazık ki üreticileri kimyasal mücadeleye yönlendirmektedir. Nitekim bu kimyasal mücadelede bilinçsizce pestisit kullanımı, hem insan sağlığına hem de çevre sağlığına oldukça ciddi sorunlar oluşturmuştur. Bununla beraber doğal dengeyi bozması ve sürekli pestisit kullanılmasıyla oluşan hastalıkların, zararlıların ve yabancı otların direnç kazanması gibi problemlerin de ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Ayrıca gereksiz yere kullanılan bu pestisitler ekonomik olarak da zarar oluşturmaktadır.

Kimyasal mücadelenin oluşturduğu problemler günden güne daha iyi anlaşılmakta olup sürdürülebilir tarım, organik tarım veya iyi tarım uygulamaları gibi yeni tarımsal politikalar geliştirilmesiyle kimyasal pestisitlerin kullanımı ya sınırlandırılmış ya da yasaklanmıştır. Bununla beraber biyolojik mücadele yöntemleri de son zamanlarda kimyasal mücadelenin yerini almaya başlamıştır. Bir başka deyişle, kimyasal mücadelenin oluşturduğu bu problemler, biyolojik mücadeleyi doğurmuştur (Bora, 2002).

Biyolojik mücadele çalışmalarının odağında hem insana hem de çevreye olumsuz etkilerinin olmaması bulunur. Bununla beraber kullanılan biyolojik ajanlarının geniş spektrumlu, düşük maliyetli, çevre şartlarından etkilenmemesi ve adaptasyon yeteneği güçlü olması istenmektedir. Ayrıca bu ajanların hem tarla koşullarında hem sera koşullarında hem de depo koşullarında bitkilerde sorun oluşturan hastalık ve zararlıların kontrol altına alınmasında, özellikle de gelişmiş olan ülkelerde uzun süreli depolama koşullarına ve taşımaya dayanıklı formulasyonlarının geliştirilmesi ile beraber bir çok bilimsel araştırmalarda yapılmıştır (Cook ve Baker, 1983; Chet ve ark., 1993; Lumsden ve ark., 1995; Leibinger ve ark., 1997; Karaman, 2005).

Dünyada yapılan birçok biyolojik mücadele araştırmaları diğer bitki patojenlerine karşı olduğu gibi, *A. solani*'ye karşı da biyolojik kontrol ajanları kullanılarak yapılmaktadır (Chattopadyay ve Nandi, 1982; Mohammed, 1982; Brame ve Flood, 1983; Niwas ve Sharma, 1988). Bu çalışmalarda kullanılan biyolojik kontrol ajanları içerisinde *Artrobacter*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Alcanigenes*,

Serratia, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Erwinia*, *Xanthomonas*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Arthrobacter*, *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, ve *Flavobacterium* gibi cinslere bağılı bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) (Kotan, 2014), *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Talaromyces* ve *Pichia* gibi cinslere bağılı fungal biyolojik kontrol ajanları (Özaktan ve ark., 2010) ile *Glomus* ve *Gigaspora* gibi cinslere bağılı arbusküler mikorizal funguslar (AMF) oldukça önem arz etmektedir. Özellikle de dünya çapında tarım ve çevre sağılı alanlarında diğer patojenlere olduğu gibi *A. solani*'ye karşı da kullanılan kimyasallar, yerini artık biyolojik mücadelede kullanılan bu ajanlara bırakmaya başlamıştır.

2.2.1. Fungal biyolojik kontrol ajanları

Doğa bir denge halindedir ve her şeyi bulmak da mümkündür. Müdahale edilmediği zaman doğa, kendi sorunlarını da kendisi çözebilmektedir. Bunun en iyi örneklerinden birisi ise biyolojik mücadele ajanlarının patojenler ile etkileşimidir (Bora ve Özaktan, 1998). Özellikle de fungal biyolojik kontrol ajanları biyolojik mücadele kapsamında yaygın olarak kullanılmasında besi ortamlarında kolayca geliştirilmesi, tür bakımından diğer kontrol ajanlarına göre fazla olmaları, konukçu aralığının iyi bilinmesi ile beraber ticari olarak üretime de elverişli olmaları önemini arttırmaktadır. Nitekim bu ajanlar, diğer hastalık etmenlerinde olduğu gibi *A. solani* patojenine karşıda biyolojik mücadele kapsamında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Bu kapsamda yapılan araştırmalardan birisi de Yiğit ve Turhan (1994) tarafından yapılmıştır. Bu araştırmada *A. solani*'ye karşı, *V. psalliotae* biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılmıştır. İlk olarak *V. psalliotae*'nin *A. solani* sporlarını parazitlendiği, daha sonra da saksı ve sera denemelerinde biyolojik ajanın patojene karşı sırasıyla % 100 ve % 43.4'lük bir koruyucu bir etkide bulunduğu saptanmıştır. Yine *A. solani* patojenine karşı biyolojik mücadele çalışmalarından biri de Turhan ve Hayat (1994) tarafından yapılmıştır. Bu çalışma patojene karşı *Clonostachys* ve *Sesquicillium* cinsleri ile *V. tenerum* toprak izolatları kullanarak, in vitro koşullarda yürütülmüştür. Yapılan çalışmada *A. solani*'nin gelişimini *Clonostachys* ve *Sesquicillium* cinsine ait izolatlarının engellediği ve bunu antibiyosis

yoluyla gerçekleştirdiği saptanmıştır. Ayrıca bu biyolojik kontrol ajanlarının patojene güçlü bir şekilde hiperparazitik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Bardık (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, *A. solani*'ye karşı Phyllosphere (=Phylloplane) olarak isimlendirilen yaprak yüzeylerindeki mikroorganizmaların etkileri araştırılmıştır. Bu mikroorganizmaların bazıları patojenleri, besin ve yer gibi faktörlerle rekabete girerek, bazıları antibiyotik üreterek engellerken, bazıları ise patojenlerin hif ve spor yapılarını penetre ederek engellediği belirlenmiştir. Bu mikroorganizmalardan *Cryptococcus* ve *Sporobolomyces*'in *A. solani*'ye karşı ikili kültürlerinde 15 ve 21 mm'lik inhibasyon zonu oluşturarak en etkili funguslar olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Trichoderma* sp.'nin kültür filtratının % 91.7 oranında *A. solani*'nin gelişimini engellediği saptanmıştır. Tüm biyolojik kontrol fungusları ise bitkide *A. solani*'nin hastalık oluşturma üzerine etkisini % 17–53 aralığında değiştiği saptanmıştır.

Fungal biyolojik kontrol ajanları arasında, özellikle de toprak rizosferinde çoğunlukla bulunan ve toprak mikroflorasının üstün elemanlarından biri olan *Trichoderma*'lar, patojenlere karşı oldukça etkili olan biyolojik mücadele ajanlarıdır (Killham, 1994). Weindling (1932) tarafından yapılan çalışmada ilk kez *R. solani*'yi parazitleyen fungal bir biyolojik mücadele ajanı olarak izole edilmiştir.

Trichoderma'lar oldukça hızlı çoğalan ve filamentli yapıya sahip olan bir fungus olup (Samuels, 2006), dünya çapında hemen hemen bütün tarım alanlarında izole etmek mümkündür (Domsch ve ark., 1980; Gams ve Bissett, 1998; Klein ve Eveleigh, 1998; Aydın, 2015). Ancak bu durum *Trichoderma*'nın türlerine göre değişiklik göstermekte olup, *T. harzianum* ve *T. asperellum* gibi türleri daha geniş coğrafyaya yayılırken, *T. viride* gibi türler ise daha sınırlı bir coğrafyaya yayılma göstermektedir. *T. stromaticum* türü ise *Trichoderma* türleri arasında en sınırlı dağılıma sahip olmakta ve sadece endofitik olarak Amerika kıtasının tropikal bölgelerinde yetiştiriciliği yapılan kakao ağaçlarının doku veya kabuklarında gelişim gösterdiği saptanmıştır (Samuels, 2006).

Trichoderma'lar tabiatta fazla miktarda bulunmasıyla beraber izolasyonunun kolay olması, besi ortamlarında hızlı ve kolay bir şekilde gelişebilmesi, birçok patojene karşı etkili bir şekilde kullanılabilmesi, hormona benzer metabolitler üretmesi ve hem topraktan hem de organik maddelerden besinleri çözebilmesi nedeniyle bitkinin gelişimine oldukça önemli katkı sağlaması gibi özelliklerinden dolayı biyolojik mücadele

kapsamında yapılan çalışmalarda öne çıkan bitki gelişimini teşvik eden funguslar (PGPF) olarakda nitelendirilmektedirler (Kredics ve ark., 2003).

Trichoderma'lar ile yapılan çalışmalar daha çok toprak kökenli patojenlerle yapılmasına rağmen *A. solani* gibi yeşil aksamda hastalık oluşturan patojenlerle yapılan çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalardan birisi de Fontenelle ve ark. (2011) tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada *Trichoderma*'ya ait 28 izolatu *Xanthomonas euvesicatoria* ve *A. solani* patojenlerine karşı kullanılmıştır. *Trichoderma* izolatları prinç tanelerine bulaştırmak suretiyle bitkiye topraktan inokulasyonu yapılmıştır. *X. euvesicatoria* ve *A. solani* patojenleri ise sırasıyla yaklaşık olarak 3×10^8 cfu/ml ve 1×10^4 conidia/ml süspansiyonlar hazırlanarak bitkiye uygulanmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonucunda kontrol gruplarına oranla *X. euvesicatoria* patojenine karşı % 95.94 ile % 24.13 arasında biyolojik kontrol ajanlarının etkisi bulunurken, *A. solani* patojenine karşı ise % 95.23 ile % 30.69 arasında etkisi saptanmıştır. Ayrıca *T. strigosum* IB 28/07 izolatu *A. solani*'ye karşı en etkili biyolojik kontrol ajanı olarak belirlenmiştir.

Tricoderma'ları yine biyolojik kontrol ajanı olarak Devi ve ark. (2017) kullanmıştır. Yapılan bu çalışmada *Trichoderma*'lar (*T. viride*, *T. hamatum* ve *T. harzianum*) ile *P. citrinum* ve *P. glabrum* kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda yürütülen bu çalışmada, *Trichoderma* türlerinin *A. solani*'nin gelişimine olan etkisine bakılmıştır. *A. solani*'nin gelişimine olan etkisi ise Bell's skalası (1-6 skala) kullanarak değerlendirilmiştir. Bu skala değerlerine göre *T. harzianum* ve *T. hamatum* % 100'lük bir etki gösterirken, *T. viride* ise % 50'lik bir etki göstermiştir. *P. citrinum* ve *P. glabrum* türlerinin ise etki göstermediği, ancak 0.5 cm ve 0.4 cm kadar inhibasyon zonu oluşturduğu bildirilmiştir.

2.2.2. Arbüsküler mikorizal funguslar (AMF)

Kök fungusu anlamına gelen Mikoriza (Gai, 2006; Martin ve Slater, 2007), bitkiler ile yaygın bir şekilde simbiyotik yaşam sürdürmektedirler. Bu yaşam şekilleri mikorhiza funguslarının sporları ve hifleri ile bitkinin köklerine yönelmesi sayesinde meydana gelir (Peterson ve Farquhar, 1994). Bu şekilde oluşan yaşam şekillerini ektomikoriza ve endomikorhiza olarak iki gruba ayrılır. Ektomikoriza grubuna ait fungusların hifleri bitkinin kök yüzeyini, hücreler arasına yerleşmek suretiyle sararak

mantoya benzer bir yapıda misellerden oluşan bir tabaka meydana getirirler. Bu simbiozis başta orman ağaçları olmak üzere bazı meyve ağaçlarında da görülmektedir (Marschner, 1995). Endomikoriza grubuna ait funguslarda ise, hiflerin bir kısmı bitkinin kök yüzeyinden hücreler içine girerek ağaca benzer dallanmalar gösterirken, diğer kalan kısmı ise kökün toprakla temas eden yüzeyinde hifsel ağ meydana getirmesi suretiyle oluşur. Bu şekilde oluşan simbiozis ise ektomikorizanın aksine, birçok kültür bitkilerinde ve meyve ağaçlarında görülmektedir (Marschner, 1995). Bununla birlikte mikoriza üzerine yapılan araştırmalar, endomikoriza yaşam şekilleri içerisinde yer alan ve özellikle de bitkiye sağladıkları olumlu katkılarından dolayı Arbusküler Mikorizal (AM) oluşumuna odaklanmıştır (Demir, 1998).

AMF'ler ve simbiozis oluşturdukları bitkiler, belirli koşullar altında birbirlerinden fayda sağlamaktadırlar (Demir, 1998; Rhodes, 1980; Bolan ve ark., 1987; Li ve ark., 1991). Rizosfer bölgesinde yaygınca bulunan AMF, özellikle de bitki besin maddeleri bakımından fakir olan marjinal topraklarda bitkilerin gelişimi için oldukça önemli katkı sağlar ve bazı mikro ve makro besin maddelerinin yanı sıra özellikle fosfor alımında önemli rol alır. Buna karşın AMF ise, bitkinin ürettiği karbonhidratlardan ve bazı organik maddelerden faydalanmaktadır.

Biyolojik mücadele adı altında bitkilere direnç kazandırdığı gibi gelişimine de olumlu yönde oldukça önemli avantajlar sağlayan ve simbiyotik mikroorganizmalar arasında yer alan AMF'ler (Azcón-Aguilar and Barea, 1996; Smith and Read, 2008; Demir, 2015), *A.solani* gibi yaprak patojenlerine karşı nispeten daha az çalışmalar yapılmıştır. Bu kapsamda yapılan çalışmalardan birini de Fritz ve ark. (2006) tarafından yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada *A. solani*'ye karşı AMF türü olan *Glomus intraradices* kullanılmıştır. Bu araştırmada mikorizalı ve mikorizasız domates bitkisinin tüm yapraklarında patojen kaynaklı nekroz ve kloroz oranları ile topraktan fosfor alımına bakılmıştır. Mikorizalı domates bitkilerinde *A.solani* belirtileri mikorizasız bitkilere oranla daha az olduğu saptanmıştır. Ayrıca sadece *A. solani* ile infekteli bitkilerde nekroz oranı 3.16 ve kloroz oranı 4.55 bulunurken, AMF + *A. solani* kombinasyonlu infekteli bitkilerde nekroz oranı 1.64 ve kloroz oranı 1.86 olarak bulunmuştur. Fakat ne bitkinin büyümesinde ne de P alımında mikorizanın etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

AMF'ler ile yapılan diğer bir çalışma ise Nova ve ark. (2007) tarafından yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada yine *A. solani* patojeni ile beraber *P. infestans* ve *P.*

parasitica patojenlerine karşı *G. fasciculatum* ve *G. clarum* AMF'leri kullanarak biyokoruyucu etkilerine bakılmıştır. Yapılan uygulamaların sonucunda *G. fasciculatum* ile kolonize olan fideler *A. solani*'ye karşı daha dirençli olurken, *G. clarum* ile kolonize olan fidelerde *A. solani*'ye karşı dirençli olmadığı saptanmıştır. Ayrıca *G. fasciculatum* ile kolonize olan bitkilerin yapraklarında *P. parasitica* patojenine karşı direnç kazandığı belirlenmiştir. Bunun aksine tüm muamele gruplarının *P. infestans* ve *P. parasitica* patojenlerine karşı bitkilerde kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı etkili olmadığı saptanmıştır.

Yine *A. solani* patojenine karşı Song ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada ise AMF türleri olan *G. mosseae* kullanılmıştır. Bu çalışma da *G. mosseae*'nin *A. solani* üzerinde etkisi ve mikorizal kolonizasyonla kazanılan savunma ile ilgili enzimlerin (β -1.3-glucanase, chitinase, phenylal anineammonia-lyase (PAL) ve lipoxygenase (LOX)) oranlarına bakılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda *A. solani*'nin domates bitkisinde oluşturduğu hastalık etkisi yaklaşık % 63 ve hastalık indeksi % 44.5 bulunurken, *G. mosseae* + *A. solani* kombinasyonunu uygulanan bitkilerde ise hastalık etkisi % 40.1 ve hastalık indeksi % 17.2 olarak saptanmıştır. Ayrıca mikoriza uygulanan bitki yapraklarında patojene karşı bulunan β -1.3-glucanase, chitinase, phenylal anineammonia-lyase (PAL) ve lipoxygenase (LOX) enzimleri önemli derecede arttığı saptanmıştır.

2.2.3. Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR) antagonistleri

Biyolojik mücadele kapsamında, bitkilerin dayanıklılık mekanizmalarının bazı kimyasallar, avirulent ya da sınırlı infeksiyon oluşturan bitki patojenleri ve bazı patojen olmayan bakteriler ile uyarılması sonucu hastalıklarla yapılan mücadele, gün geçtikçe odak noktası haline gelmektedir. Bu nedenle doğal olarak rizosfer bölgesinde, bitkilerin kökleri ile olumlu yönde etkileşimde bulunan mikroorganizmaların her geçen önemi artmaktadır. Bu mikroorganizmaların yaklaşık % 2-5'ini oluşturan (Antoun ve Prévost, 2006) bitki gelişimini artıran kök bakterileri (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR), bitki verimini (Liu ve ark., 2016), büyümesini (Huang ve ark., 2016) ve besin alımını (Calvo ve ark., 2016) olumlu şekilde etkileyen, bununla birlikte bitkilerin

dayanıklılık mekanizmalarının uyarılmasını sağlayarak, patojenlerin biyolojik kontrolünde önemli görevler üstlenen faydalı bir bakteri grubudur (Xiang ve ark., 2017).

Hem ülkemizde hem de dünyanın diğer ülkelerinde PGPR antagonistleri ile birçok çalışmalar yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalardan biriside, Basım (1990) tarafından yapılmış olup, bu çalışmada *Bacillus* cinsine ait PGPR, antagonist olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışmada 12 *B. subtilis* izolatlarını (I2, I3, I4, I5, I6, I7, I8, I9, I10, I11, AB-2 ve AB-27 izolatları) *A. solani*'yi de içine alan 9 adet bitki patojenine (*A. solani*, *Ascochyta rabiei*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseoli*, *R. solani*, *S. rolfsii*, *S. sclerotiorum*, *P. capsici*, *V. dahliae*) karşı uygulanmıştır. *In vitro* koşullarında gerçekleşen bu çalışma da antagonizm araştırılmıştır. Araştırmada bu patojenlere en fazla antagonizm gösteren AB-27 ve AB-2 nolu *B. subtilis* izolatları olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *A. solani*'ye karşı AB-27 nolu izolatı çok kuvvetli antagonist etki gösterirken, AB-2 nolu izolatın ise kuvvetli antagonist etki gösterdiği bulunmuştur. Bununla beraber bütün izolatlar ise çok az antagonist etki gösterdiği saptanmıştır. Yine *Bacillus* cinsine ait PGPR türünü antagonist olarak kullanan Shanmugam ve ark. (2011), yaptıkları bu çalışmada *B. atrophaeus* S2BC-2 izolatının *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (FOL) ve *A. solani* (AS) patojenleri üzerinde etkisi incelenmiştir. Seralarda yapılan bu çalışmada antagonist hem tohuma hem de toprağa uygulanmıştır. Uygulama sonucu hastalık indeksleri yüzde olarak hesaplanmıştır ve sırasıyla FOL'un % 25.3 ve AS'nin % 28.7 olarak belirlenmiştir. Bu düşük hastalık indeksleri ise yüksek canlılık indeksi (8.041.2) olarak değerlendirilmiştir.

Bacillus gibi *Pseudomonas* cinsine ait PGPR antagonistler de *A. solani*'ye karşı etkin bir rol oynamaktadır. Bu kapsamda El-Sayed ve ark. (2008) tarafından PGPR antagonisti olarak *Pseudomonas* spp.'nin 13 izolatı (*P. fluorescence* ATCC 11150, *P. putida* ACGEB Ps 102, *P. putida* ACGEB Ps 103, *P. chlorophis* ACGEB Ps 104, *P. aeruginosa* ACGEB Ps 105, *P. putida* ACGEB Ps 106, *P. aeruginosa* ACGEB Ps 107, *P. aeruginosa* ACGEB Ps 108, *P. aeruginosa* ACGEB Ps 109, *P. chlorophis* ACGEB Ps 110, *P. fluorescence* ACGEB Ps 111, *P. fluorescence* ACGEB Ps 112 ve *P. putida* ATCC2) *A. solani*'ye karşı etkisi araştırılmıştır. Yapılan araştırmada tüm izolatların direk olarak patojenin gelişimini engellemesine rağmen *P. putida* ATCC2 izolatı % 66.67 oranla patojen gelişimini en yüksek etkileyen izolat olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber Dawoud ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada, hem *A. solani* ve *P. syringae* patojenlerine karşı hem de bitkinin morfolojik gelişimine olan etkilerine karşı

yine *Pseudomonas* cinsine ait *P. putida* MG4 ve *P. fluorescens* MG18 izolatları antagonist kullanılmıştır. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında *P. putida* MG4 ve *P. fluorescens* MG18 izolatlarının karışımının hem patojenlere karşı etkili olduğu hem de bitkilerin morfolojik gelişimlerine önemli derecede olumlu katkı sağladığı saptanmıştır. Ayrıca bu karışımın *A. solani* üzerindeki hastalık indeksi (yaklaşık % 11) diğer gruplara oranla daha düşük çıktığı belirlenmiştir. Ayrıca Sharma ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada ise, yine *Pseudomonas* cinsine ait 30 izolatı, in vitro koşullarda *A. solani*, *Dematophora necatrix*, *F. oxysporum*, *Pythium ultimum* ve *Rhizoctonia* sp. patojenlerine karşı antagonistik etkilerine bakmışlardır. Tüm *Pseudomonas* izolatları içinde 9 izolat (An-1-kul, An-4-kul, An-7-kul, An13-kul, An-16-kul, Ar-3-kul, Pn-1-kul, Pn-3-kul ve Pr-1-kul) bu patojenlere karşı antifungal etki göstermiştir. Ayrıca bu 9 antagonist izolatlar *A. solani*'ye karşı % 1.9-38 oranları arasında etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Latha ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada ise hem *Bacillus* hem de *Pseudomonas* antagonistlerine ait olan izolatlarla oluşturulan kombinasyonlarının, *A.solani*'ye karşı etkisine bakılmıştır. PGPR izolatları olarak *B. subtilis* izolat Bs16, *P. fluorescens* izolat Py15 ve Pfl antagonistleri kullanılmıştır. Bs16, Py15 ve Pfl antagonistlerin sırasıyla *A.solani*'ye etkisi % 49.1, % 59.8 ve % 61.3 olarak belirlenirken, bu üç antagonistin karışımı sonucunda ise % 60 olarak saptanmıştır. Ayrıca patojene karşı en düşük etki gösteren antagonist karışımı ise % 44.1 ile Py15+Pfl karışımı olduğu belirlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

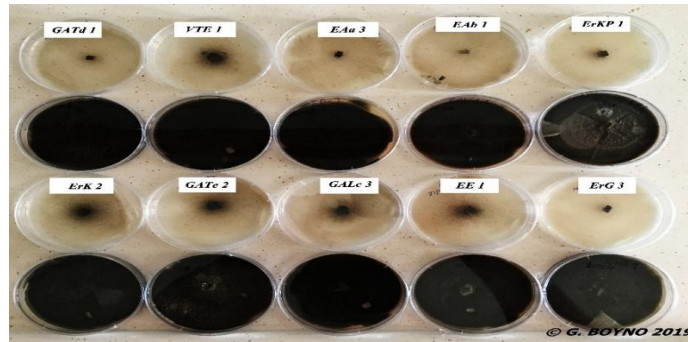
3.1.1. Test bitkisi

Çalışmada kullanılmak üzere bitkisel materyal olarak özel bir şirketten temin edilen (Gento Tohumculuk) ve Van ilinde yaygın olarak yetiştirilen tarla tipi 16-014 F1 hibrit domates çeşidi hem patojenite testlerinde hem de diğer biyolojik mücadele çalışmalarda kullanılmıştır.

16-014 F1 hibrit domates çeşidi, bahar ve yaz dikimine uygun yapıda olup, hem tarla hem de sera alanlarında kullanılabilir. % 93 oranında çimlenme yeteneğine sahip olup, bitki yapısı oldukça güçlü ve her salkımında 5-6 adet meyve oluşturur. Meyveleri koyu parlak kırmızı renktedir ve raf ömrü uzundur. Yüksek verimli ve yoğun yaprak örtüsüne sahip olan bu çeşit çatlamaya dirençlidir.

3.1.2. Test patojenleri

Çalışma kapsamında fungal patojen olarak, Van ilinde domates alanlarında izole edilip, makroskobik ve mikroskobik gözlemlere dayalı olarak teşhisinde bulunulan *A. solani* izolatları kullanılmıştır. Bu izolatlar içerisinde survey yapılan bölgeleri temsil edecek şekilde 10 adet *A. solani* izolatı seçilerek patojenite testinde kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Seçilen *A. solani* izolatlarının Su agarı ve PDA besi ortamlarında görünümü.

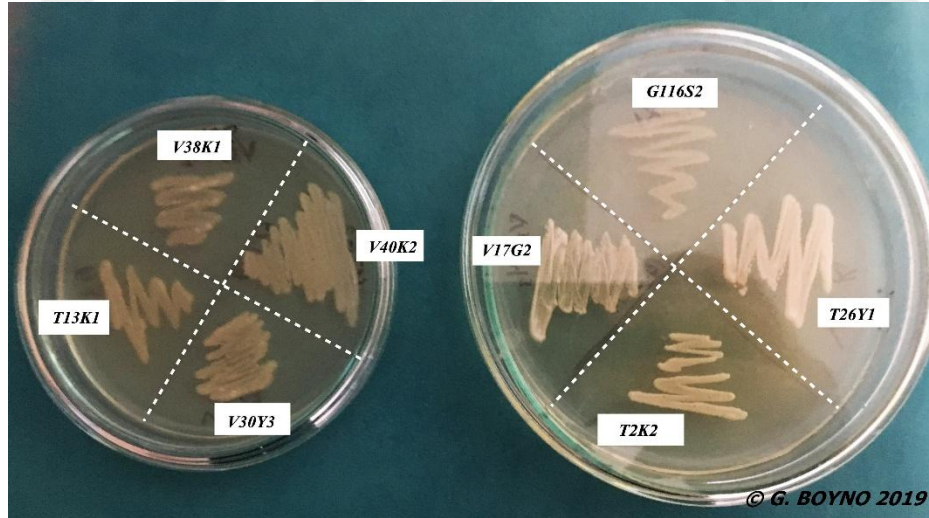
3.1.3. Biyolojik kontrol ajanları

3.1.3.1. PGPR antagonistleri

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ne ait Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan ve daha önceden Van bölgesinde çeşitli bitkilerden izole edilmiş PGPR izolatları kullanılmıştır (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1).

Çizelge 3.1. PGPR izolatlarının isimleri ve izole edildiği bitkiler

İzolat isimleri	İzole edildiği bitkiler
T ₂ K ₂	Buğday
T ₂₆ Y ₁	Sirken
G ₁₁₆ S ₂	Buğday
T ₁₃ K ₁	Cirimotu
V ₁₇ G ₂	Hıyar
V ₃₀ Y ₃	Patlıcan
V ₃₈ K ₁	Biber
V ₄₀ K ₂	Biber



Şekil 3.2. PGPR izolatlarının King's B besiyerisinde görünümü.

3.1.3.2. Fungal biyolojik kontrol ajanları

Fungal biyolojik kontrol ajanları, hem Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ne ait Mikoloji laboratuvarından, daha önceden çeşitli

konukçu x patojen sisteminde test edilmiş kültür stoklarından temin edilen *Trichoderma* türleri, hem de survey kapsamında Van ili bölgelerinden izole edilen *Trichoderma* izolatları kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. *Trichoderma* spp.'nin izole edildiği bölgeler ve izolat isimleri

İzole edilen bölgeler	İzolat isimleri
Edremit / Andaç	BKe 1
Edremit / Andaç	BKe 2
Gevaş / Atalan	GATd 2
Erciş / Kuzluca	NTC 1
Erciş / Kuzluca	NTC 2
Van / Ziraat Fakültesi*	<i>T. harzianum</i>
Van / Ziraat Fakültesi	<i>T. asperellum</i>
Van / Ziraat Fakültesi	<i>T. virens</i>

*: Van YYÜ, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümüne ait Mikoloji laboratuvarından temin edilmiştir.

3.1.3.3. AMF izolatı

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'ne ait Mikoloji laboratuvarı stoklarından daha önceden domates bitkileri üzerinde etkinliği belirlenmiş olan *Glomus mosseae* kullanılmıştır.

3.1.4. Bitki besin solüsyonları

Test bitkilerinin besin elementi ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla A ve B besin solüsyonları verilmiştir (Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4).

Çizelge 3.3. A besin solüsyonunun içeriği

A besin solüsyonu (%)*	
Azot Toplamı (N)	10.03
Amonyum (NH ₄)	1.7
Nitrat (NO ₃)	8.6
Potasyum oksit (K ₂ O)	7.5
Kalsiyum (Ca)	8.6
Demir DTPA (Fe)	0.3

*: 1 litre suya 2 ml A besin solüsyonu kullanılmıştır.

Çizelge 3. 4. B besin solüsyonunun içeriği

B besin solüsyonu (%)*	
Azot Toplamı (N)	2.1
Nitrat (NO ₃)	2.1
Potasyum oksit (K ₂ O)	6.4
Fosfor Pentaoksit (P ₂ O ₅)	11.6
Magnezyum (Mg)	1.6
Çinko (Zn)	0.03
Bor (B)	0.03
Bakır (Cu)	0.003
Molibden (Mo)	0.004
Mangan (Mn)	0.1

*:1 litre suya 2 ml B besin solüsyonu kullanılmıştır.

3.1.5. Besi ortamları

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda hem patojen izolatlarının hem de biyolojik kontrol ajanlarının izolasyonunda, tespitinde, inokulum olarak geliştirilmesinde ve daha sonraları kullanılmak üzere stok olarak saklanmasında; içerikleri Çizelge 3.5, Çizelge 3.6, Çizelge 3.7 ve Çizelge 3.8’de verilen patato dextrose agar (PDA), su agarı (WA) King’s B ve nutrient glikoz agar (NGA) besi ortamları kullanılmıştır.

Çizelge 3.5. *A.solani* izolatları besi yeri olarak kullanılan PDA ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları

1000 ml PDA besi yeri (Dhingra ve Sinclair 1985)	
Kimyasallar	Miktar
Patates	200 g
Dekstroz	20 g
Agar	20 g
121°C’de 15 dk. otoklavlandı.	

Çizelge 3.6. *A.solani* izolatları besi yeri olarak kullanılan Su Agarı ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları

1000 ml Su Agarı besi yeri (Barry ve ark. 1970)	
Kimyasallar	Miktar
Agar	15 g
121°C’de 15 dk. otoklavlandı.	

Çizelge 3.7. PGPR besi yeri olarak kullanılan King's B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları

1000 ml King's B besi yeri (King ve ark., 1954)	
Kimyasallar	Miktar
Pepton	20 g
K ₂ HPO ₄	1,5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	1,5 g
Gliserol	10 ml
Agar	16 g
121°C'de 15 dk. otoklavlandı.	

Çizelge 3.8. PGPR stoklanarak saklanmasında kullanılan NGA ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları

1000 ml NGA besi yeri (Lelliot and Stead, 1987)	
Kimyasallar	Miktar
Nutrient broth	8 g
Gliserol	20 ml
Agar	16 g
121°C'de 15 dk. otoklavlandı.	

3.1.6. Bitki yetiştirme ortamları

Çalışmada kullanılan domates tohumlarının, 4.7x4.7x6.0 cm boyutlarında gözlere sahip olan 45'lik plastik viyoller ile hastalık şiddetini belirlemek için tohum ekiminden sonra bu viyollerde geliştirilen domates fideleri 5–6 yapraklı olduğu dönemlerde şaşırtma işlemleri için 18x18 cm boyutlara sahip saksılar kullanılmıştır. Ayrıca PGPR antagonistlerinin etkisini belirlemek için de 10x8 cm boyutlarında saksılar ve diğer denemelerde ise 17x14 cm boyutlarında saksılar ile çalışmalar yürütülmüştür. Bitki yetiştirilmesi için 2:1 oranında kullanılan torf ve perlit materyallerinde ise, torfun bazı özellikleri Çizelge 3.9'da verilmiştir. Perlitin ise kimyasal kompozisyonu ağırlıkça yüzde olarak Çizelge 3.10'da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Karışım materyali olan torfun özellikleri

Torf içerikleri	Oranlar
Beyaz torf oranı	% 70
Siyah torf oranı	% 30
PH değeri	5.5-6.5
Tuz oranı	0.3 g/12 a
EC	35 mS/m
Elenmiş strüktür	İnce (0-10 mm)
Gübre içeriği	1.0 kg/m ³

Çizelge 3.10. Karışım materyali olan perlitin kimyasal kompozisyonu

Kimyasal içerikleri	Oranlar
SiO ₂	% 72-76
Al ₂ O ₃	% 11-17
K ₂ O	% 4-5
Na ₂ O	% 2.9-4
CaO	% 0.5-2
MgO	% 0.1-0.5
Fe ₂ O ₃	% 0.5-1.5
TiO ₂	% 0.03-0.2
MnO ₂	% 0.03-0.1
SO ₃	% 0-0.2
H ₂ O	% 2-7

3.1.7. Çalışma ortamları

Çalışmalar, survey sonrası *in vitro* ve *in vivo* ortamlarda gerçekleştirilmiştir.

In vitro çalışmaları Bitki Koruma Bölümü, Mikoloji ve Bakteriyoloji, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü ile Bahçe Bitkileri Bölümü Laboratuvarlarında, *in vivo* çalışmaları ise, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji iklim odalarında yapılmıştır (Şekil 3.3). İklim odaları, 24 °C sıcaklık ile yaklaşık % 65 nem ve 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan koşullarda yürütülmüştür.



Şekil 3.3. Çalışmanın yürütüldüğü iklim odası ve laboratuvarlar.

3.2. Yöntem

3.2.1. Survey çalışmaları

Yüksek lisans tez kapsamında yapılan bu çalışmanın ilk adımını survey çalışması oluşturmuştur. Survey çalışması 2018 yılı Temmuz ve Ağustos aylarında 2 defa olmak üzere Van da yoğun bir şekilde domates üretimi yapılan Gevaş, Edremit ve Erciş ilçelerde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.11). Bu ilçeler TÜİK 2017 verileri esas alınarak belirlenmiştir. Bu verilere göre, Gevaş, Edremit ve Erciş ilçelerinde toplam domates üretimi, Van'ın domates üretiminin yaklaşık % 90'ını karşılamaktadır.

Çizelge 3.11. Seçilen ilçelerin toplam ekili alanı ve ziyaretlerde bulunan toplam alan

İlçeler	Ekili Alan (da)	Surveyi Yapılan Toplam Alan (da)*
Gevaş	3855	2872
Edremit	1777	1124
Erciş	1470	1021
Toplam	7102	5017

*:Temmuz ve Ağustos aylarında ziyaret edilen yerlerin toplamı.

3.2.2. Hastalıklı veya hastalıklı olduğu şüphelenilen domates yaprak örneklerinin alınması

Gevaş, Edremit ve Erciş ilçelerinde yapılan survey çalışmalarında domates ekim alanları esas alınarak:

1 dekara kadar olan tarlaların farklı yerlerinden 10,

1 ile 5 dekara kadar olan tarlaların farklı yerlerinden 15 ve

5 dekardan fazla olan tarlaların farklı yerlerinden ise 20 *A.solani* ile infekteli veya infekteli olduğu şüphelenilen bitki yapraklarından örnekler alınmıştır (Bora ve Karaca, 1970) (Çizelge 3.12 ve Şekil 3.4). Alınan bu örnekler polietilen poşetler içerisine konulmuştur. Aynı zamanda alındığı yerin lokasyonu, alındığı tarihi ve örnek kodunu yazarak etiketler verilmiştir (Çizelge 3.12). Survey çalışması kapsamında toplanan örnekler laboratuvara getirilerek mümkün olduğunca kısa bir sürede patojen izolasyonu işlemine tabii tutulmuştur. Tabii tutulmayan örnekler ise patojen izolasyonu yapıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4. Survey kapsamında ziyaretlerde bulunan bazı domates tarlaları ve örneklerin toplanması.

Çizelge 3.12. Survey kapsamında ziyaret edilen yerlerin lokasyonları, ziyaret tarihleri, örnek kodları ve alınan örnek sayısı

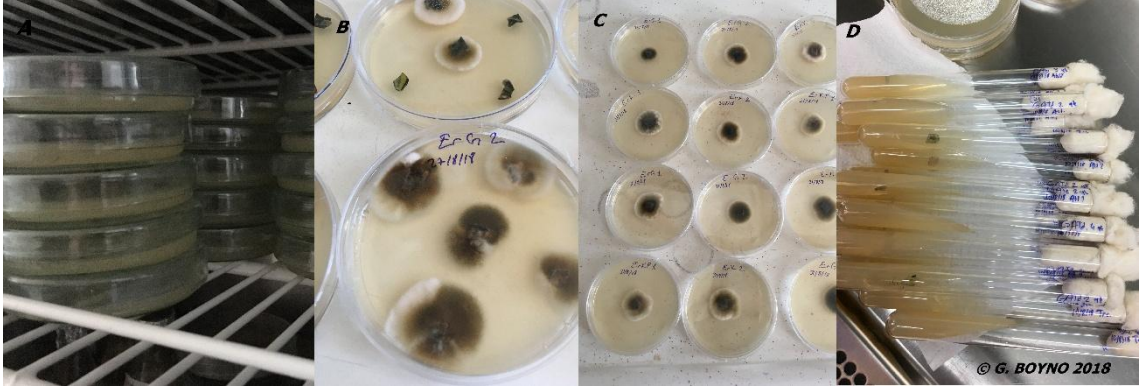
Laksayon	Tarih	Örnek kodu	Alınan örnek sayısı
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	EAb 1	20
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	EAb 2	20
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	EAb 3	20
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	EAb 4	20
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	GALc 1	15
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	GALc 2	20
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	GALc 3	20
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	GALc 4	20
Gevaş / Aladüz	04.07.2018 – 04.08.2018	GALc 5	15
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATd 1	10
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATd 2	10
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATd 3	20
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATd 4	15
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATd 5	15
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATe 1	20
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATe 2	20
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATe 3	20
Gevaş / Atalan	05.07.2018 – 05.08.2018	GATe 4	20
Gevaş / Akdamar	05.07.2018 – 05.08.2018	GAKd 1	15
Gevaş / Akdamar	05.07.2018 – 05.08.2018	GAKd 2	15
Gevaş / Elmalı	05.07.2018 – 05.08.2018	GEL 1	10
Edremit / Andaç	06.07.2018 – 06.08.2018	VTE 1	20
Edremit / Andaç	06.07.2018 – 06.08.2018	VTE 2	20
Edremit / Andaç	06.07.2018 – 06.08.2018	EAa 1	20
Edremit / Andaç	06.07.2018 – 06.08.2018	EAa 2	20
Edremit / Andaç	06.07.2018 – 06.08.2018	EAa 3	20
Edremit / Andaç	06.07.2018 – 06.08.2018	EAa 4	20
Edremit / Enginsu	06.07.2018 – 06.08.2018	EE 1	15
Edremit / Enginsu	06.07.2018 – 06.08.2018	EE 2	15
Edremit / Enginsu	06.07.2018 – 06.08.2018	EE 3	10
Edremit / Esentepe	07.07.2018 – 07.08.2018	EEs 1	10
Edremit / Esentepe	07.07.2018 – 07.08.2018	EEs 2	20
Edremit / Merkez	07.07.2018 – 07.08.2018	EMr 1	10
Edremit / Merkez	07.07.2018 – 07.08.2018	EMr 2	10
Edremit / Süphan	07.07.2018 – 07.08.2018	ESp 1	20
Edremit / Süphan	07.07.2018 – 07.08.2018	Esp 2	20
Erciş / Göze	08.07.2018 – 09.08.2018	ErG 1	20
Erciş / Göze	08.07.2018 – 09.08.2018	ErG 2	20
Erciş / Göze	08.07.2018 – 09.08.2018	ErG 3	10
Erciş / Göze	08.07.2018 – 09.08.2018	ErG 4	10
Erciş / Kocapınar	08.07.2018 – 09.08.2018	ErKP 1	20
Erciş / Kocapınar	08.07.2018 – 09.08.2018	ErKP 2	20
Erciş / Kocapınar	08.07.2018 – 09.08.2018	ErKP 3	15
Erciş / Kuzluca	09.07.2018 – 10.08.2018	ErK 1	20
Erciş / Kuzluca	09.07.2018 – 10.08.2018	ErK 2	20
Erciş / Kuzluca	09.07.2018 – 10.08.2018	ErK 3	15
Erciş / Kuzluca	09.07.2018 – 10.08.2018	ErK 4	10

3.2.3. Hastalıklı domates yapraklarından *A. solani* izolasyonu, *A. solani* izolatlarının tanımlanması ve muhafazası

Survey çalışması sonucu toplanan tüm örnekler laboratuvara getirilerek *A. solani* patojeni ile bulaşık veya bulaşık olduğu şüphelenilen bitki yaprakları öncelikle çeşme suyu ile yıkanmıştır. Bu yapraklar üzerinde hastalıklı veya hastalıklı olduğu şüphelenilen belirtilerden, sağlam dokuyu da içine alacak şekilde 2 - 10 mm büyüklüğünde parçalara ayrılmıştır. Bu parçalar yüzey sterilizasyonu için % 1'lik NaOCI (Sodyum Hipoklorid) çözeltisinde 2 dakika bekletilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra sterilantı uzaklaştırmak üzere 2 defa sdH₂O (steril distile su) ile 1'er dakika durulanmıştır. Steril kabinde yapılan bu işlemlerden sonra parçalar kurutma kağıdı yardımıyla yaklaşık 1 saat kadar nemini alacak şekilde bekletilmiştir. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra bu parçalar içinde streptomisin sülfat (100 mg/l) bulunan PDA besi ortamlarının her birine 3 - 5 parça konularak, 3'er tekerrürlü olacak şekilde ekimi yapılmıştır (Şekil 3.5). Ekimi yapılan petrilerin üzerine izolat kodu ile ekimin yapıldığı tarih yazılarak 24±2 °C'li inkübatöre konulmuştur. İnkübatörde 4 – 7 gün bekledikten sonra, petrilerde gelişen koloniler mikroskop altında gözlemlenmiştir. Gözlemlenen bu koloniler içerisinde *Alternaria* spp. fungusuna ait olan koloniler, steril bisturi yardımıyla PDA'lı ve Su Agar'lı besi ortamlarına steril kabin içerisinde ekimi yapılarak bir alt kültüre alınıp inkübatöre konulmuştur (Şekil 3.6). İnkübatörde gelişen bu koloniler daha sonra ışık mikroskopları altında *A. solani*'ye ait yapılar makroskobik ve mikroskobik gözlemlere dayalı olarak Prof. Dr. Semra DEMİR ve Dr. Öğr. Üyesi Emre DEMİNER DURAK tarafından incelenip, EPPO Global Database (2019) tür tanımlamasına göre tipik *A. solani* sporulasyon özelliği gösteren izolatlar belirlenmiştir. Belirlenen bu izolatlar, 16x160 mm'lik cam tüplerde hazırlanan PDA'lı eğik besi ortamlarında +4 °C'de buzdolabında daha sonra kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.5. Toplanan örneklerin izolasyonu A. toplanan örnekler, B. örneklerin parçalarına ayrılması, C. siterilizasyon işlemi, D. kurutma işlemi E. PDA ve Su agarı besi ortamlarına ekimi.



Şekil 3.6. Gelişen *A. solani* izolatlarının belirlenmesi ve muhafazası A. ekimi yapılan örneklerin inkübatörde gelişime bırakılması, B. gelişen *Alternaria* kolonilerinin görünümü, C. *A. solani* olarak belirlenen izolatların alt kültüre alınması, D. *A. solani* izolatlarının eğik ağara konularak muhafaza edilmesi.

3.2.4. *A. solani* izolatlarının patojenite testi

Patojenite testi kapsamında yapılan çalışmalarda, 16-014 F1 hibrit domates çeşidi tohumları iklim odalarında viyollerde geliştirilmek üzere ekimi yapılmıştır. Tohum ekiminden yaklaşık 2 hafta sonra ise gelişen fideler 18x18 cm boyutlara sahip saksılara şaşırtılmıştır (Şekil 3.7). Bu süre içinde bitkilere A besin solüsyonu ile B besin

solüsyonları hazırlanarak 1 hafta aralıklarla her bitkiye 50ml olacak şekilde topraktan uygulanmıştır.

Survey kapsamında belirlenen *A. solani* izolatları, bölgeleri temsil etmek üzere, içlerinden 10 adet izolat seçilmiştir. Seçilen bu izolatlar +4 °C’de muhafaza edilen eğik agarlardan alınarak PDA’lı besi ortamlarına ekimi yapıp, inkübatöre gelişmeleri için bırakılmıştır. 10 gün sonra gelişen genç *A. solani* izolatlarından 1×10^6 konidi/ml su içeren 50 ml’lik inokulum spor süspansiyonları hazırlanmıştır (Şekil 3.7). Hazırlanan bu inokulum süspansiyonları el spreyi ile bitkilere yeşil aksamdan püskürtülerek uygulanmıştır (Şekil 3.7). İnokulasyon işlemi sırasında domates bitkilerinin bulunduğu saksılara izolat isimleri yazılarak etiketler yapıştırılmış, aynı zamanda uygulama tarihleri not edilmiştir. Çalışma 3 tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüş olup, 24 ± 2 °C sıcaklık, % 50-60 nem, 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan iklim odasında bitkiler gelişime bırakılmıştır. Patojen uygulamasından sonra 3., 4. ve 5. haftalarda oluşan belirtiler 0 – 4 skalası ile değerler oluşturulmuş ve bu değerler daha sonra Townsend-Heuberger formülü yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür (Townsend ve Heuberger, 1943).

Çalışmada kullanılan 0 – 4 skala değerleri (Şekil 3.8) ve Townsend-Heuberger hastalık şiddeti (%) formülü aşağıda verilmiştir:

- 0: Yapraklarda belirti yok
- 1: Yaprakların % 25’i *A. solani* ile bulaşık
- 2: Yaprakların % 50’si *A. solani* ile bulaşık
- 3: Yaprakların % 75’i *A. solani* ile bulaşık
- 4: Yaprakların % 100’ü *A. solani* ile bulaşık



Şekil 3.7. Seçilen *A. solani* izolatlarının inokulasyonu A. viyollerde bitkinin gelişimi, B. bitkinin saksılara şaşırtılması, C. seçilen *A. solani* izolatlarından hazırlanan inokulum süspansiyonları D. inokulum süspansiyonlarının bitkilere uygulanması.



Şekil 3.8. Patojenite testi için kullanılan 0-4 skalasını temsil eden yaprakların görünümü.

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\Sigma (\text{Skala değeri} \times \text{Skalada değerlendirilen bitki sayısı})}{\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100 \quad (3.1)$$

Yapılan patojenite testi sonunda hastalık şiddetine (%) göre en virüent *A.solani* izolatu tespit edilmiştir. Daha sonra bu izolat 16x160 mm'lik cam tüplerde hazırlanan PDA'lı eğik besi ortamlarına alınarak daha sonra ki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.5. Patojen re-izolasyonu

Patojenite testi sonrasında re-izolasyon yapılmıştır. Bu kapsamda en virüent olarak belirlenen izolatla infekteli domates yaprakları tesadüfi olarak seçilmiştir. Seçilen bu yapraklar laboratuvar ortamına getirilerek, bölüm 3.2.3'de bahsedilen yöntemlerden geçirilmiştir. Gelişen koloniler ışık mikroskobu altında incelenerek *A.solani* izolatına ait olduğu saptanmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. En virüent olarak seçilen izolatın re-izolasyonu A. tesadüfi olarak yaprak örneklerinin toplanması, B. parçalara ayrılması, C. parçaların gerekli sterilizasyon işlemlerinden geçirilip ekimi, D. tespit edilen *A. solani* izolatlarının alt kültüre alınması.

3.2.6. Etkili *Trichoderma* spp. belirlenmesi

Bu çalışmada, patojenite testi sonrasında belirlenen en virüent *A. solani* izolatına karşı, 5'i survey kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda, bölüm 3.2.3.'de anlatıldığı gibi *A. solani* izolasyonu sırasında izole edilerek kültüre alınmış olup, toplamda 8 *Trichoderma* izolatu, fungal biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılmıştır. En etkili *Trichoderma* spp.'yi belirlemek için *in vitro* koşullarda 5 tekerrürlü olarak yapılan bu çalışmada, ikili kültür tekniğinden yararlanılmıştır (Şekil 3.10). Bu teknik kapsamında en virüent *A. solani* izolatu ile *Trichoderma* spp., PDA besi ortamlarında aralarında 6 cm olacak şekilde karşılıklı olarak ekimi yapılmıştır. Kontrol amaçlı ise yine PDA'lı besi ortamlarına her bir fungustan tek olarak ekim gerçekleştirilmiştir. Bu işlemlerden sonra petriler, 24 ± 2 °C sıcaklıkta ki inkübatörde 4 - 7 gün kadar gelişime bırakılmıştır. Daha sonra antagonizim derecesini belirlemek için 1-5 skala değeri (Bell ve ark., 1982; Melo ve Faul, 2000) ve *A. solani* izolatının gelişiminin engellemesini belirlemek için de inhibisyon oranı formülü (Royse ve Ries, 1978) kullanılmıştır. Bu işlemler sonucunda en virüent *A. solani* izolatına karşı en etkili fungal biyolojik kontrol ajanı olan *Trichoderma* izolatu saptanmıştır. En etkili olarak saptanan bu fungal kontrol ajanı 16x160 mm'lik cam tüplerde hazırlanan PDA'lı eğik besi ortamlarında +4 °C'de buzdolabında daha sonra kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

İkili kültür tekniği kapsamında atagonizmin derecesini belirlemede kullanılan 1-5 skala değerleri ve inhibisyon oranı formülü aşağıda verilmiştir:

- 1: Biyolojik kontrol ajanının % 100 patojen üzerinde gelişimi
- 2: Biyolojik kontrol ajanının % 75 patojen üzerinde gelişimi
- 3: Biyolojik kontrol ajanının % 50 patojen üzerinde gelişimi
- 4: Patojenin. % 75 biyolojik kontrol ajanı üzerinde gelişimi
- 5: Patojenin. % 100 biyolojik kontrol ajanı üzerinde gelişimi

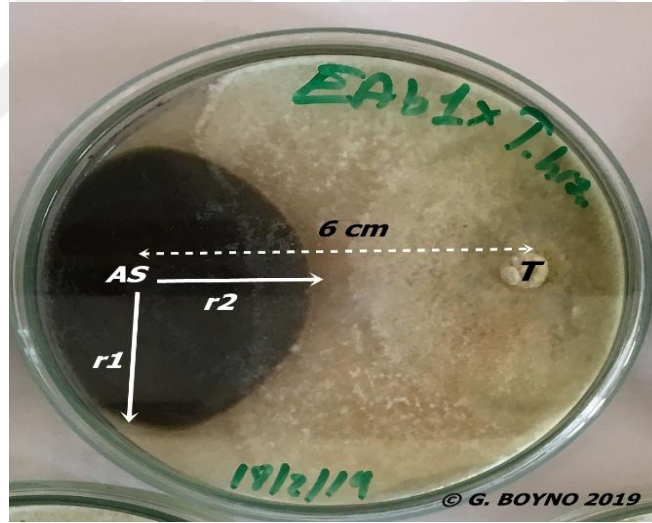
$$RI = (r_1 - r_2) / r_1 \times 100 \quad (3.2)$$

Burada;

RI (İnhibisyon Oranı %): Büyümenin biyolojik kontrol ajanları tarafından engellenmesi

r_1 : Patojenin koloni yarıçapı

r_2 : Patojenin fungal ajan yönündeki büyüme yarıçapı

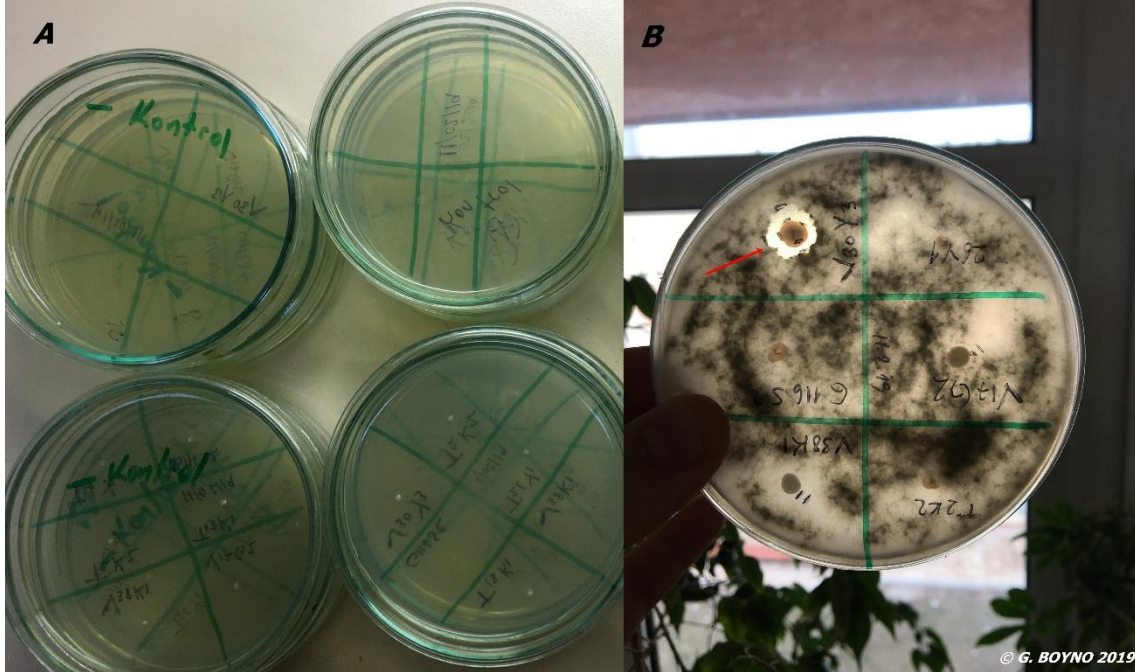


Şekil 3.10. İkili kültür tekniği.

3.2.7. PGPR izolatının belirlenmesi

Çalışmanın diğer bir adımını oluşturan, en virüent *A.solani* izolatına karşı en etkili PGPR izolatının belirlenmesinde, Van bölgesinde değişik bitkilerden izole edilen 8 PGPR izolatı kullanılmıştır. Bu PGPR izolatlarından en etkili olanını saptamak amacıyla hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarında çalışmalar yürütülmüştür. *In vitro* koşullarda yapılan çalışmalarda en virüent *A.solani* izolatından hemositometre (thoma lamı) yardımı

ile 1×10^6 konidi/ml olacak şekilde inokulum süspansiyonu hazırlanmıştır. Daha sonra PDA'lı besi ortamları ile hazırlanan petrilere otomatik pipet ile inokulum süspansiyonundan 200 μ l uygulanmış olup petriye homojen bir şekilde karıştırılarak bir süre bekletilmiştir. Kontrol amaçlı ise petrilere yine 200 μ l sdH₂O uygulanmıştır. Bu işlemlerden sonra petriler 6 eşit alanın oluşturulmasını sağlayacak şekilde kalemlerle çizilmiş olup, belirlenen PGPR izolatlarının ekimi yapılarak inkübatöre konulmuştur (Şekil 3.11). İnkübatörde 2 gün bekledikten sonra PGPR izolatlarının *A.solani* izolatına karşı antagonistik etkileri gözlemlenerek oluşturdukları zonlar cetvel yardımıyla ölçülmüştür (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. PGPR izolatlarının patojen izolata *in vitro*'da etkisi A. petrilerin 6 eşit bölgeye ayrılması ve PGPR izolatlarının uygulanması, B. oluşan zonlar.

In vivo koşullarında yapılan çalışmalar iki bölüme ayrılmıştır. İlk olarak, belirlenen PGPR izolatlarının domates bitkisine olan etkisine bakılmıştır. Bu amaçla 16-014 F1 hibrit domates çeşidi tohumları, 24 ± 2 °C sıcaklık, % 50-60 nem, 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan iklim odasında viyollerde geliştirilmek üzere ekimi yapılmıştır. Gelişen fidelerin gerçek yaprakları çıktıktan sonra PGPR antagonistlerinden 1×10^8 cfu/ml inokulumlar hazırlanarak her bitkiye 10 ml olacak şekilde topraktan içirme yöntemiyle ilk uygulama, ilk uygulamadan 5 gün sonra da ikinci

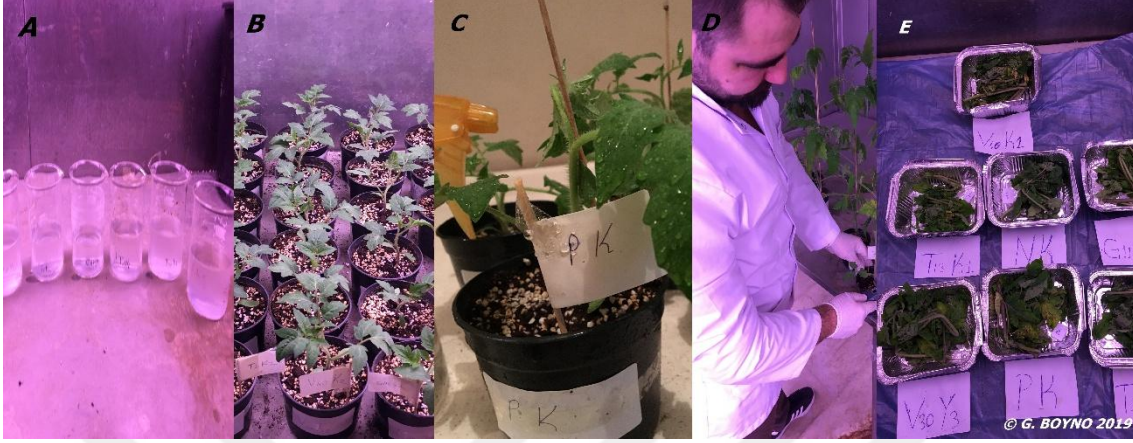
uygulama yapılmıştır. Kontrol gruplarına ise saf su uygulaması uygulanmıştır. İki hafta sonra bitkiler hasat edilerek morfolojik gelişim parametreleri (bitki sürgün ile kök yaş ve kuru ağırlığı, bitki boyu) değerlendirilmiştir (Şekil 3.12). Hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda yapılan bu çalışmalar sonucunda en etkili 5 PGPR izolatı seçilerek ikinci bölüme geçilmiştir.



Şekil 3.12. PGPR izolatlarının bitkilere etkisi A. PGPR izolatlarının bitkilere olan etkisinin genel görünümü, B. bitki sürgün yaş ağırlığı, C. bitki boyu ölçümü D. bitkinin etüvde kurutulması.

İkinci bölümde en virulent *A.solani* izolatına karşı, seçilen 5 PGPR izolatlarının etkisine bakılmıştır. Bu amaçla 16-014 F1 hibrit domates çeşidi tohumları iklim odalarında viyollerde geliştirilmek üzere ekimi yapılmıştır. Gerçek yapraklar çıktıktan sonra saksılara şaşırtılmıştır. Şaşırtma işleminden sonra gelişen fidelere PGPR antagonistlerinden 1×10^8 cfu/ml inokulumlar hazırlanarak her bitkiye 15 ml olacak şekilde topraktan içirme yöntem ile ilk uygulama, ilk uygulamadan 5 gün sonra da ikinci uygulama yapılmıştır (Şekil 3.13). Daha sonra en virulent seçilen patojen izolattan 1×10^6 konidi/ml olacak şekilde inokulum süspansiyonu hazırlanarak el spreyi ile bitkilere uygulanmıştır (Şekil 3.13). Ayrıca sadece hastalık uygulanan pozitif kontrol ile hiçbir uygulama yapılmayan negatif kontrol olmak üzere iki kontrol grubu da belirlenmiştir. Uygulama işlemlerinden sonra 4. hafta da gözlemlenen belirtiler bölüm 3.2.4' de olduğu gibi 0 – 4 skala değerleri oluşturularak, Townsend-Heuberger formülü yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür (Townsend ve Heuberger, 1943). Ayrıca bitkiler hasat edilerek morfolojik parametre özellikleri değerlendirilmiştir (Şekil 3.13). Bu işlemlerden sonra *A.solani* izolatına karşı en etkili PGPR izolatı belirlenmiş olup,

NGA besi yerine alınarak +4 °C’de buzdolabında daha sonra kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.13. PGPR ve patojen izolatın uygulanması ve değerlendirilmesi A. seçilen PGPR izolatlarından inokulum hazırlanması, B. inokulumun bitkilere uygulanması, C. patojen izolatın uygulanması D. hastalık şiddetinin belirlenmesi, E. bitki gelişim parametrelerinin ölçümü.

3.2.8. Uygulama gruplarının belirlenmesi

Yüksek lisans tez kapsamında yürütülen bu çalışmanın temelini oluşturan ve bölüm 3.2.4’de bahsedilen yöntemlerle en virüent *A. solani* izolatına karşı, bölüm 3.2.6’da ve bölüm 3.2.7’de bahsedilen yöntemlerle en etkili olarak belirlenen biyolojik kontrol ajanları ile AMF türü olan *G. mosseae* kullanılmıştır. Bu kapsamda *A. solani* izolatına karşı, belirlenen biyolojik mücadele ajanları kullanılarak değişik kombinasyonlarda uygulama grupları oluşturulmuştur. Bu uygulama grupları Çizelge 3.13.’de gösterildiği gibi tekli, 2’li, 3’lü ve 4’lü kombinasyonlar olarak belirlenmiştir.

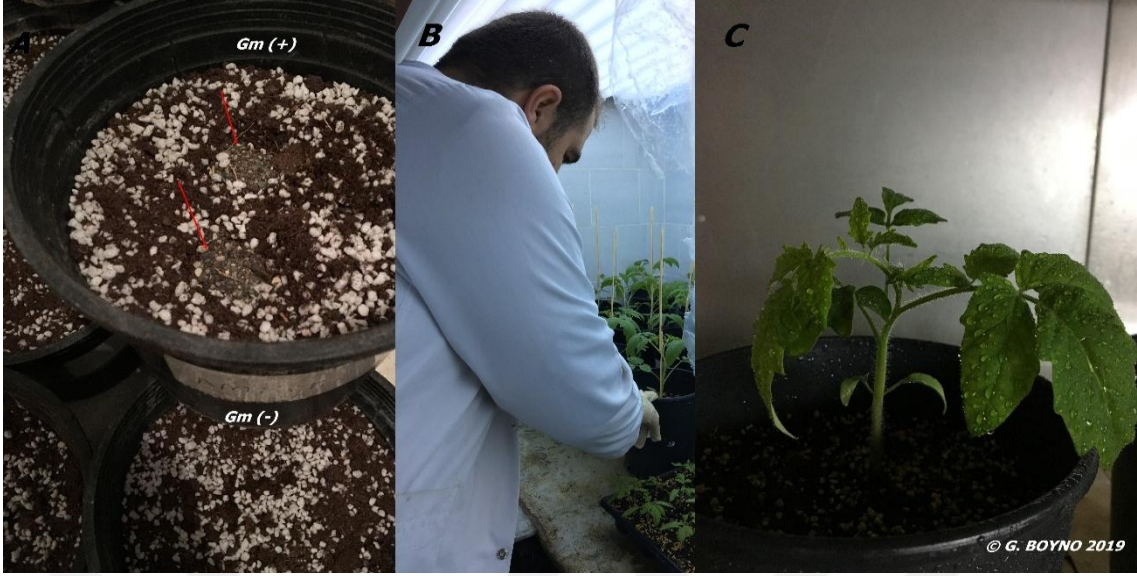
Çizelge 3.13. Çalışmada kullanılan uygulama grupları

Tekli Kombinasyonlu Uygulama Grupları	2’li Kombinasyonlu Uygulama Grupları	3’lü Kombinasyonlu Uygulama Grupları	4’lü Kombinasyonlu Uygulama Grubu
K(+)*	AS + A	AS + Tr + A	AS + Tr + P + A
A	AS + P	AS + P + A	
Tr	AS + Tr	AS + Tr + P	
P			
K(-)			

AS: *A.solani* A: AMF Tr: *Trichoderma* P: PGPR K(-): Negatif Kontrol K(+): Pozitif Kontrol
*: Pozitif kontrolde sadece *A. solani* izolatı kullanılmıştır.

3.2.9. Biyolojik kontrol ajanlarının *A. solani*'nin hastalık şiddeti üzerine etkisinin belirlenmesi

İklim odalarında yapılan çalışmalarda, 16-014 F1 hibrit domates çeşidi tohumları 17x14 cm boyutlarında saksılarda, AMF türü olan *G. mosseae* (+) ve *G. mosseae* (-) olacak şekilde ekimi yapılmıştır (Şekil 3.14). Daha sonra gelişen fidelerin ilk gerçek yaprakları çıktıktan sonra bölüm 3.2.6'da anlatıldığı gibi belirlenen en etkili ve bir haftalık genç *Trichoderma* spp. izolatından 1×10^6 spor/ml inokulum süspansiyonu hazırlanarak, her bitkiye 30 ml olacak şekilde topraktan içirme yöntemi ile uygulanmıştır (Şekil 3.14). *Trichoderma* spp. uygulamasından 5 gün sonra, bölüm 3.2.7.'de anlatıldığı gibi en etkili olan ve King's B besisi yerinde 24 saat gelişen genç PGPR antagonistinden 1×10^8 cfu/ml inokulum süspansiyonu hazırlanarak yine her bitkiye 30 ml olacak şekilde topraktan içirme yöntemi ile 5 gün arayla 2 defa uygulanmıştır. 5 tekerrürlü olarak yürütülen deneme de fidelerin ilk gerçek yapraklarını çıkardıktan 3 hafta sonra ise, bölüm 3.2.4.'de anlatıldığı gibi en virulent olarak belirlenen ve bir haftalık genç *A. solani* izolatından 1×10^6 konidi/ml inokulum süspansiyonu hazırlanıp bitkilere el spreyi ile püskürtülerek inokule edilmiştir (Şekil 3.14). Yapılan bu çalışmada ayrıca pozitif kontrole sadece patojen uygulaması yapılmış olup, negatif kontrolde ise sadece saf su uygulaması yapılmıştır. *A. solani* izolatının inokulasyon işleminden sonra 3., 4. ve 5. haftalarda bitki yapraklarında oluşan belirtiler gözlemlenerek 0 – 4 skalası ile değerleri oluşturulmuştur ve eşlenik 3.1'de verilen Townsend-Heuberger formülü yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür (Townsend ve Heuberger, 1943) (Şekil 3.15). Ayrıca aynı haftalarda yaprak klorofil yoğunluğu, klorofil ölçme aleti (SPAD) yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.14. Biyolojik kontrol ajanlarının ve patojen izolatın uygulanması A. AMF uygulaması, B. fungal biyolojik kontrol ajanı uygulaması, C. patojen izolat uygulaması.



Şekil 3.15. Hastalık şiddeti ve toplam klorofil yoğunluğu ölçümü A. skala değerlendirilmesi, B. görülen belirtiler, C. SPAD ile toplam klorofil yoğunluğunun ölçümü.

Yapılan bu çalışmada 8 haftalık gelişim periyodu sonrası bitkiler hasat edilerek, morfolojik parametrelerinin ölçümü, toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitelerinin saptanması, bitki yaprak sayısı ve alanlarının belirlenmesi ile fosfor değerleri gibi kriterler değerlendirilmiştir. Ayrıca AMF uygulanan bitkilerin kök ve topraklarından spor sayımı yapılarak kolonizasyon ve spor yoğunlukları saptanmıştır.

3.2.10. Morfolojik parametre ölçümleri

3.2.10.1 Bitkinin kök ve gövde uzunluğunun ölçümü (cm)

Test bitkisi olan domatesin 8 haftalık gelişim periyodu sonucunda, bitkilerin toprakla kesiştiği kısımdan bitkinin büyüme noktasına kadar olan kısım şerit metre ile ölçerek bitki uzunluğu belirlenmiştir. Kök uzunluğu ise toprakla kesişen kısımdan kökün dik olarak ilerlediği en uzun kök bölgesinin yine şerit metre ile ölçerek tespit edilmiştir (Şekil 3. 16).



Şekil 3.16. Bitkinin gövde ve kök uzunluğu ölçümü.

3.2.10.2. Bitkilerde yaş ve kuru ağırlıklarının belirlenmesi (g)

Çalışma kapsamında yetiştirilen bitkiler 8 haftalık gelişim periyodunu tamamladıktan sonra kök boğazından kesilip hassas terazide tartılarak yaş ağırlıkları elde edilmiştir (Şekil 3. 17). Kök kısmı ise torf ve perlitten oluşan karışım materyalinden temizlemek için kökler zarar görmeyecek şekilde çeşme suyunda yıkanmıştır. Bu işlemten sonra köklerin nemini alması için kurutma kağıdında bir süre bekletip hassas terazide tartarak ağırlıkları belirlenmiştir.

Kök ve yeşil aksamın yaş ağırlıkları alındıktan sonra alüminyum folyo kaplara konularak 70 °C’de 48 saat süresince etüvde kurutulup, tartılarak kuru ağırlıkları (g) elde edilmiştir (Kacar, 1984) (Şekil 3. 17).



Şekil 3.17. Bitkinin yaş ve kuru ağırlıklarının ölçümü A: bitkinin sürgün ve kök yaş ağırlığı ölçümü, B. etüvde kurutma işlemi, C. bitkinin sürgün ve kök kuru ağırlığı ölçümü.

3.2.10.3. Bitkinin yaprak sayısının (bileşik yaprak sayısı/bitki), yaprak alanının (cm²) ve sürgün çapının (mm) belirlenmesi

Deneme kapsamında 8 haftalık gelişme periyodunu tamamlayan domates bitkilerinin her bir bileşik yaprakları sayılarak bileşik yaprak sayısı/bitki olarak sonuçlar elde edilmiştir (Kuşvuran, 2010; Kabay, 2014) (Şekil 3.18).

Yaprak alan hesabı ise domates bitkisinin tüm yaprakları taşınabilir yaprak alan ölçer aleti (LI-3000CAP model) ile her bir bitkinin toplam yaprak alanını hesaplayarak sonuçlar cm² olarak belirlenmiştir (Şekil 3.18).

Sürgün çapı dijital kumpas yardımıyla bitki gövdesinin toprakla kesiştiği kısımdan ölçülerek mm olarak belirlenmiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Bitkinin yaprak sayısı, alanı ve sürgün çapının ölçümü A. bileşik yaprak sayımı, B. taşınabilir yaprak alan ölçer aleti ile toplam yaprak alanının ölçümü, C. dijital kumpas ile sürgün çapının ölçümü.

3.2.11. Toplam fenolik madde miktarının (%) ve antioksidan aktivitesinin (%) belirlenmesi

Gelişim periyodunu tamamlayan domates bitkisinin her birinden üstten 4. bileşik yapraklarından 1 g örnek alınmıştır. Bu örnekler falkon tüplere konularak üzerlerine 4 ml metanol eklenip 2 dakika boyunca homojenizatör (Ika Ultra-Turrax T20 Basic, Almanya) ile orta hızda homojenize edilmiştir (Şekil 3.19). Homojenize olan örnekler +4°C’de buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra bu örneklerin katı ve sıvı kısmının ayrılması amacıyla 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir (Şekil 3.19). Santrifüj işlemi bittikten sonra sıvı kısımdan yaklaşık 2 ml olacak şekilde epondorf tüplere otomatik pipet yardımıyla aktarılarak Şekil 3.19’da görüldüğü gibi ekstraktlar hazırlanmış ve -80 °C buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.19. Bitki ekstraktlarının hazırlanması A. bitki yapraklarının muhafazası, B. örneklerin homojenizatörde parçalanması C. parçalanmış örneklerin santrifüj edilmesi, D. ekstrakt kısmının alınması, E. ekstraktların tüplere aktarılıp muhafazası.

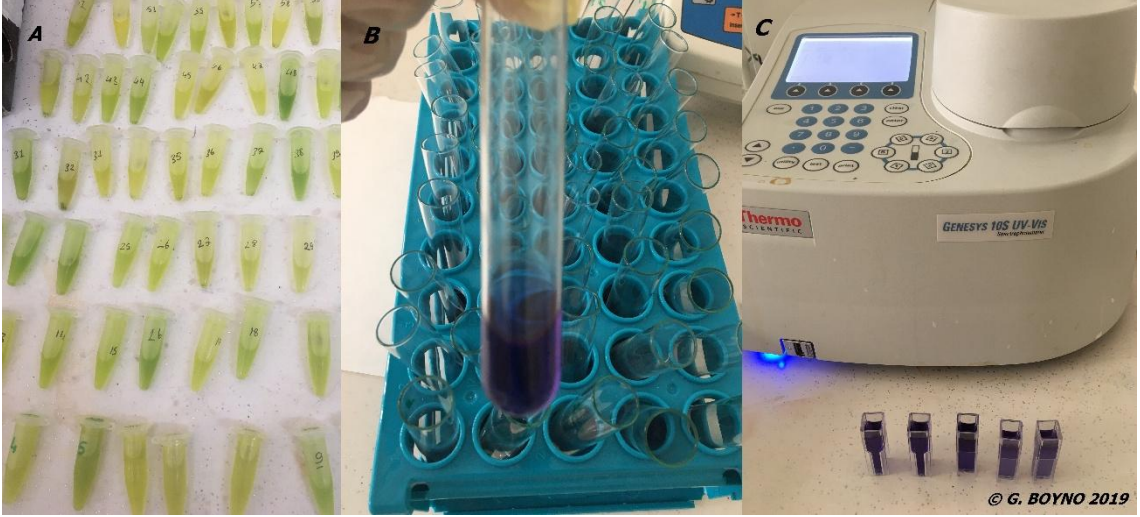
Toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu kalibrasyon yöntemi ile saptanmıştır (Swain ve Hillis, 1959). Bu yöntemde öncelikle toplamda 100 örneği karşılayacak şekilde 1 ml Folin-Ciocalteu ve üzerine 9 ml saf su ekleyerek çözelti hazırlanıp falkon tüpe konmuştur. Bu tüp alüminyum folyo ile sarılarak muhafaza edilmiştir. Bu işlemlerden sonra önceden hazırlanmış olan ekstrakt örneklerinden 150 µl alınıp cam tüplere aktarılmıştır (Kör olarak hazırlanan solüsyonda ise 150 µl ekstrakt yerine saf su kullanılmıştır) (Şekil 3.20). Bunun üzerine 2400 µl saf su ve 150 µl falkon tüpte hazırlanan Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenerek vortexte 30-40 saniye kadar karıştırılmıştır. Bu işlemlerden sonra 10 gr karbonata 50 ml saf su ekleyerek bir gün boyunca +4 °C'de dibe çökmesi için bekletilmiş % 20'lik Sodyum karbonattan (Na_2CO_3), 300 µl ekleyerek karanlık ortamda 30 dakika kadar durmuştur. Bu şekilde hazırlanan çözeltilerin spektrofotometre (VarianBio 100, Avustralya) 725.0 nm ve 700.0 nm dalga boylarında absorbansları okunarak, toplam fenolik madde miktarı sonuçları elde edilmiş ve % olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.20).



Şekil 3.20. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi A. bitki ekstraktlarının cam tüplere aktarımı, B. çözeltilerin eklenmesi C. spektrofotometrede okuma işlemi, D. spektrofotometre cihazında sonuçların eldesi.

Toplam antioksidan miktarının belirlenmesinde FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) yöntemi kullanılmıştır (Benzie ve Strain, 1996). FRAP yöntemi düşük pH'larda ferrik tripiridiltiazin (Fe^{3+} -TPTZ) antioksidanların etkisiyle ferröz tripiridiltiazine (Fe^{2+} -TPTZ) indirgenmesi olayıdır. Bu yöntemde ilk çözelti olarak Asetate bufferdan 1.55 g tartılarak 0.25 l saf su eklenmiştir. Üzerine 8 ml glacial asetik asit eklenerek 0.5 l'ye tamamlanmıştır. İkinci çözelti olarak seyreltik 40 nM HCl asitten 0.332 ml ölçülerek 100 ml'ye tamamlanmış ve daha sonra TPTZ (2,4,6 Tri (2-prdidyl)-s-triazin)'den 0.155 g tartılıp üzerine 50 ml eklenmiştir. Son çözelti olarak Ferric Klorür (2 nM)'den 0.270 g tartılıp 50 ml saf su eklenerek hazırlanmıştır. En son işlemde ise hazırlanan bu çözeltilerden 250 ml ilk çözelti ile 25'er ml ikinci ve üçüncü çözeltiler bir beherde karıştırılıp, 37 °C'de su banyosunda 30 dakika bekletilerek FRAP working solüsyonu hazırlanmıştır.

Antioksidan aktivitesini saptama işleminde 150 µl ekstrakt örneklerinden alınarak cam tüplere aktarılıp üzerine 2850 µl FRAP working solüsyonu eklenmiştir. Bu karışım 25 °C'de 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Bu şekilde hazırlanan çözeltilerin spektrofotometre (VarianBio 100, Avustralya) 593.0 nm dalga boylarında absorbansları okunarak, toplam antioksidan aktivitesi saptanmış ve % olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. Toplam antioksidan aktivitesinin belirlenmesi A. bitki ekstraktları, B. cam tüplere çözeltilerin eklenmesiyle oluşan görünüm, C. spektrofotometrede okuma işlemi.

3.2.12. Fosfor analizi

Hasat edilen bitkiler yaş ağırlıkları alındıktan sonra 70 °C’de 48 saat etüvde bekletilerek kurutulmuştur. Kuruyan bu yeşil aksamalar tartıldıktan sonra öğütme makinasında öğütülmüştür (Şekil 3.22). Öğütülen bu örneklerden fosfor analizi için 0.5 g alınarak krozelere konulmuştur. Daha sonra örneklerin bulunduğu krozelere 1ml etil alkol ekleyerek ön yakma işlemine tabii tutulmuştur (Şekil 3.22). Bu işlemden sonra krozeler kül fırınına yerleştirilmiştir (Şekil 3.22). Kül fırında yakma işlemi tamamlandıktan sonra örnekler çıkartılarak üzerlerine 4 ml hidroklorik asit solüsyonu eklenmiştir. Ekleme işlemi tamamlandıktan sonra örnekler sıcak hat platelerine bırakılarak 80 – 90 °C’de yaklaşık 15 – 20 dakika bekletilmiştir (Şekil 3.22). Buradan alınan örnekler balon jodelere süzülüp saf su ile 50 ml olacak şekilde tamamlanarak ekstrakt kaplarına aktarılmış ve üzerlerine 5 damla Toluene eklenmiştir (Şekil 3.22).



Şekil 3.22. Fosfor analizi işlemi A. kurutulmuş örneklerin parçalanması, B. ön yakma işlemi, C. kül fırınında yakma, D. sıcak hatta bekletme, E. balon jojelerde süzme işlemi, F. süzüklerin ekstrakt kaplarına toplanması.

Fosfor okuma işleminde, Toluene eklenmiş örneklerde 1 ml cam tüplere alınmış ve üzerine 4 ml saf su dispanser yardımıyla aktarılmıştır. Bu işlemlerden sonra yine bu tüplerin üzerine 1 ml barton çözeltisi eklenip, tekrardan 4 ml saf su koyarak 10 ml'ye tamamlanmıştır (Şekil 3.23). Yaklaşık 15 dakika bekleterek sarı renk oluşumu gözlemlenmiş ve ardından hazırlanan bu preparat 430 nm dalga boyunda P okuması yapılarak sonuçlar ppm olarak elde edilmiştir (Şekil 3.23). P okuması yapıldıktan sonra elde edilen değerler aşağıdaki formülle* % olarak hesaplanmıştır.

$$*\% P_{ppm} = \frac{(AOD - K\ddot{o}r) \times Kf \times Sf}{10000} \quad (3.3)$$

Kör: 0.008 ppm

AOD: Örnek için okunan değer (ppm)

Kf: Kurve faktörü

Sf: Seyreltme faktörü



Şekil 3.23. Fosfor okuma işlemi A. ekstrakt kaplarında bulunan örneklere çözeltilerin eklenmesi, B. cam tüplere aktarılan örneklerde sarı renk görülmesi, C. spektrofotometrede okuma işlemi.

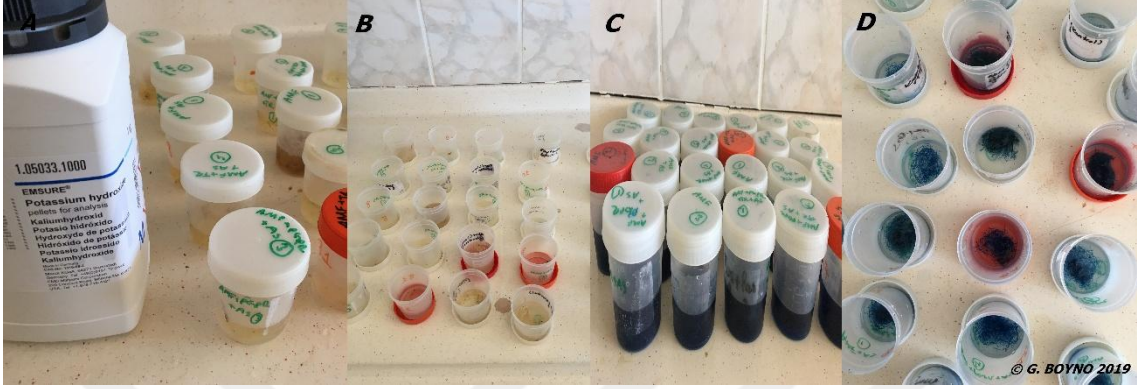
3.2.13. AMF kolonizasyon yoğunluklarının belirlenmesi

3.2.13.1. AMF kök kolonizasyon yoğunluğunun belirlenmesi

Boyu ile yaş ağırlıkları alınan domates bitkilerinin kök bölgesinden 1-0.5 g olacak şekilde parçalar alınıp, % 70'lik 90 ml Alkol, 5 ml Formaldehit ve 5 ml Asetik asit (AFA) karışımı olan fiksasyon sıvısına konulup, kökler boyama işlemi yapılmaya kadar bu sıvı içinde bekletilmiştir (Phillips ve Hayman, 1970).

AMF'nin varlığı ve kolonizasyonunu saptamak amacıyla, AFA sıvısı içinde muhafaza edilen kökler, boyama işlemine tabii tutulmuştur. Boyama işleminde ilk olarak kökler % 10'luk KOH'da yarım gün, sonrasında % 10'luk HCl'de yarım saat bekletilmiştir (Şekil 3.24). Her bir işlem arasında kökler saf su ile yıkama yapılmıştır. Daha sonra laktik asit ve saf sudan 40'ar ml, gliserinden 80 ml eklenip üzerine % 0.05'lik Laktofenol mavisi katılarak hazırlanan boya çözeltisi (Phillips ve Hayman 1970) eklenerek 2 saat bekletilmiş ve ardından 50 °C'lik sıcak su içinde 5 dakika kadar

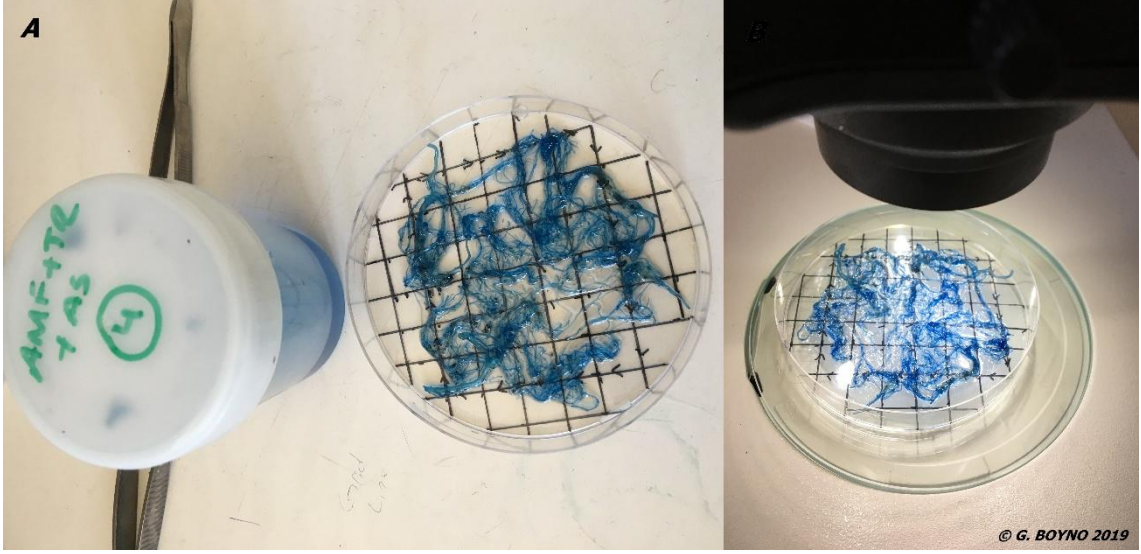
ısıtılmıştır. Bu işlemlerden sonra boya çözeltisi süzölmüş ve sonrasında laktik asit eklenmiştir (Şekil 3.24). Yaklaşık 1 saat sonra kökler AMF kolonizasyonunu saptamak amacıyla hazır hale gelmiştir.



Şekil 3.24. AMF kök boyama işlemi A. köklerin KOH çözeltisinde bekletilmesi, B. köklerin HCl'da bekletilmesi, C. köklerin Laktofenol boya çözeltisinde bekletilmesi, D. boyanmış köklerin laktik asitte bekletilmesi.

Boyama işleminden sonra Grid-Line Intersect yöntemi ile köklerde bulunan AMF'nin kolonizasyon %'si saptanmıştır (Giovanetti ve Mosseae, 1980). Grid-Line Intersect yönteminde, laktik asit içinde bekleyen kılcal köklerden, yaklaşık 0.5 g ağırlığında ve 1-1,5 cm uzunluğunda parçalara kesilerek, 1 cm²'lik karelere bölünmüş petri kabında homojen olarak dağıtılmıştır (Şekil 3.25). Bölünmüş bu kareler arası gridleri dik bir şekilde kesen kök segmentlerinde eğer AMF propagülü (hif, vesikül, klamidospore) varsa 1/1 (kök/spor), yoksa 1/0 şeklinde sayım yapılarak, toplam kök sayısı ve AMF ile kolonize olmuş kök sayısı bulunmuştur. Sayım işlemlerinden sonra AMF kolonizasyonu yüzde (%) olarak aşağıdaki formülle* hesaplanmıştır.

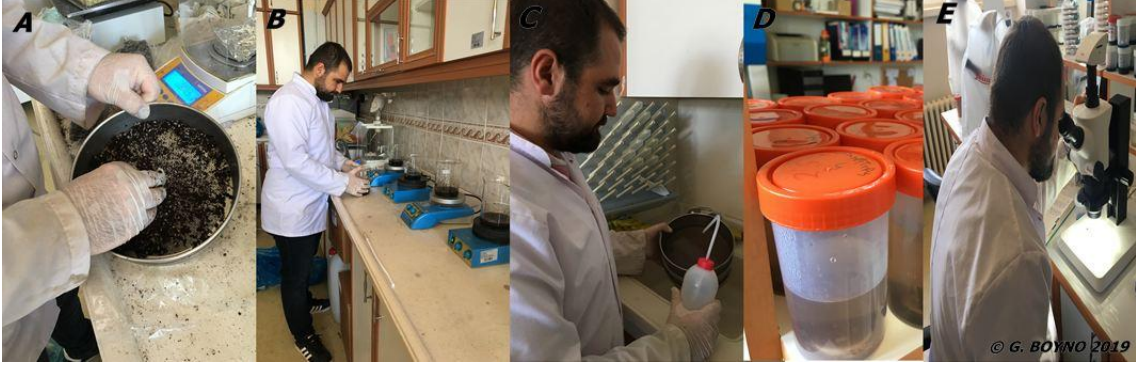
$$*\% \text{AMF kolonizasyon} = \frac{\text{AMF ile kolonize olmuş kök sayısı}}{\text{Toplam kök sayısı}} \times 100 \quad (3.4)$$



Şekil 3.25. AMF kök kolonizasyonunun belirlenmesi A. kılcal köklerin petriye tesadüfi dağıtılması, B. köklerin mikroskop altında incelenmesi.

3.2.13.2. Bitkinin rizosfer bölgesinde AMF spor yoğunluğunun belirlenmesi

AMF'li bitkilerin rizosfer bölgesindeki topraklarda AMF spor yoğunlukları Gerdemann ve Nicholson (1963) tarafından geliştirilen ıslak eleme yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntem kapsamında AMF'li topraklar 2 mm'lik elekten elenmiş ve 10 g tartılarak 100 ml steril saf su bulunduran beher glass içine aktarılmıştır (Şekil 3.26). Karışım 10-15 dakika kadar manyetik karıştırıcı da karıştırılmış ve daha sonra yine 10-15 dakika kadar bitki parçaları ve kaba toprak parçaları dibe çökmesi amacıyla bekletilmiştir. Üste kalan kısım ilk olarak 80 μm 'lik elekten, ardından 45 μm 'lik elekten geçirilip spor tüplerine aktarılmıştır (Şekil 3.26). Bu işlemlerin ardından spor tüplerinde ki karışım bir gün bekletilip üste kalan kısmın bir miktarını petri kabına boşaltılmıştır. Daha sonra stereoskopik mikroskop altında sporlar saptanarak g topraktaki spor yoğunluğu belirlenmiştir (Şekil 3.26).



Şekil 3.26. Toprakta AMF spor yoğunluğunun belirlenmesi A. toprağın 2 mm'lik elekten elenmesi, B. elenen toprağın tartımı ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılması, C. karışımın 45 µm ve 80 µm'lik eleklerden süzülmesi, D. süzülen örnekleri spor tüplerinde bekletilmesi, E. örneklerin mikroskop altında incelenmesi.

3.2.14. Mikorhizal bağımlılığın belirlenmesi (%)

Deneme süresince AMF'li ve AMF'siz bitkilerin 8 haftalık gelişim periyodundan sonra hasat edilerek kuru ağırlıkları tespit edilmiştir. Daha sonra bitkilerdeki AMF'nin etkinliğini belirlemek amacıyla mikorhizal bağımlılığa bakılmıştır. Mikorizal bağımlılık % olarak mikorizal bağımlılık formülü* ile tespit edilmiştir (Declerc ve ark., 1995).

$$*Mikorhizal bağımlılık (\%) = \frac{\text{AMF (+) bitkinin toplam kuru ağırlığı} - \text{AMF (-) bitkinin toplam kuru ağırlığı}}{\text{AMF (+) bitkinin toplam kuru ağırlığı}} \times 100 \quad (3.5)$$

3.3. İstatistiksel Analiz

Çalışma kapsamında elde edilen tüm verilerin istatistiksel analizleri SPSS (SPSS statistic program, Ver.21.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) bilgisayar programı ile yapılmıştır. Ayrıca DUNCAN çoklu karşılaştırma testi kullanılarak da ortalamalar karşılaştırılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Yüksek lisans tezi kapsamında Van ilinde, *A. solani* izolatına karşı biyolojik mücadele olanaklarının belirlenmesine yönelik çalışma yürütülmüştür. Bu çalışmada elde edilen; hastalığın tarla koşullarında tanımı, izole edilen *A. solani* izolatlarının patojeniteleri, biyolojik kontrol ajanlarının seçilmesi ve bu ajanların, *A. solani*'ye karşı etkileri ile bitkinin morfolojik gelişimine, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesine ve toplam fosfor miktarına olan etkileri belirlenmiştir. Bunlarla beraber AMF kök kolonizasyonu ve topraktaki spor yoğunluğu ile mikorizal bağımlılığa olan etkileri de tespit edilmiş ve tüm bu sonuçlar aşağıda değerlendirilmiştir.

4.1. Hastalığın Tarla Koşullarında Tanımı

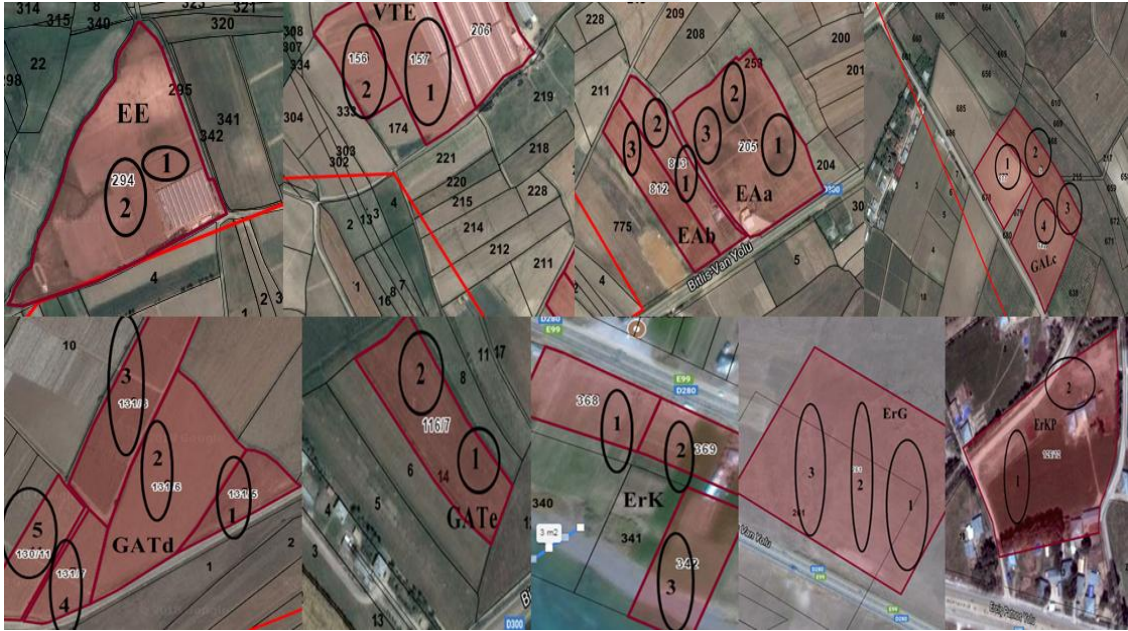
A. solani etmeni, domates bitkisinde erken yanıklık hastalığına neden olduğu bilinmektedir (Jones ve ark., 1991; Yiğit, 1993; Shinde ve ark., 2018). Çalışmamızda da gözlemlerimiz bu doğrultuda olup, *A. solani* etmeninin domateslerde erken yanıklık hastalığına neden olduğu görülmüştür. Patojen, bitki yapraklarında kahverengi köşeli nekrotik lekeler biçiminde ya da iç içe geçmiş, konsantrik halkalar şeklinde belirtileri göstermiştir (Şekil 4.1). Locke, 1949'nin de bildirdiği gibi, bu etmenin belirtileri ilk olarak alt yapraklarda meydana geldiği görülmüştür. Mücadele yapılmadığı ya da mücadelenin yetersiz kaldığı yerlerde üst yapraklara doğru ilerlediği ve sonraki aşamalarda ise yeşil aksamın tamamında bu belirtiler görüldüğü tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Hastalığın tarla koşullarında görünümü.

4.2. A. solani'nin Elde Edildiği Yerler

Van iline bağlı Gevaş, Edremit ve Erciş ilçelerinde domates alanlarına 2018 yılı Temmuz ve Ağustos aylarında ziyaret edilerek toplanan örneklerden izole edilen *A. solani* izolatlarının ilçelere göre dağılımı Çizelge 4.1'de verilmiştir. Erken yanıklık hastalığına yakalanmış veya yakalandığı düşünülen domates bitki örnekleri bölüm 3.2.3 de anlatıldığı gibi izolasyonu yapılmıştır. Bu sonuçlara göre Gevaş ilçesinden 15, Edremit ilçesinden 8 ve Erciş ilçesinden 10 *A. solani* izolatı olmak üzere toplamda 33 *A. solani* izolatı izole edilmiştir. Toplam 33 *A. solani* izolatından bölgeleri temsil edecek şekilde Gevaş ilçesinden 4, Edremit ve Erciş ilçelerinden ise 3'er *A. solani* izolatı patojenite testi için seçilmiştir (Çizelge 4.1). Seçilen izolatların, izole edildiği yerlerin uydu görüntüleri ise Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Seçilen *A. solani* izolatlarının tespit edildiği lokasyonların uydu görüntüleri.

Çizelge 4.1. *A. solani* izolatlarının izole edildiği bölgeler, izolat isimleri ve bölgeleri temsil etmek üzere seçilen izolatlar

İzole edilen bölgeler	İzolat isimleri	Seçilen izolatlar
Edremit / Enginsu	<i>A. solani</i> EE 1	<i>A. solani</i> EE 1
Edremit / Enginsu	<i>A. solani</i> EE 2	<i>A. solani</i> VTE 1
Edremit / Enginsu	<i>A. solani</i> EE 3	<i>A. solani</i> EAa 3
Edremit / Andaç	<i>A. solani</i> VTE 1	<i>A. solani</i> EAb 1
Edremit / Andaç	<i>A. solani</i> VTE 2	<i>A. solani</i> GALc 3
Edremit / Andaç	<i>A. solani</i> EAa 1	<i>A. solani</i> GATd 1
Edremit / Andaç	<i>A. solani</i> EAa 2	<i>A. solani</i> GATe 2
Edremit / Andaç	<i>A. solani</i> EAa 3	<i>A. solani</i> ErK 2
Gevaş / Aladüz	<i>A. solani</i> EAb 1	<i>A. solani</i> ErG 3
Gevaş / Aladüz	<i>A. solani</i> EAb 2	<i>A. solani</i> ErKP 1
Gevaş / Aladüz	<i>A. solani</i> EAb 3	
Gevaş / Aladüz	<i>A. solani</i> GALc 1	
Gevaş / Aladüz	<i>A. solani</i> GALc 2	
Gevaş / Aladüz	<i>A. solani</i> GALc 3	
Gevaş / Aladüz	<i>A. solani</i> GALc 4	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATd 1	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATd 2	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATd 3	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATd 4	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATd 5	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATe 1	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATe 2	
Gevaş / Atalan	<i>A. solani</i> GATe 3	
Erciş / Kuzluca	<i>A. solani</i> ErK 1	
Erciş / Kuzluca	<i>A. solani</i> ErK 2	
Erciş / Kuzluca	<i>A. solani</i> ErK 3	
Erciş / Kuzluca	<i>A. solani</i> ErK 4	
Erciş / Göze	<i>A. solani</i> ErG 1	
Erciş / Göze	<i>A. solani</i> ErG 2	
Erciş / Göze	<i>A. solani</i> ErG 3	
Erciş / Kocapınar	<i>A. solani</i> ErKP 1	
Erciş / Kocapınar	<i>A. solani</i> ErKP 2	
Erciş / Kocapınar	<i>A. solani</i> ErKP 3	

4.3. Virü lent Patojenin Seçimi

Seçilen *A. solani* izolatlarının patojenite testinde 3., 4. ve 5. haftalar ile bu üç haftanın ortalaması alınarak belirlenen hastalık şiddeti oranları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *A. solani* izolatlarının haftalara göre hastalık şiddeti ve ortalamaları

Seçilen İzolatlar	Hastalık Şiddeti (%)			Ortalama (%)*
	3. hafta	4.hafta	5. hafta	
	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	
<i>A. solani</i> EE 1	15.92±3.601 ^{ab**}	25.09±5.950 ^b	41.47±5.000 ^{ab}	27.499
<i>A. solani</i> VTE 1	20.58±3.223 ^{ab}	22.99±0.393 ^b	35.15±3.672 ^b	26.244
<i>A. solani</i> EAa 3	24.91±10.121 ^a	20.88±3.878 ^b	37.97±0.654 ^b	27.922
<i>A. solani</i> EAb 1	21.86±9.132 ^{ab}	33.29±9.001 ^a	51.66±7.166 ^a	35.605
<i>A. solani</i> GALc 3	20.37±6.841 ^{ab}	23.01±3.543 ^b	36.82±8.972 ^b	26.737
<i>A. solani</i> GATd 1	13.46±3.202 ^b	33.26±5.932 ^a	46.46±6.001 ^{ab}	31.065
<i>A. solani</i> GATe 2	10.93±1.935 ^b	18.30±2.272 ^b	40.82±7.544 ^{ab}	23.353
<i>A. solani</i> ErK 2	18.46±2.974 ^{ab}	23.23±1.224 ^b	38.77±5.289 ^b	26.825
<i>A. solani</i> ErG 3	16.50±7.173 ^{ab}	20.99±4.156 ^b	31.71±4.801 ^c	23.071
<i>A. solani</i> ErKP 1	18.41±2.953 ^{ab}	23.23±1.285 ^b	45.95±3.512 ^{ab}	29.199

*: 3., 4. ve 5. haftaların hastalık şiddetleri oranlarının ortalaması alınarak oluşturulmuştur

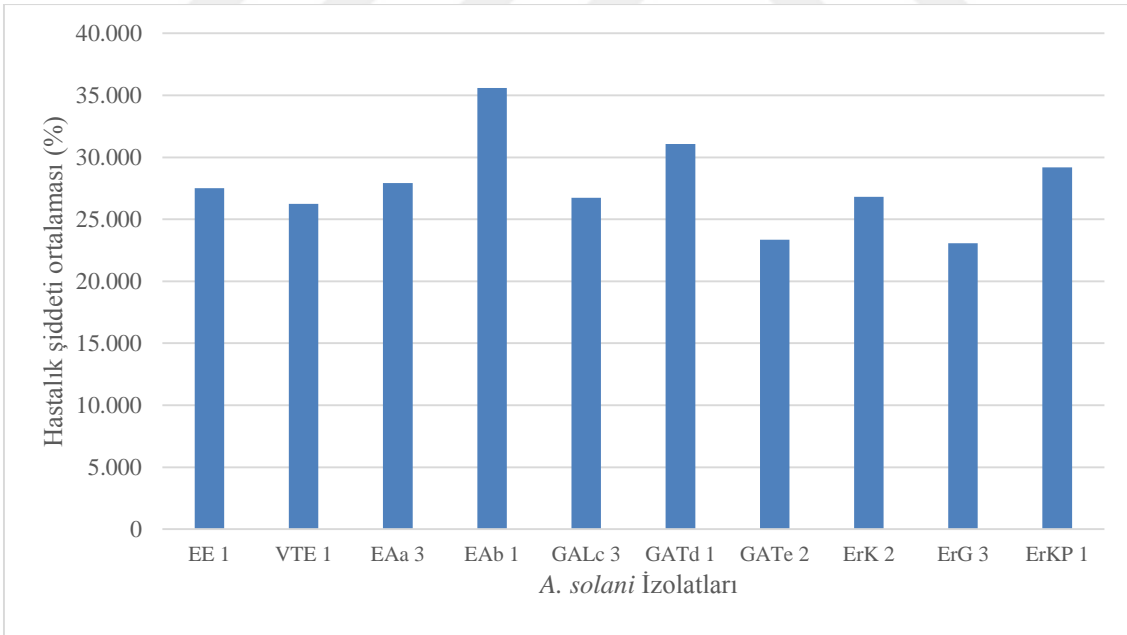
** : Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi, seçilen 10 adet *A. solani* izolatının patojenite testinde, hastalık şiddetleri ile seçilen izolatlar arasındaki fark 3. haftada istatistiksel olarak önemsizken (P>0.05), diğer haftalarda önemli olduğu saptanmıştır (P<0.05). Genel olarak bakıldığında, 3. haftada hastalık şiddeti oranı % 24.91 ile EAa 3 izolatı en yüksek değere sahip olduğu görülmektedir. Daha sonra ki 4. ve 5. haftalarda ise hastalık şiddeti oranı sırasıyla % 33.29 ve % 51.66 ile EAb 1 izolatı en yüksek değere ulaşmıştır (Şekil 4.3). Bunu takiben 4. haftada GATd 1 izolatı (% 33.26), 5. haftada ise yine GATd 1 izolatı (% 46.46) ile ErKP 1 (% 45.95), EE1 (% 41.47) ve GATe 2 (% 40.82) izolatları takip etmektedir. Benzer bir çalışma Levent (2001) tarafından patates bitkisinde *A. solani* izolatlarının hastalık şiddetine bakılmıştır. Bu çalışmada *A. solani* izolatlarının hastalık şiddeti oranının % 20.1-62.0 aralığında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan diğer bir çalışmada ise Ozan ve Maden (2005) tarafından *A. alternata* izolatları üzerinde yapılmıştır. Ankara ili ve çevresinde domates alanlarında saptanan izolatların patojenite testi sonucunda *A. alternata* izolatlarının % 57.14-69.67 aralığında hastalık şiddeti gösterdiği saptanmıştır. Elazığ ilinde domates alanlarında Mutlu ve Üstüner (2017) tarafından yapılan bir çalışmada, yine *A. alternata* izolatları saptanıp bu izolatların ilçelere göre hastalık şiddetleri oranları % 40.7 ile % 60.7 arasında değiştiği belirtilmiştir. Belirlenen bu çalışmaların bulgularına yaptığımız çalışmanın bulguları örtüşüğü görülmektedir.



Şekil 4.3. *A. solani* EAb 1 izolatının bitkideki belirtileri.

Üç haftanın ortalaması alınarak oluşan hastalık şiddetinde % 35.60 oranıyla en yüksek değere ulaşan EAb 1 izolatı, en virulent izolat olarak seçilip, sonraki yapılan çalışmalarda patojen izolat olarak kullanılmıştır (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Seçilen *A. solani* izolatlarının üç haftanın oluşturduğu hastalık şiddeti ortalamalarının kümelenmiş sütun grafiğinde görünümü.

4.4. Biyolojik Kontrol Ajanlarının Seçimi

4.4.1. *Trichoderma* spp.'nin *in vitro*'da seçimi ve tanımlanması

Van iline bağlı Gevaş, Edremit ve Erciş ilçelerinde domates alanlarında survey kapsamında bölüm 3.2.3'de anlatıldığı gibi *A. solani* izolasyonu sırasında bitkiden *Trichoderma* izolatları da izole edilmiştir. Bu izolatlar; Gevaş ilçesinden 1, Edremit ve Erciş ilçelerinden ise 2'şer olmak üzere toplamda 5 *Trichoderma* izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlara daha önceden etkinliği saptanmış 3 *Trichoderma* türü de eklenerek, toplamda 8 *Trichoderma*, en etkili fungal biyolojik kontrol ajanını belirleme çalışmalarda kullanılmıştır.

En virulent olarak seçilen *A. solani* EAb 1 izolatına karşı en etkili *Trichoderma* izolat veya türünü saptamak için bölüm 3.2.6'da anlatıldığı gibi ikili kültür tekniğinden yararlanılmıştır. Bu teknik kapsamında antagonizm derecesini belirlemek için 1-5 skalası ve *A. solani* izolatının gelişiminin engellemesini belirlemek için inhibisyon oranı Çizelge 4.3'de verilmiştir.

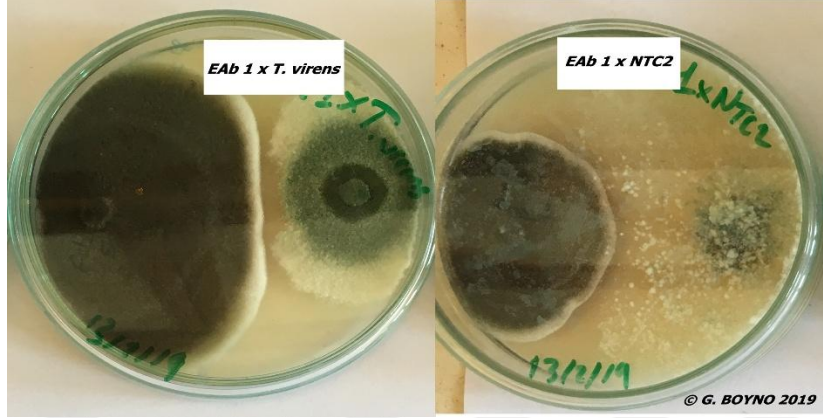
Çizelge 4.3. *Trichoderma* spp.'nin *A. solani* EAb 1 izolatına karşı inhibisyon oranları ve antagonizm dereceleri

Fungal Biyolojik Kontrol Ajanları	Inhibisyon Oranı (%)	Antagonizm Derecesi (1-5 skala)
	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$
BKe 1	21.01±4.532 ^{de*}	2.25±0.500 ^c
BKe 2	24.83±4.191 ^{cd}	2.00±0.001 ^{bc}
GATd 2	30.98±6.345 ^{bcd}	1.60±0.544 ^{ab}
NTC 1	34.55±7.013 ^{bc}	1.80±0.445 ^{abc}
NTC 2	53.98±6.982 ^a	1.40±0.545 ^a
<i>T. harzianum</i>	37.39±5.995 ^b	2.00±0.001 ^{bc}
<i>T. virens</i>	13.25±5.492 ^e	3.00±0.001 ^d
<i>T. asperellum</i>	40.43±8.850 ^b	2.00±0.001 ^{bc}

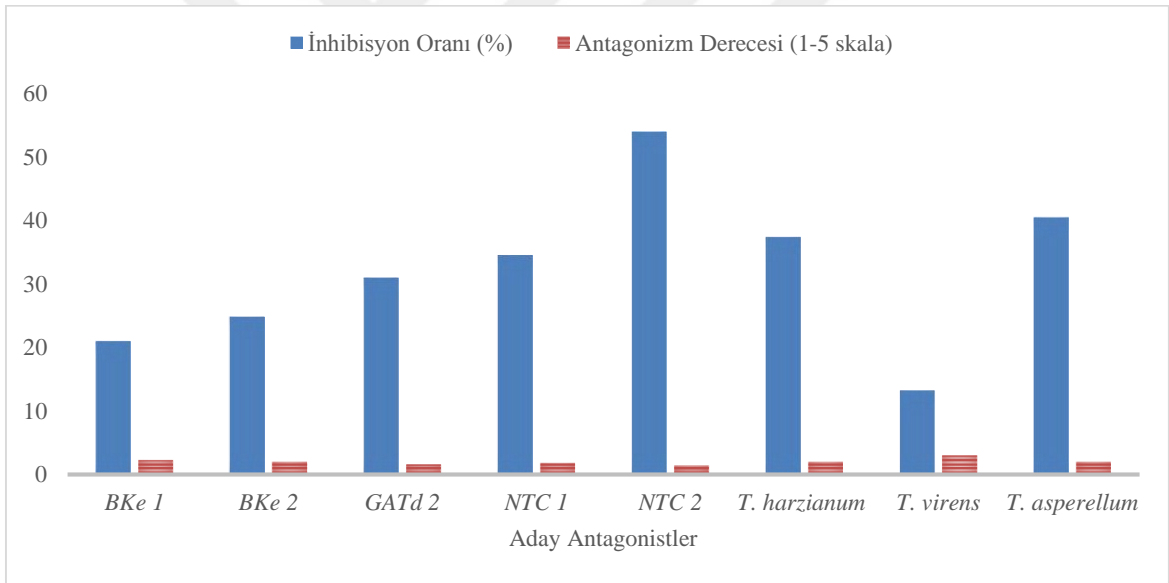
*: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P< 0.05).

Çizelge 4.3'de belirlenen sonuçlar ışığında *Trichoderma* spp.'nin inhibisyon oranı ve antagonizm dereceleri arasında farkın istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur (P<0.05). Sonuçlar genel olarak irdelendiğinde ise, EAb 1 izolatına karşı kullanılan 8 *Trichoderma* fungal biyolojik kontrol ajanlarından % 53.98 inhibisyon oranı ve 1.40 antagonizm oranı ile en etkili NTC 2 izolatu belirlenmiştir. En düşük etkiyi ise inhibisyon oranı bakımından *T. virens* ve BKe 1 izolatu sırasıyla % 13.25 ve % 21.01 oranlarıyla

gösterirken, antagonizm derecesi bakımından ise 3.00 ile *T. virens* göstermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. *A. solani* EAb 1 izolatına karşı *T. virens* ve NTC₂ izolatlarının etkisi.



Şekil 4.6. *Trichoderma* spp.'nin *A. solani* EAb 1 izolatına karşı inhibisyon oranları ve antagonizm derecelerinin kümelenmiş sütun grafiğinde görünümü.

Bu çalışma sonucunda Şekil 4.6'da da görüldüğü gibi NTC 2 izolatı diğerlerine göre en iyi etki göstermiş ve sonraki çalışmalar için fungal biyolojik kontrol ajanı olarak seçilmiştir.

Çalışmamız kapsamında *A. solani* EAb 1 izolatına karşı *in vitro*'da en etkili NTC2 izolatı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Benzer çalışmalardan birisi de Tapwal ve ark. (2011) tarafından *A. solani* patojeni ile birlikte 4 bitki patojenine karşı *in vitro*'da *T. viride*

türü kullanmıştır. Yapılan bu çalışma sonucunda % 34.76 inhibisyon oranı ve 2.23 antagonizm derecesi ile *T. viride* etki göstermiştir. Başka bir çalışma da ise *Trichoderma* türlerinin *A. brassicicola* patojeninde içine alan toplam 7 patojene karşı *in vitro*'da etkisine bakılmıştır. Seçilen *Trichoderma* türlerinin % 34.62-58.44 inhibisyon oranı aralığında etki gösterdiği saptanmıştır (Amin ve ark., 2010). Yine *Trichoderma* izolatlarını *A. alternata* üzerinde etkisine bakılmıştır. *In vitro* koşullarda 6 gün sonra yapılan ölçümlerde *Trichoderma* izolatlarının % 71.25-74.77 aralığında inhibisyon oranına sahip olduğu belirlenmiştir (Rajput ve ark., 2013). Abo-Elyousr ve ark. (2014) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise *T. harzianum* ve *T. longibrachiatum* izolatlarının *A. porri* patojenine karşı *in vitro* koşullarında etkisine bakılmıştır. Yapılan bu çalışmada *T. harzianum* izolatlarının % 73.12 inhibisyon oranı ile en etkili olarak bulunurken, *T. longibrachiatum* izolatlarının ise % 70.30 inhibisyon oranı ile de en düşük etki gösterdiği bulunmuştur. Tozlu ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada ise *T. harzianum* (ET4 ve ET14) izolatlarının *A. alternata* izolatları ile birlikte diğer patojen izolatlarına karşı etkisine bakılmıştır. ET4 izolatının inhibisyon oranı % 28.87-54.17 aralığında etki gösterirken, ET14 izolatı ise % 64.40-66.63 aralığında etki gösterdiği belirlenmiştir. Benzer bir çalışmayı da Kayım ve ark. (2018) tarafından yapılmış olup *T. harzianum* izolatlarının *A. alternata* izolatları üzerinde 8. gün ölçümlerinde % 63.23-77.11 aralığında inhibisyon oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. *In vitro* koşullarında yürütülen benzer çalışmaların 5. gün ölçümlerinin çalışmamızla paralel sonuçlar göstermektedir. Bazı çalışmalarda ise inhibisyon oranlarının % 70'leri geçtiği görülmektedir. Bunun en önemli nedeni ise 6. gün ve sonrasında yapılan ölçümlerin olduğu düşünülmektedir.

En virüent *A. solani* EAb 1 izolatına karşı seçilen fungal biyolojik kontrol ajanı NTC₂ izolatlarının tanımlanmasında, Prof. Dr. Semra DEMİR ve Dr. Öğr. Ü. Emre DEMİRER DURAK tarafından hem koloni gelişimi hem de ışık mikroskobu altında makroskopik ve mikroskopik yapıları incelenip, tür teşhisi anahtarına göre *T. viride* NTC₂ izolatı olarak belirlenmiştir.

4.4.2. PGPR izolatının seçimi

İlk aşama

Antagonist olarak daha önceden çeşitli konukçular üzerinde etkinliği belirlenmiş 8 PGPR izolatlarından en etkilisini belirlemek amacıyla *in vivo*'da, domates bitkisinin bazı gelişim parametrelerine olan etkilerine bakılmış ve sonuçlar Çizelge 4.4'de verilmiştir. Eş zamanlı olarak bu PGPR izolatlarının *in vitro*'da ise en virulent *A. solani* EAb 1 izolatına olan antagonistik etkilerine bakılmış ve sonuçlar Şekilde 4.4'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. PGPR izolatlarının bitki morfolojik gelişim parametrelerine olan etkisi

PGPR izolatları	Sürgün Yaş Ağırlık (g)	Sürgün Kuru Ağırlık (g)	Kök Yaş Ağırlık (g)	Kök Kuru Ağırlık (g)	Sürgün Boy (cm)	Kök Boy (cm)
	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$
K(-)	1.97±0.291 ^{c*}	0.22±0.030 ^e	0.33±0.091 ^b	0.05±0.010 ^b	18.37±1.842 ^e	10.25±1.901 ^b
T ₂ K ₂	2.82±0.966 ^{abc}	0.28±0.102 ^{bc}	0.35±0.096 ^{ab}	0.05±0.010 ^b	22.67±3.556 ^b	12.50±1.223 ^b
T ₂₆ Y ₁	2.78±0.966 ^{abc}	0.28±0.101 ^{bc}	0.37±0.150 ^{ab}	0.05±0.020 ^b	22.17±4.534 ^{bc}	10.67±1.634 ^b
G ₁₁₆ S ₂	2.77±0.699 ^{abc}	0.31±0.085 ^{bc}	0.49±0.178 ^a	0.06±0.020 ^{ab}	22.00±1.262 ^{bc}	10.83±1.478 ^b
T ₁₃ K ₁	3.14±0.301 ^{ab}	0.34±0.074 ^{ab}	0.36±0.162 ^{ab}	0.06±0.020 ^{ab}	25.67±2.651 ^b	11.83±2.045 ^b
V ₁₇ G ₂	2.58±0.712 ^{bc}	0.31±0.074 ^{bc}	0.33±0.064 ^b	0.05±0.010 ^b	21.60±3.137 ^{bc}	11.60±2.301 ^b
V ₃₀ Y ₃	2.86±1.214 ^{abc}	0.30±0.145 ^{bc}	0.25±0.075 ^b	0.04±0.010 ^b	23.33±5.125 ^b	11.33±1.034 ^b
V ₃₈ K ₁	2.57±0.925 ^{bc}	0.30±0.101 ^{bc}	0.29±0.111 ^b	0.04±0.010 ^b	23.20±3.035 ^b	11.50±2.423 ^b
V ₄₀ K ₂	3.65±0.567 ^a	0.43±0.070 ^a	0.41±0.052 ^{ab}	0.08±0.010 ^a	30.16±1.168 ^a	17.17±1.478 ^a

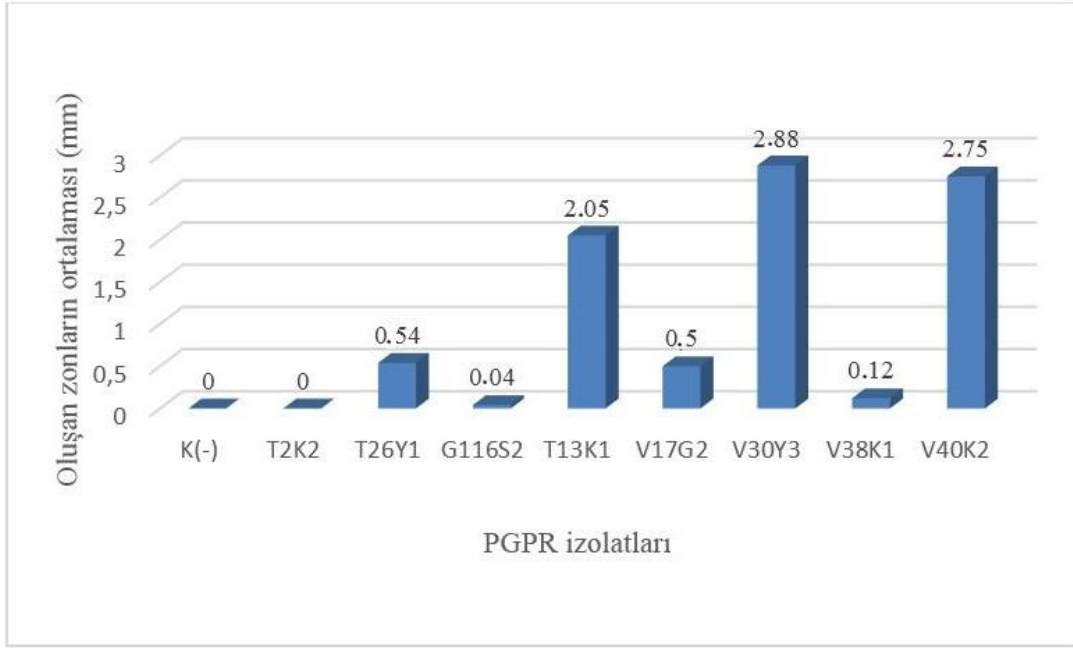
K(-): Negatif kontrol

*: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P< 0.05).

Çizelge 4.4'de gösterilen sonuçlar ışığında, tüm PGPR izolatlarının morfolojik gelişim parametreleri üzerinde fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Bu sonuçlara göre, domates bitkisinin morfolojik gelişim parametrelerinden sürgün yaş ağırlığı ölçümlerinde V₄₀K₂ (3.65 g), T₁₃K₁ (3.14 g), V₃₀Y₃ (2.86 g), T₂K₂ (2.82 g), G₁₁₆S₂ (2.77 g) ve T₂₆Y₁ (2.78 g) izolatları en etkili olarak bulunmuştur. Kök yaş ağırlık ölçümlerinde ise V₄₀K₂ (0.41 g), G₁₁₆S₂ (0.49 g) ve T₁₃K₁ (0.36 g) izolatları en etkili izolatlar olduğu belirlenmiştir. Kök kuru ağırlık ölçümlerinde ise V₄₀K₂ (0.43 g), T₁₃K₁ (0.34 g) ve G₁₁₆S₂ (0.31 g) izolatları en etkili izolatlar olarak saptanmıştır. Sürgün kuru ağırlık, sürgün boy ve kök boy parametrelerinde ise, V₄₀K₂ izolatı sırasıyla 0.43 g, 30.16 cm ve 17.17 cm oranları ile en etkili izolat olarak saptanmıştır.

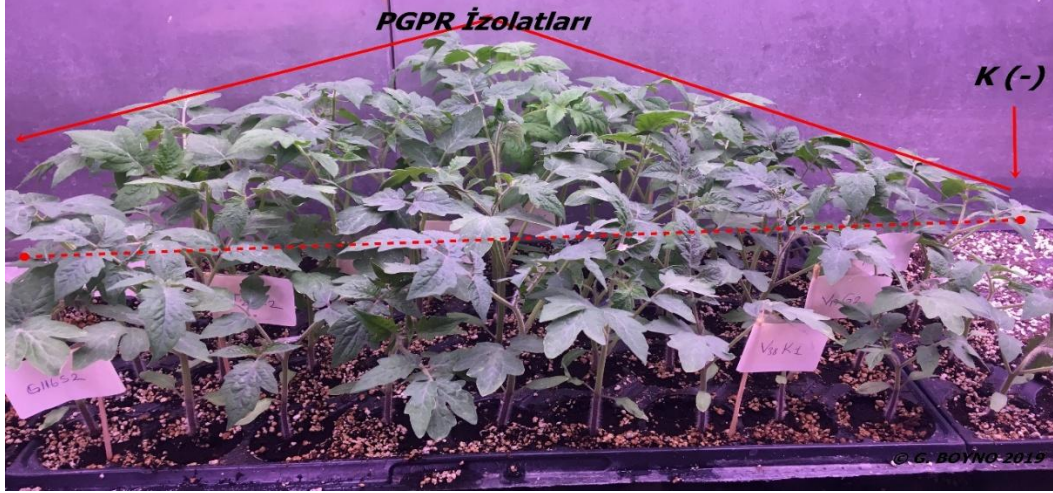
Yaptığımız çalışmada tüm PGPR izolatlarının genel olarak K(-)'a göre bitkinin morfolojik gelişimini arttırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7). Bu kapsamda

PGPR antagonistlerinin farklı bitki gruplarında bitki gelişimini ve verimini arttırmaya yönelik yapılan birçok çalışmada da, başarılı sonuçlar alındığı bildirilmiştir (Eşitken ve ark., 2002; Orhan ve ark., 2006). Bu çalışmaların bazılarında PGPR izolatının kontrol grubuna göre bitki kök ve gövde biyokütlesini önemli oranlarda (Requena ve ark. (1997); bitki kök ve gövde kuru ağırlıklarını ise arttırdığı belirlenmiş (Sastry ve ark. (2000) olup, yaptığımız çalışmanın bulgularıyla örtüşmektedir.



Şekil 4.7. PGPR izolatlarının *A. solani* EAb 1 izolatı üzerinde antagonistik etkilerinin 3-B sütun grafiğinde görünümü.

Antagonistik etki bakımından, V₃₀Y₃ (2.88 mm) ve V₄₀K₂ (2.75 mm) izolatları patojen izolata karşı en iyi etki göstermiştir (Şekil 4.7). Bu çalışmaya benzer in vitro koşullarda yürütülen çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmıştır. Latha ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada *P. fluorescens* (Pf1 ve Py15) ve *B. subtilis* (Bs16) antagonistleri ile Gao ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada *B. velezensis* ZSY-1 antagonistinin *A. solani*'ye karşı yüksek antagonistik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Tüm bu parametreler göz önüne alınarak V₄₀K₂, V₃₀Y₃, T₁₃K₁, T₂K₂ ve G₁₁₆S₂ izolatları seçilmiş ve ikinci aşamada kullanılmıştır.



Şekil 4.8. PGPR izolatlarının K(-)'ye göre etkisi.

İkinci aşama

İlk aşamada seçilen 5 PGPR antagonistleri ikinci aşamada en virulent olarak seçilen *A. solani* EAb 1 izolatına karşı in vivo'da denenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir.

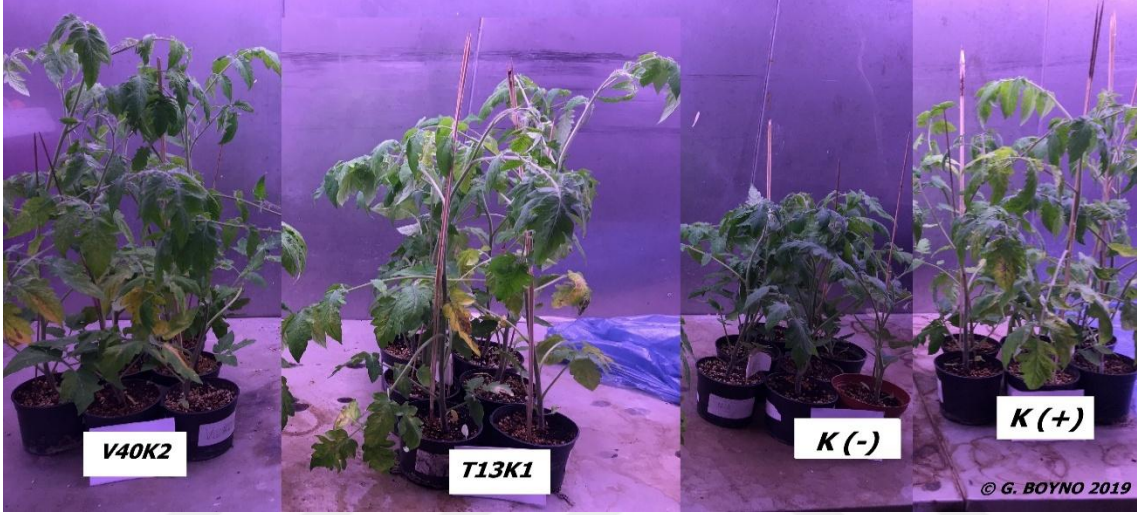
Çizelge 4.5. Seçilen PGPR izolatlarının hastalık şiddeti oranları ve bitki morfolojik gelişim parametrelerine olan etkisi

İzolatlar	Hastalık Şiddeti (%)	Kök Yaş Ağırlık (g)	Sürgün Yaş Ağırlık (g)	Kök Kuru Ağırlık (g)	Sürgün Kuru Ağırlık (g)	Kök Boy (cm)	Sürgün Boy (cm)	Sürgün Çap (mm)	Yaprak Sayısı (bileşik yaprak/bitki)
	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.
K(-)	0.00± 0.000	1.45± 0.402 ^c	13.97± 2.35 ^b	0.14± 0.032 ^d	1.51± 0.322 ^c	17.57± 3.594 ^b	40.14± 3.231 ^c	5.28± 0.234 ^{ab}	7.29± 0.481 ^d
K(+)	38.31± 9.131 ^c	2.05± 0.812 ^{ab}	19.96± 5.59 ^a	0.19± 0.103 ^{bcd}	2.01± 0.754 ^{bc}	20.80± 4.144 ^b	51.67± 4.962 ^b	5.16± 0.664 ^{ab}	7.67± 0.512 ^{cd}
V ₄₀ K ₂	25.94± 7.091 ^{ab}	2.40± 0.401 ^a	22.60± 2.92 ^a	0.26± 0.025 ^a	2.64± 0.321 ^a	32.00± 3.000 ^a	61.50± 4.672 ^a	5.43± 0.382 ^a	8.67± 0.515 ^a
V ₃₀ Y ₃	28.62± 4.925 ^b	1.59± 0.305 ^{bc}	20.78± 2.34 ^a	0.17± 0.034 ^{bcd}	2.22± 0.290 ^{ab}	23.50± 4.320 ^b	58.50± 6.212 ^a	5.14± 0.356 ^{ab}	8.33± 0.515 ^{ab}
T ₁₃ K ₁	17.97± 4.367 ^a	1.37± 0.404 ^c	19.21± 3.43 ^a	0.15± 0.037 ^{cd}	1.88± 0.521 ^{bc}	24.00± 6.041 ^b	58.50± 5.245 ^a	4.80± 0.321 ^b	8.33± 0.514 ^{ab}
T ₂ K ₂	32.99± 7.692 ^{bc}	1.89± 0.241 ^{abc}	20.57± 1.28 ^a	0.21± 0.011 ^{abc}	2.20± 0.232 ^{ab}	24.33± 8.574 ^b	57.33± 5.000 ^{ab}	5.30± 0.425 ^{ab}	8.17± 0.400 ^{abc}
G ₁₁₆ S ₂	34.27± 6.153 ^{bc}	2.09± 0.331 ^{bc}	22.68± 3.32 ^a	0.23± 0.025 ^{ab}	2.32± 0.565 ^{ab}	18.83± 2.973 ^b	59.17± 7.889 ^a	5.57± 0.482 ^a	8.00± 0.634 ^{bc}

K(-): Negatif kontrol K(+): Pozitif kontrol

*: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P < 0.05).

Çizelge 4.5’de verilen sonuçlar ışığında, tüm PGPR izolatlarının hastalık şiddeti ve diğer gelişim parametreleri üzerindeki fark, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Hastalık şiddeti bakımından K(+), G₁₁₆S₂ ve T₂K₂ antagonistleri sırasıyla % 38.31, % 34.27 ve % 32.99 oranla en yüksek değere sahiptir. Bununla beraber T₁₃K₁ ve V₄₀K₂ izolatları sırasıyla % 17.97 ve % 25.94 oranlarla en iyi etkiyi göstermiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.9. V₄₀K₂ ile T₁₃K₁ PGPR izolatlarının pozitif ve negatif kontrollere göre hastalık şiddeti üzerine etkisi.

Genel olarak bakıldığında PGPR antagonistlerinin K(+)'ya göre hastalık şiddetlerini azalttığı görülmektedir (Çizelge 4.5). Yaptığımız çalışmayı destekler nitelikte yapılan bazı çalışmalarda da *A. solani* gibi farklı bitki patojenlerine karşı PGPR antagonistlerinin etkilerine bakılmış ve oldukça etkili sonuçlar alındığı belirlenmiştir (Kotan, 1998; Kotan, 2002; Aslan, 2005; Karagöz, 2009; Kotan ve ark., 2009; Karagöz ve ark., 2014).

PGPR antagonistlerinin hastalık şiddetlerini azalttığı gibi bitki morfolojik gelişiminde teşvik ettiği bilinmekte (Jetiyanon ve Kloepper, 2002); tarafımızdan yapılan araştırmanın bulgularıyla da bu durum paralellik göstermektedir. Domates bitkisinin gelişim parametrelerinden kök yaş ağırlığı ölçümlerinde K(+) (2.05 g) ile beraber V₄₀K₂ (2.40 g) ve T₂K₂ (1.37 g) izolatlar en etkili olarak bulunurken, sürgün yaş ağırlığında ise K(-)'e göre tüm PGPR izolatları ve K(+) etkili bulunmuştur. Kök kuru ağırlık ölçümlerinde V₄₀K₂ izolatı (0.26 g) ile G₁₁₆S₂ (0.23 g) ve T₂K₂ (0.21 g) izolatları en etkili izolatlar olarak saptanmıştır. Sürgün kuru ağırlığı bakımından ise, yine V₄₀K₂ izolatı (2.64

g) ile $G_{116}S_2$ (2.32 g), $V_{30}Y_3$ (2.22 g) ve T_2K_2 (2.20 g), izolatları en etkili izolatlar olarak saptanmıştır. Kök boy ölçümlerinde ise $V_{40}K_2$ izolatı (32 cm) en etkili izolat olarak belirlenirken, sürgün boyu ölçümlerinde yine $V_{40}K_2$ izolatı (61.50 cm) ile diğer PGPR izolatları $K(+)$ ve $K(-)$ 'ye göre etkili olarak belirlenmiştir. Sürgün çapı ölçümlerinde, $V_{40}K_2$ ve $G_{116}S_2$ izolatları en etkili izolatlar olarak görülmektedir. Yaprak sayısı ölçümlerinde ise, $V_{40}K_2$, $V_{30}Y_3$ ve $T_{13}K_1$ izolatları en etkili izolatlar olarak saptanmıştır.

Tüm parametreler göz önüne alındığında *B. velezensis* $V_{40}K_2$ izolatı genel olarak daha etkili olduğundan, diğer çalışmalarda kullanılmak üzere PGPR antagonist olarak seçilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.10. $V_{40}K_2$ PGPR izolatının bitki gelişimi üzerine etkisi.

4.5. Biyolojik Kontrol Ajanlarının Kombinasyon Halinde *A. solani* EAb 1 İzolatı ile İnfekteli Bitkiye Olan Etkileri

4.5.1. Biyolojik kontrol ajanlarının birlikte kullanımının hastalık şiddeti üzerine etkileri

En etkili olarak seçilen NTC_2 ve $V_{40}K_2$ biyolojik kontrol ajanları ile daha önceden etkinliği saptanmış *G. mosseae* (Gm)'nin en virulent seçilen patojen izolatına karşı hastalık şiddetine olan etkileri Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Uygulama gruplarının haftalara göre hastalık şiddeti oranları, üç haftanın ortalaması ve baskılama oranları

Uygulama Grupları	3. hafta (%)	4. hafta (%)	5. hafta (%)	Ortalama (%)	Baskılama Oranı (%)
	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$		
K(+)	33.44±7.361 ^{d*}	40.64±2.991 ^c	53.17±6.222 ^c	42.42	-
NTC ₂ +AS	29.73±4.692 ^{bcd}	27.43±2.745 ^a	30.73±6.276 ^{ab}	29.30	30.93
Gm+AS	22.66±5.736 ^{ab}	26.29±4.400 ^a	35.65±4.701 ^b	28.20	32.28
V ₄₀ K ₂ +AS	21.48±3.575 ^a	29.81±7.154 ^{ab}	31.40±7.035 ^b	27.56	35.03
Gm+NTC ₂ +AS	23.71±5.254 ^{abc}	37.03±5.654 ^{bc}	22.84±6.515 ^a	27.86	34.32
Gm+V ₄₀ K ₂ +AS	29.22±4.326 ^{bcd}	30.02±6.112 ^{ab}	38.51±3.314 ^b	32.58	23.20
NTC ₂ +V ₄₀ K ₂ +AS	20.94±1.415 ^a	30.41±7.634 ^{ab}	34.84±6.504 ^b	28.73	32.27
Gm+NTC ₂ +V ₄₀ K ₂ +AS	30.58±4.278 ^{cd}	45.51±8.354 ^c	47.32±4.677 ^c	41.14	3.01

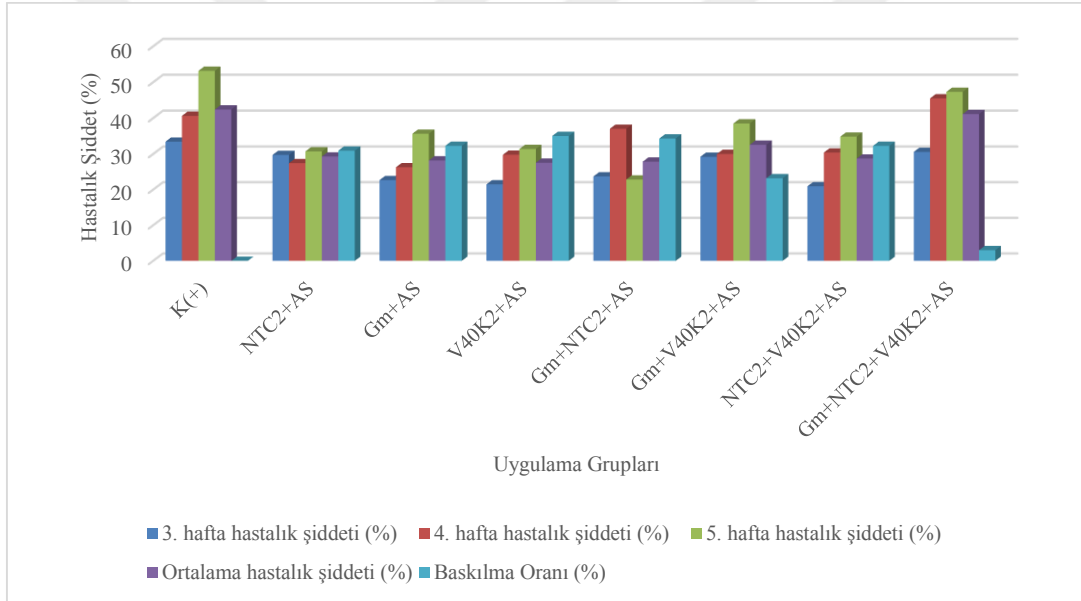
K(+): Pozitif kontrol AS: *A.solani* EAB 1 izolatu NTC₂: *T. viride* NTC₂ izolatu V₄₀K₂: *B. velezensis* V₄₀K₂
Gm: *G. mosseae*

*: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P< 0.05).

Çizelge 4.6'da gösterilen sonuçlar ışığında, uygulama grupları ile ölçülen hastalık şiddetleri arasında istatistiksel farklılık söz konusudur (P<0.05). Bu durumda inokulasyondan sonra 3. haftada, K(+) ile Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS, NTC₂+AS ve Gm+V₄₀K₂+AS kombinasyonları sırasıyla % 33.44, % 30.58, % 29.73 ve % 29.22 oranları ile en yüksek hastalık şiddeti değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. NTC₂+V₄₀K₂+AS, V₄₀K₂+AS, Gm+AS ve Gm+NTC₂+AS kombinasyonları ise, sırasıyla % 20.94, % 21.48, % 22.66 ve % 23.71 hastalık şiddeti oranları K(+)'ya göre en etkili kombinasyonlar olduğu saptanmıştır. İnokulasyondan sonra 4. haftada yine K(+) ile Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS kombinasyonu sırasıyla % 40.64 ve % 45.51 oranları ile en yüksek hastalık şiddetine sahipken, Gm+AS, NTC₂+AS, V₄₀K₂+AS, Gm+V₄₀K₂+AS ve NTC₂+V₄₀K₂+AS kombinasyonları sırasıyla % 26.29, % 27.43, % 29.81, % 30.02 ve % 30.41 hastalık şiddeti oranları K(+)'ya göre en iyi etki gösteren kombinasyonlar olarak belirlenmiştir. İnokulasyondan 5. haftadan sonra ise yine K(+) ile Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS kombinasyonu sırasıyla % 53.17 ve % 47.32 hastalık şiddeti oranları ile en yüksek değere ulaşırken, Gm+NTC₂+AS ve NTC₂+AS kombinasyonları sırasıyla % 22.84 ve % 30.73 hastalık şiddeti oranları K(+)'ya göre en iyi etki gösteren kombinasyonlar olarak saptanmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. *A. solani* EAb 1 izolatının 5. haftada bazı uygulama gruplarına olan etkisi A. K(+), B. Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS kombinasyonu, C. Gm+NTC₂+AS kombinasyonu, D. NTC₂+AS kombinasyonu.



Şekil 4.12. Uygulama gruplarının haftalara göre hastalık şiddeti oranları, üç haftanın ortalaması ve baskılama oranlarının 3-B sütun grafiğinde görünümü.

Şekilde 4.12’de görüldüğü gibi, 3., 4. ve 5. haftaların hastalık şiddeti gösterilmiş olup, bu üç haftanın ortalaması alınarak, % 42.42 hastalık şiddeti oranına sahip K(+)'ya göre irdelendiğinde, yaklaşık aynı değere sahip Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS (% 41.14) kombinasyonunun baskılama oranına göre oldukça düşük etki gösterdiği (% 3.01), diğer kombinasyonların ise % 35.03-23.20 aralığında hastalığı baskıladığı saptanmıştır.

Seçilen biyolojik kontrol ajanlarının *A. solani* EAb 1 izolatına karşı dördü kombinasyon dışında oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.12).

Bu kapsamda yapılan çalışmalarda da, AMF, PGPR ve *Trichoderma*'lar bitkilerde hastalıkların kontrol altına alınmasında önemli roller üstlenen biyolojik kontrol ajanları olarak nitelendirilmektedir (Murphy ve ark., 2003; Harman, 2006; Woo ve ark., 2006). Bu durum konukçu bitkinin biyolojik kontrol ajanını tanıma sürecinde bazı savunma mekanizmalarını aktif hale getirip, enzim ve hormon aktivitelerini arttırdığı ve bu süreçte aktivasyonların en yüksek seviyeye ulaştığı bilinmektedir (Azcon-Aguilar ve Barea, 1996; Morandi, 1996). Bu aktivasyonun etkisi ve mekanizmaları tam olarak ortaya konulmamakla birlikte; hızlı ve lokalize olmuş bir şekilde biyokimyasal savunma mekanizmaları neticesinde ortaya çıkan lignifikasyon, hidroksiproline ve hipersensitif reaksiyonlarla zenginleştirilmiş hücre duvarının oluşması ile aktive edilmiş fiziksel bariyerler ve antifungal enzimlerin üretilmesi gibi, mekanizmaların etkili olduğu belirtilmektedir (Demir ve Akköprü, 2007). Bu kapsamda, Silva ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada *B. cereus* antagonistinin, Shanmugam ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada *B. atrophaeus* S2BC-2 antagonistinin, Sundaramoorthy ve Balabaskar (2012) tarafından yapılan bir çalışmada *B. subtilis* (EPCO16 ve EPC5) ve *P. fluorescens* (Pf, Py15 ve Fp7) antagonistlerinin, Joseph ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada ise 5 farklı *Pseudomonas* türlerinin, domateste *A. solani*'ye karşı kontrollere kıyasla oldukça etkili PGPR'lar olduğu saptanmıştır. Fungal biyolojik kontrol ajanlarından olan *T. viride* ve *T. harzianum*'u kullanan Varma ve ark. (2008), yaptıkları bir çalışmada ise domateste *A. solani*'ye karşı hastalık şiddetini kontrollere oranla oldukça düşürdüğü saptanmıştır. Hem PGPR hem de fungal biyolojik kontrol ajanları kullanarak yapılan bir çalışmada ise yine *A. solani*'ye karşı oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir (Chowdappa ve ark., 2013). AMF'lerin *A. solani*'ye karşı etkisi üzerine yapılan çalışmalardan *G. intraradices*'in *A. solani* simptomlarını azalttığını (Fritz ve ark., 2005), *G. mosseae*'nin ise hastalık şiddetini düşürdüğü bildirilmiştir (Song ve ark., 2015). Ancak dörtlü kombinasyonda, bir arada kullanılan biyolojik kontrol ajanları arasında, antagonistik etki söz konusudur. Bu antagonistik etki, biyolojik kontrol ajanları tarafından metabolitlerin üretimi, besin ve yer için rekabet ile mikoparazitlik gibi değişik mekanizmalar tarafından meydana gelmiştir (Kredics ve ark., 2003; Aydın, 2015).

4.5.2. Biyolojik kontrol ajanlarının bitkinin morfolojik gelişimine olan etkileri

NTC₂, V₄₀K₂, Gm ile en virüent *A. solani* EAb 1 izolatının tekli, ikili, üçlü ve dörtlü kombinasyonlarının bitki morfolojik gelişim parametrelerine olan etkileri Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Uygulama gruplarının domates bitkisinin morfolojik gelişim parametreleri üzerine etkileri

Uygulama Grupları	Kök Yaş Ağırlık (g)	Sürgün Yaş Ağırlık (g)	Kök Kuru Ağırlık (g)	Sürgün Kuru Ağırlık (g)	Kök Boy (cm)	Sürgün Boy (cm)	Sürgün Çap (mm)	Yaprak Sayısı (bileşik yaprak/ adet)	Toplam Yaprak Alanı (cm ²)
	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.
K(-)	1.62± 0.66 ^{bcd} *	39.42± 6.91 ^{abc}	0.14± 0.03 ^{bcd}	4.16± 0.87 ^{abcd}	25.40± 3.78 ^{cd}	83.80± 6.57 ^{abc}	5.18± 0.58 ^c	9.20± 0.83 ^{bcd}	651.5± 73.81 ^{bcd}
K(+)	0.97± 0.92 ^e	33.16± 6.77 ^{bc}	0.09± 0.01 ^d	3.13± 0.57 ^{cd}	21.20± 5.54 ^d	82.40± 4.39 ^{bc}	5.39± 0.11 ^{bc}	8.40± 1.14 ^{cd}	459.7± 149.27 ^e
NTC ₂ +AS	2.13± 0.40 ^{abc}	42.47± 6.31 ^a	0.19± 0.04 ^{ab}	4.40± 1.10 ^{abc}	32.00± 2.00 ^{ab}	87.00± 5.14 ^{abc}	5.38± 0.16 ^{bc}	10.00± 0.70 ^{ab}	545.3± 60.28 ^{de}
Gm+AS	1.28± 0.29 ^{de}	37.47± 4.57 ^{abc}	0.13± 0.01 ^{bcd}	3.49± 0.34 ^{bcd}	29.80± 7.46 ^{abc}	91.40± 1.81 ^a	5.87± 0.63 ^{ab}	10.60± 0.54 ^a	605.9± 204.71 ^{cde}
V ₄₀ K ₂ +AS	2.27± 0.65 ^{ab}	41.16± 3.79 ^{ab}	0.22± 0.06 ^a	4.38± 0.89 ^{abc}	31.80± 4.49 ^{ab}	84.00± 5.33 ^{abc}	5.84± 0.37 ^{ab}	8.80± 0.44 ^{cd}	637.8± 71.03 ^{cd}
Gm+NTC ₂ +AS	1.67± 0.70 ^{bcd}	37.47± 8.48 ^{abc}	0.15± 0.07 ^{bcd}	3.72± 1.39 ^{abcd}	22.60± 4.61 ^{cd}	80.20± 5.76 ^c	6.07± 0.80 ^a	8.80± 0.83 ^{cd}	610.7± 148.59 ^{cde}
Gm+V ₄₀ K ₂ +AS	1.55± 0.27 ^{cde}	36.65± 2.26 ^{abc}	0.15± 0.02 ^{bcd}	3.72± 0.44 ^{abcd}	31.00± 7.24 ^{ab}	86.40± 5.07 ^{abc}	5.93± 0.43 ^{ab}	9.80± 0.83 ^{abc}	629.5± 87.50 ^{cd}
NTC ₂ +V ₄₀ K ₂ +AS	1.82± 0.45 ^{abcd}	43.64± 4.98 ^a	0.17± 0.03 ^{abc}	4.24± 0.69 ^{abcd}	27.00± 5.14 ^{cd}	88.20± 4.81 ^{ab}	5.87± 0.43 ^{ab}	9.60± 0.54 ^{abc}	705.3± 118.68 ^{bc}
Gm+NTC ₂ +V ₄₀ K ₂ +AS	1.26± 0.34 ^{de}	32.79± 2.17 ^c	0.11± 0.02 ^{cd}	2.96± 0.33 ^d	22.80± 7.12 ^{cd}	83.80± 9.52 ^{abc}	5.69± 0.52 ^{abc}	10.00± 0.70 ^{ab}	465.4± 35.43 ^e
Gm	1.71± 0.28 ^{abcd}	38.39± 6.28 ^{abc}	0.20± 0.01 ^{ab}	4.47± 0.73 ^{ab}	31.80± 5.80 ^{ab}	87.80± 4.96 ^{abc}	5.85± 0.20 ^{ab}	10.41± 0.54 ^a	670.4± 98.96 ^{bcd}
NTC ₂	2.37± 0.45 ^a	42.53± 5.26 ^a	0.25± 0.05 ^a	4.79± 1.00 ^{ab}	35.00± 3.31 ^a	85.80± 3.34 ^{abc}	6.13± 0.32 ^a	10.00± 0.70 ^{ab}	796.1± 51.60 ^{ab}
V ₄₀ K ₂	2.30± 0.66 ^{ab}	44.10± 4.62 ^a	0.24± 0.09 ^a	4.95± 1.38 ^a	27.60± 5.31 ^{abcd}	90.20± 2.77 ^{ab}	5.66± 0.18 ^{abc}	10.40± 0.54 ^a	874.6± 11.00 ^a

K(+): Pozitif kontrol AS: *A. solani* EAB 1 izolatı NTC₂: *T. viride* NTC₂ izolatı V₄₀K₂: *B. velezensis* V₄₀K₂
Gm: *G. mosseae*

*: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P< 0.05).

Çizelge 4.7’de görüldüğü üzere, tüm morfolojik gelişim parametreleri ile uygulama grupları arasında farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Genel olarak irdelendiğinde, K(+)'nın kök yaş ağırlığı (0.97 g), kök kuru ağırlığı (0.09 g), kök boyu (21.20 cm), yaprak sayısı (8.40 bileşik yaprak/adet) ve toplam yaprak alanında (459.69 cm²) en düşük değerlere ulaşırken, sürgün çapı dışındaki diğer parametrelerde ise K(-)'ye göre değerleri düşürmüştür. Sürgün çapında ise K(-) 5.18 mm ile en düşük değeri almıştır. Tekli kombinasyonlarda NTC₂, kök yaş ağırlığı (2.37 g), kök kuru ağırlığı (0.25 g), kök boyu (35.00 cm) ve sürgün çapında (6.13 mm) en yüksek etkiye

sahipken, V₄₀K₂ antagonisti ise sürgün yaş ağırlık (44.10 g), sürgün kuru ağırlık (4.95 g) ve toplam yaprak alanında (874.6 cm²) en yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. İkili kombinasyonlarından Gm+AS sürgün boyu (91.40 cm) ve yaprak sayısında (10.60 bileşik yaprak/adet) en yüksek değere sahipken, üçlü kombinasyonlarından Gm+NTC₂+AS ise sürgün boyunda (80.20 cm) en düşük değere sahip olduğu saptanmıştır. Dörtlü kombinasyon olan Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS ise sürgün yaş ağırlığı (32.79 g) ve sürgün kuru ağırlığında (2.96 g) en düşük değere sahip olup, yaprak sayısı dışında diğer parametrelerin gelişimine ise katkı sağlamadığı belirlenmiştir.

Biyolojik kontrol ajanlarının bitki gelişimine olumlu yönde katkı sağladıkları bilinmektedir. Yaptığımız bu çalışmada da NTC₂, V₄₀K₂ ve *G. mosseae*'nin oluşturduğu, dörtlü kombinasyon (yaprak sayısına olan etkisi hariç) ve Gm+NTC₂+AS'nin sürgün boyundaki etkisi dışında tüm kombinasyonları genel olarak bitki gelişim parametrelerine olumlu yönde etki ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Bu çalışmaya benzer yapılan diğer çalışmalarda da bu sonuçların örtüştüğünü görülmektedir. Abd-El-Hadi (1988) tarafından yapılan bir çalışmada kontrol gruplarına göre *G. mosseae* antagonistinin domates bitkisinin toplam yaş ağırlığını arttırdığı, Karagiannidis ve ark. (2002) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise sürgün ağırlığı ile bitki boyunu kontrole göre artırarak domates fidelerinin gelişimini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Aguilera-Gomez ve ark. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada *G. intraradices*'in biber bitkisinin yaprak alanına, yaprak sayısına, toplam bitkinin kuru ağırlığını kontrol gruplarına göre önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir. Fritz ve ark. (2006) tarafından yapılan çalışmada *G. intraradices*'in *A. solani* ile infekteli domates bitkilerinin sürgün ve kök kuru ağırlıklarını, Noval ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada ise *G. fasciculatum*'un yine *A. solani* ile infekteli domates bitkilerinin sürgün ve kök yaş ağırlıklarını kontrol gruplarına göre arttırdığı bildirilmiştir.

Chowdappa ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada *B. subtilis* OTPB1 ve *T. harzianum* OTPB3 izolatlarının *A. solani* ile infekteli domates bitkilerinin kontrol gruplarına kıyasla sürgün ve kök boyları ile ağırlıklarını ve toplam yaprak alanlarını önemli ölçüde arttırdığı tespit edilmiştir. Antagonist *Trichoderma* türlerinin *A. tenuis* ile infekteli birber bitkileri (Begum ve ark., 2010) ile antagonist *Pseudomonas* türlerinin *A. solani* ile infekteli domates bitkilerinin boy oranlarını kontrollere göre önemli derecede arttırdığı saptanmıştır (Joseph ve ark., 2017). Yaptığımız çalışmada da toplam yaprak

alanı ile sürgün ve kök boyları ile ağırlıklarını PGPR ve *Trichoderma*'nın arttırdığı saptanmış olup, bu çalışmaların bulgularıyla örtüşmektedir.

Çalışmamızda genel olarak bakıldığında tekli uygulamaların yanı sıra ikili ve üçlü kombinasyonlu uygulamalarında bitki gelişimine olumlu katkı sağladığını, dördü kombinasyonlu uygulamanın ise katkı sağlamadığını görmekteyiz (Çizelge 4.7, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16). Yapılan bazı çalışmalarda yaptığımız çalışmayı desteklemektedir. Bu kapsamda Akköprü ve ark. (2004) tarafından yapılan çalışmada *G. intraradices*'in Floresant *Pseudomonas* (FP) 33/K izolatu ile oluşturdukları ikili kombinasyonu bitki boyunu önemli ölçüde arttırdığı, FP(17) izolatu ile oluşturduğu ikili kombinasyonu ise bitkinin kuru ve yaş ağırlığında önemli artış sağladığı tespit edilmiştir. Kabdwal ve ark. (2019) tarafından yapılan benzer bir çalışmada *T. harzianum* (Th43), *P. fluorescens* (Pf173) ve AMF'lerin hem tekli hem de ikili ve üçlü kombinasyonları domates bitkisinin boyu ve yaprak sayısında kontrole göre önemli artışlar sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca *P. fluorescens* Os25, *G. fasciculatum* ve *T. viride* antagonistlerinin *F. oxysporum* ve *Rhizoctonia bataticola* ile oluşturdukları dördü kombinasyonlarının siyah mercimek bitkisinin kök gelişimine kontrollere göre kıyaslandığında etki etmediği tespit edilmiştir (Sujatha ve Ammani, 2013).



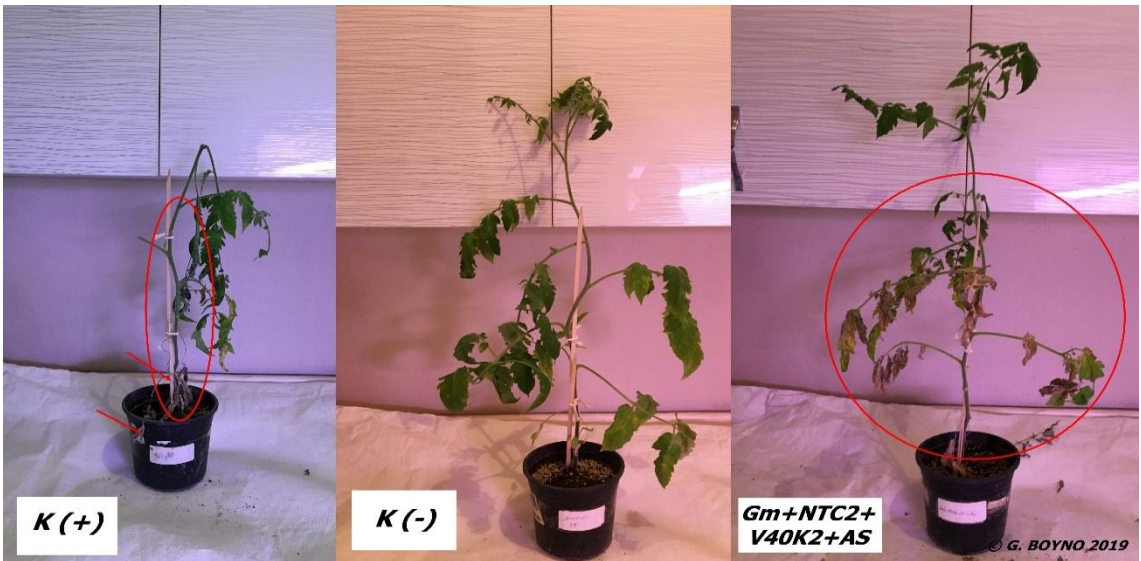
Şekil 4.13. Tekli kombinasyonlarının bitkinin morfolojik gelişimine etkisi.



Şekil 4.14. İkili kombinasyonlarının bitkinin morfolojik gelişimine etkisi.



Şekil 4.15. Üçlü kombinasyonlarının bitkinin morfolojik gelişimine etkisi.



Şekil 4.16. Dörtlü kombinasyonun bitkinin morfolojik gelişimine etkisi.

4.5.3. Biyolojik kontrol ajanlarının bitkinin klorofil yoğunluğuna, toplam fenolik madde miktarına, antioksidan aktivitesine ve toplam fosfor miktarına olan etkileri

Seçilen biyolojik kontrol ajanları ile *A. solani* EAb 1 izolatının uygulanması sonucu bitkideki biyokimyasal değişiklikleri saptamak amacıyla toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi ile toplam fosfor miktarı ve toplam klorofil yoğunluğu analizleri yapılmış olup, sonuçlar Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Uygulama gruplarının haftalara göre toplam klorofil yoğunluğu ile toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivitesi ve toplam fosfor miktarına olan etkileri

Uygulama Grupları	3. HTKY	4. HTKY	5. HTKY	TFMM (725nm) (%)	TFMM (700nm) (%)	AA (593nm) (%)	TPM (430nm) (%)
	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.	$\bar{x} \pm$ S.S.
K(-)	37.80± 2.812 ^{ab}	40.97± 5.591 ^{ab}	43.44± 3.785 ^{ab}	58.16± 6.224 ^b	60.08± 6.294 ^b	6.85± 2.524 ^{cd}	4.35± 0.492 ^d
K(+)	37.91± 1.262 ^a	36.85± 2.155 ^b	43.93± 4.254 ^{ab}	46.77± 5.365 ^{cd}	50.21± 2.365 ^{cd}	4.39± 1.574 ^d	8.24± 0.201 ^a
NTC ₂ +AS	38.69± 3.285 ^a	43.47± 2.634 ^a	45.82± 2.362 ^a	53.38± 5.924 ^{bc}	55.17± 5.901 ^{bc}	5.04± 2.312 ^d	6.40± 0.991 ^{bc}
Gm+AS	39.87± 1.656 ^a	42.02± 1.852 ^{ab}	41.63± 2.812 ^{ab}	44.87± 5.974 ^{cd}	46.48± 6.128 ^{cd}	4.83± 1.329 ^d	6.01± 0.754 ^{bc}
V ₄₀ K ₂ +AS	38.82± 2.987 ^a	42.57± 5.041 ^{ab}	44.31± 4.324 ^{ab}	40.66± 9.882 ^d	43.41± 8.514 ^d	5.96± 2.077 ^d	6.44± 0.755 ^{bc}
Gm+NTC ₂ +AS	39.05± 4.444 ^a	40.92± 4.874 ^{ab}	41.92± 3.423 ^{ab}	45.81± 6.643 ^{cd}	47.36± 6.739 ^{cd}	11.10± 2.802 ^b	7.04± 1.616 ^{ab}
Gm+V ₄₀ K ₂ +AS	39.69± 2.355 ^a	41.19± 3.423 ^{ab}	39.55± 2.154 ^b	47.06± 8.604 ^{cd}	48.40± 8.854 ^{cd}	4.39± 1.785 ^d	5.89± 0.642 ^{bc}
NTC ₂ +V ₄₀ K ₂ +AS	40.20± 4.274 ^a	42.57± 4.482 ^{ab}	44.30± 4.282 ^{ab}	44.53± 5.040 ^{cd}	45.76± 4.765 ^{cd}	10.45± 2.912 ^{bc}	6.00± 0.412 ^{bc}
Gm+NTC ₂ +V ₄₀ K ₂ +AS	40.67± 2.382 ^a	42.81± 3.664 ^{ab}	44.47± 5.375 ^{ab}	51.38± 6.423 ^{bcd}	52.88± 6.577 ^{bcd}	4.90± 1.913 ^d	7.38± 1.690 ^{ab}
Gm	41.81± 5.612 ^a	42.24± 5.575 ^{ab}	45.87± 3.132 ^a	65.91± 6.802 ^a	68.19± 6.674 ^a	15.73± 7.414 ^a	6.07± 1.491 ^{bc}
NTC ₂	40.24± 5.253 ^a	40.97± 4.212 ^{ab}	44.69± 3.032 ^{ab}	60.05± 10.194 ^{ab}	61.92± 10.621 ^{ab}	6.79± 1.788 ^{cd}	5.32± 0.848 ^{cd}
V ₄₀ K ₂	40.53± 2.744 ^a	43.24± 3.212 ^a	44.24± 2.191 ^{ab}	59.70± 10.112 ^{ab}	61.70± 10.419 ^{ab}	6.68± 3.012 ^{cd}	4.97± 0.827 ^{cd}

K(+): Pozitif kontrol AS: *A. solani* EAB 1 izolatı NTC₂: *T. viride* NTC₂ izolatı V₄₀K₂: *B. velezensis* V₄₀K₂
Gm: *G. mosseae* HTKY: Hafta toplam klorofil yoğunluğu TFMM: Toplam fenolik madde miktarı AA: Antioksidan aktivitesi TPM: Toplam fosfor miktarı

*: Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P< 0.05).

Çizelge 4.8’de verilen sonuçlar ışığında, patojen izolatı inokulasyondan 3., 4. ve 5. haftalarda yapılan klorofil yoğunluğu ölçümleri ile uygulama grupları arasında istatistiksel olarak fark önemsiz bulunurken (P>0.05), diğer parametrelerin ise uygulama grupları ile arasında ki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Klorofil miktarlarında genel olarak bakıldığında, Gm uygulamasının patojen inokulasyonundan 3.

ve 5. haftalarda yapılan ölçümlerde sırasıyla 41.81 ve 45.87 oranları ile en yüksek değere sahipken, 4. haftada ise NTC₂+AS ve V₄₀K₂ uygulamaları sırasıyla 43.47 ve 43.24 oranlarla en yüksek değere sahip olduğu belirlenmiştir. Benzer çalışmalarda, Li ve ark. (2013) narenciyelerde, Altunlu (2019) ise kapyta biberlerde AMF'nin toplam klorofil yoğunluğunu kontrollere göre arttırdığı belirlenmiştir. Patlıcanda yapılan bir çalışmada ise hem *Trichoderma* spp.'nin hemde *B. subtilis* SY1 izolatının klorofil miktarını arttırdığı bildirilmiştir (Liu ve ark., 2009). PGPR antagonistleri olan *P. putida* ve *P. fluorescens* izolatlarının ise *A. solani* ile infekteli domates bitkilerinde klorofil miktarını kontrol gruplarına göre arttırdığı saptanmıştır (Dawoud ve ark., 2012). Yapılan bu çalışmaların bulguları araştırmamızın bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Willcox (2003) ve Walia ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmalarda, araştırmamızın test bitkisininide oluşturan domates bitkisinin, özelliklede kırmızı meyve oluşturan çeşitleri toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi bakımından oldukça zengin olup, yüksek miktarda flavonoid ve türevlerini içerdiğini tespit etmiştir. Bu çalışmalar ile yaptığımız araştırma bulguları birbiriyle örtüşmekte olup, K(-) uygulaması ile özellikle de tekli kombinasyonlara bakıldığında toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesinin yüksek olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.8).

Toplam fenolik madde miktarlarında 725 nm ve 700 nm'de okunan sonuçlar ışığında sırasıyla K(-)'ye göre, % 65.91 ve % 68.19 oranlarla Gm etkili olduğu ve bunu NTC₂ (% 60.05/% 61.92) ve V₄₀K₂ (% 59.70/% 61.70) uygulamalarının takip ettiği belirlenmiştir. Toplam antioksidan miktarında 593 nm'de okunan değerlere göre, yine Gm uygulaması % 15.73 oranla önemli derecede etkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuçların K(+)'ya göre irdelendiğinde ise tekli kombinasyonlarının yanı sıra NTC₂+AS (% 58.33/% 55.17) ve Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS (% 51.38/% 52.88) kombinasyonlarının toplam fenolik madde miktarını; Gm+NTC₂+AS (%11.10) ve NTC₂+V₄₀K₂+AS (% 10.45) kombinasyonlarının da antioksidan aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

Fenolik bileşikler, bilindiği gibi aromatik bir halkayı barındıran geniş bir madde gurubu olup, bitki bünyesinde flavonoidler ve türevleri olarak bulunur. Fenolik bileşiklerde flavonoid türevleri ise oldukça önemli antioksidanlar olduğu bilinmektedir. Fenolik bileşikler ve buna bağlı antioksidanlar bitki patojenlerine karşı, fenol gruplarına göre farklılık gösterebilmektedir (Boyras ve Sürel, 2004). Yaptığımız çalışmada da toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin patojenli kombinasyonlara

göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan benzer çalışmalarda ise PGPR ve fungal biyolojik kontrol ajanlarının ile *A. solani*'nin oluşturdukları kombiasyonları karpuzda toplam fenolik madde miktarını artırdığı, *A. solani* uygulamasının ise azalttığı saptanmıştır (Umamaheswari ve ark., 2009). Rabie (1998) ve Şavur (2015) tarafından yapılan çalışmalarda ise, AMF uygulamasının toplam fenolik madde miktarını kontrole göre önemli derecede arttırdığı, patojen uygulamasının ise azalttığı, Doley ve Jite (2014) tarafından yapılan çalışmada ise hem *T. viride*'nin hem AMF'nin toplam fenolik madde ve antioksidan miktarını arttırdığı saptanmıştır. AMF kullanılarak yapılan bir araştırmada da, AMF'nin kopya biberlerde antioksidan aktivitesini (Altunlu, 2019); başka bir çalışmada ise hem toplam fenolik madde miktarını hem de antioksidan aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir (Hernández-Ortega ve ark., 2012). Bu araştırmaların bulguları tarafımızdan yapılan çalışmanın bulgularıyla paralellik göstermiştir.

Toplam fosfor miktarının 430 nm'de okunan değerler ışığında, K(+) ile Gm+NTC₂+V₄₀K₂+AS ve Gm+NTC₂+AS kombinasyonları sırasıyla % 8.24, % 7.38 ve % 7.04 oranlarında önemli ölçüde fosfor miktarını arttırırken, genel olarak bakıldığında AS ile yapılan kombinasyonların tümü ile Gm uygulamasının fosfor artışında bulunduğu saptanmıştır (Çizelge 4.8). *A. solani* gibi yaprak patojeni olan *Botrytis fabae* ile *G. mosseae* kombinasyonlarının P miktarını arttırdığı belirtilmiştir (Rabie, 1998). Akköprü ve Demir (2005) tarafından yapılan çalışmada ise domateste PGPR ve AMF'nin ikili kombinasyonlarının yeşil aksamda P içeriğini yükselttiği; Demir ve ark. (2015) tarafından yapılan başka bir çalışmada da, biber bitkilerinde *G. mosseae*+*Verticillium dahliae* kombinasyonunun, domateste ise *V. dahliae* patojeninin fosfor içeriğini önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalar tarafımızdan yapılan araştırmanın bulgularıyla da paralellik göstermiştir.

4.5.4. Bitki köklerinde *G. mosseae*'nin AMF kolonizasyonu ve rizosfer bölgesindeki spor yoğunluğu ile mikorizal bağımlılığa olan etkisi

A. solani EAb 1 ile infekteli domates bitkilerinin *G. mosseae* (Gm) ile oluşturdukları tüm kombinasyonları bölüm 3.2.10.6.1'de anlatıldığı gibi fiksasyon ve boyama aşamalarından geçerek AMF kök kolonizasyonu; bölüm 3.2.10.6.2'de anlatıldığı gibi rizosfer toprağında AMF spor yoğunluğu ışık mikroskobu altında incelenerek alınan sonuçlar ile mikorizal bağımlılık Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. AMF'li uygulama gruplarının AMF kök kolonizasyonu, rizosfer spor yoğunluğu ve mikorizal bağımlılığa olan etkileri

Uygulama Grupları	AMF Kök Kolonizasyonu (%)	Rizosfer Spor Yoğunluğu (spor/g toprak)	Mikorizal Bağımlılık (%)
	$\bar{x} \pm S.S.$	$\bar{x} \pm S.S.$	
Gm	78.6±7.27 ^{a*}	30.0±3.53 ^a	+(31.05)
Gm+AS	76.0±3.89 ^a	29.2±2.16 ^a	+(11.05)
Gm+NTC ₂ +AS	81.9±3.12 ^a	28.0±4.74 ^a	+(16.80)
Gm+V ₄₀ K ₂ +AS	73.6±14.32 ^a	29.0±4.52 ^a	+(16.80)
Gm+NTC ₂ +V ₄₀ K ₂ +AS	69.2±11.59 ^a	28.2±5.54 ^a	-(4.89)

K(+): Pozitif kontrol AS: *A.solani* EAB 1 izolatu NTC₂: *T. viride* NTC₂ izolatu V₄₀K₂: *B. velezensis* V₄₀K₂
Gm: *G. mosseae* +: Mikorizal bağımlılık var, -: Mikorizal bağımlılık yok

*: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P< 0.05).

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi, tüm *G. mosseae* (Gm) uygulamalarında AMF kök kolonizasyon yoğunluğu % 69.2-81.9 arasında, rizosferde spor yoğunluğu ise 28.0-30.0 spor/g toprak aralığında değişkenlik göstermiş ancak istatistiksel olarak fark görülmemiştir (P>0.05).

AMF'ler özellikle de Solanaceae familyasına ait bitkilerin köklerinde yüksek oranda kolonize olabilme yeteneğine sahiptirler (Demir, 2002; Demir ve ark., 2015). Yaptığımız çalışmada da Gm uygulamalarının Solanaceae familyasına ait domateste yüksek oranda hem AMF kök kolonizasyonu hem de g topraktaki AMF spor yoğunluğu olduğu görülmüştür (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.17). Bu kapsamda yapılan çalışmalarda Yıldız (2010) *Glomus*'un kök kolonizasyon oranı biberde % 61, hıyarda % 71 ve domateste % 72 oranında tespit etmiştir. Ayrıca Caron ve ark., (1985a; 1985b), Özgönen ve ark. (2001), Al-Askar ve Rashad (2010) ve Aslanpay (2011) tarafından yapılan benzer çalışmalarda da, AMF kök kolonizasyonu ile uygulamalar arasında istatistiksel düzeyde önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Şavur (2015) tarafından yapılan çalışmada ise AMF uygulamalarının kök kolonizasyonu ve rizosferde spor yoğunluğuna patojenin etki etmediği belirtilmiş ve tarafımızdan yapılan çalışmanın bulgularıyla paralellik göstermiştir.



Şekil 4.17. AMF'li uygulama gruplarının AMF kök kolonizasyonu ve rizosfer spor yoğunluğu.

Bitkilerde mikorizal funguslara bağımlılık iyi bir gelişme gösterebilmesi için gereklidir. Yaptığımız çalışmada AMF'nin dörtlü kombinasyonu dışında mikorizal bağımlılık yönünden etkin olduğu; +31.05 ile en yüksek etkiyi Gm'nin gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Subramanian ve ark. (2006), Kumar ve ark. (2010) ve Ruiz-Lozano ve ark. (2016) tarafından yapılan benzer çalışmalarda domateslerde AMF uygulamasının mikorizal bağımlılığı arttırdığı yönünde olmuştur.

AMF'ler, kökte olduğu gibi rizosfer ve rizosfer toprağında da bulunan diğer mikroorganizmalar ile interaksiyon halindedir. Bu tür ilişkiler birbirini teşvik edeceği gibi rekabet ve/veya antibiyosis gibi antionistik etkiler sonucunda, birbirleri üzerinde olumsuz etkiler de oluşturabilirler (Palta ve ark., 2010). Bu tip etkileşimler, AMF'nin yaşam döngüsündeki spor yoğunluğundan kök kolonizasyonuna kadar bütün gelişim devrelerinde saptanabilmektedir (Fitter and Garbaye, 1994). Tarafımızdan yapılan çalışma da, dörtlü kombinasyonda kullanılan biyolojik kontrol ajanlarının, birbirlerine karşı antionistik etki oluşturduğu ve bunun sonucunda da, mikorizanın bitkiyle simbiozis oluşumunu olumsuz etkilediği tespit edilmiştir.



5. SONUÇ

Van ilinde yapılan survey kapsamında domateslerde erken yanıklık hastalığına neden olan *Alternaria solani* etmenine karşı biyolojik mücadele olanakları araştırılmış ve elde edilen verilere göre, sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. Çalışmanın ilk adımını oluşturan survey çalışmasında Gevaş, Edremit ve Erciş ilçelerine bağlı domates alanlarının büyük bir bölümünde erken yanıklık etmeni *A. solani* teşhis edilmiştir. Ayrıca teşhisi yapılan bu etmenin büyük bir kısmı Ağustos ayında yapılan ziyaretlerde belirlenmiştir. Bu bölgede yapılacak olan benzer çalışmalarda, Ağustos ayında ziyaret edilmesi, emek-zaman açısından daha verimli olabileceği söylenebilir.
2. Van'da domates alanlarında izole edilen *A. solani* izolatları, bölgeleri temsil etmek üzere seçilerek patojenite testine tabii tutulmuştur. Bu test sonucunda Gevaş/Aladüz domates alanlarında izole edilen *A. solani* EAb 1 izolatı, en virüent izolat olarak belirlenmiştir. Özellikle de inokulasyondan sonra 5. haftada hastalık şiddeti oranı % 50'leri aşmıştır. En virüent 2. izolat ise yine Gevaş/Atalan domates alanlarında teşhis edilen *A. solani* GATd 1 izolatı olmuştur. Bu çalışmada *A. solani*'nin inokulasyondan sonra 3. haftada simptom gösterdiği ve ilerleyen haftalarda da bu simptomların arttığı saptanmış olup, mücadele programlarının özellikle de biyolojik mücadele çalışmalarının daha erken zamanlarda yapılması avantaj sağlayabilir.
3. Van'da domates alanlarında survey kapsamında 5 *Trichoderma* biyolojik kontrol ajanı izole edilmiştir. Kültür stoklarından 3 *Trichoderma* türü de eklenerek toplam 8 fungal biyolojik kontrol ajanı *in vitro* koşullarda en virüent olarak seçilen *A. solani* EAb 1 izolatına karşı ikili kültür tekniği kapsamında etkisine bakılmıştır. Biyolojik kontrol ajanlarının % 13.25-53.98 aralığında inhibisyon oranı ve 1.40-3.00 aralığında antagonizm derecesi belirlenmiştir. En etkili fungal biyolojik kontrol ajanı ise Erciş/Kuzluca domates alanlarında izole edilen *T. viride* NTC₂ izolatı seçilmiştir. Yoğun olarak domates yetiştiriciliği yapılan bu alanlarda *A. solani* izolatlarının yanı sıra biyolojik kontrol ajanlarının da saptanması doğal dengenin korunması açısından ümitvar bir sonuç olduğu düşünülebilir.

4. Daha önce Van bölgesinde çeşitli bitkiler üzerinde izole edilmiş 8 PGPR antagonistleri domatesin gelişim parametrelerine olan etkileri ve en virulent olarak seçilen *A. solani* EAb 1 izolatına karşı hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarında etkisine bakılmıştır. Tüm PGPR antagonistleri domatesin morfolojik gelişimine olumlu yönde katkı sağladığı belirlenmiştir. Antagonistik etki bakımından ise *B. velezensis* V₄₀K₂ ile V₃₀Y₃ izolatları patojen izolata karşı en iyi etki göstermiştir. Bu aşamalardan sonra seçilen 5 PGPR antagonisti *A. solani* EAb 1 izolatu ile infekteli domates bitkilerinde, hastalık şiddeti ve gelişim parametrelerine bakılmıştır. Tüm PGPR antagonistleri % 17.97-34.27 aralığında hastalık şiddeti oranı gösterdiği ve domatesin morfolojik gelişimini arttırdığı belirlenmiştir. En etkili PGPR antagonisti ise biber bitkisinden izole edilen *B. velezensis* V₄₀K₂ izolatu olarak seçilmiştir. Domateste *A. solani*'ye karşı kullanılan PGPR antagonistlerinin önemli bir potansiyele sahip olduğu ve biyolojik mücadele kapsamında kullanımı verimi arttıracak gibi hastalıklarla da mücadelede etkili olabileceği söylenebilir.
5. Biyolojik kontrol ajanları olarak belirlenen *T. viride* NTC₂, *B. velezensis* V₄₀K₂ ve *G. mosseae*'nin, *A. solani* EAb 1 izolatına karşı bir arada kullanılmasında % 3.01 oranında oldukça düşük baskılama oranına sahipken, diğer uygulama gruplarının % 23.20-35.03 oranında hastalık şiddetini baskıladığı saptanmıştır. Özellikle de patojen inokulasyondan sonra 5. haftada ölçülen sonuçlara göre, pozitif kontrolün hastalık şiddeti oranı % 50'leri geçtiği; *T. viride* NTC₂'nin ve *G. mosseae* ile oluşturduğu kombinasyonunun en iyi uygulama grupları olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar ışığında, biyolojik mücadele ajanlarının *A. solani*'ye karşı bitkinin savunma mekanizmalarını harekete geçirdiği, ancak bu üç biyolojik kontrol ajanlarının bir arada kullanılması ise savunma mekanizmasını etkilemediği veya olumsuz etkilediği düşünülmektedir.
6. Biyolojik kontrol ajanlarının *A. solani* EAb 1 izolatuyla infekteli domates bitkilerinin, dörtlü kombinasyon (yaprak sayısına olan etkisi hariç) ve Gm+NTC₂+AS'nin sürgün boyundaki etkisi dışında tüm kombinasyonları genel olarak bitki gelişim parametrelerine olumlu yönde etki ettiği tespit edilmiştir. Tıpkı hastalık şiddetinde olduğu gibi bitki gelişiminde de biyolojik mücadele ajanlarının bir arada kullanılması etkili olmadığı belirlenmiştir.

7. Seçilen biyolojik kontrol ajanları ve *A. solani* EAb 1 patojen izolatu ile yapılan uygulama gruplarının domates bitkisinde toplam klorofil yoğunluğunda istatistiksel olarak fark olmamakla beraber *G. mosseae*'li uygulamada yüksek değerlerde olduğu; toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi ile fosfor miktarını arttırdığı belirlenmiştir. Ayrıca toplam fenolik madde içeriğini ve antioksidan aktivitesini *G. mosseae* ile beraber *T. viride* NTC₂ ve *B. velezensis* V₄₀K₂ önemli derecede arttırırken, infekteli bitkilerde *T. viride* NTC₂'nin pozitif konrole göre toplam fenolik madde miktarını, *G. mosseae* ve *B. velezensis* V₄₀K₂ ile oluşturduğu kombinasyonlarında da, antioksidan aktivitesini arttırdığı tespit edilmiştir. Bu durum bitkideki bazı biyokimyasal olayları etkileyerek bitkinin patojene karşı savunma mekanizmalarını harekete geçirdiği ve bunu *T. viride* NTC₂ biyokontrol ajanının, kombinasyonlara göre değişiklik göstermekle beraber, daha başarılı bir şekilde yaptığı düşünölmektedir.
8. *A. solani* EAb 1 ile infekteli domates bitkilerinin *G. mosseae* ile oluşturdukları tüm kombinasyonlarının % 69.23-81.82 aralığında değişen AMF kök kolonizasyonu ile 28.00-30.00 spor/g toprak aralığında değişkenlik gösteren topraktaki spor yoğunluğu yüksek oranlarda olduğu belirlenmiştir. Ayrıca mikorizal bağımlılıkta 3 biyolojik kontrol ajanlarının birada kullanılmasıyla oluşturulan kombinasyon haricinde *G. mosseae*'nin oldukça etkili olduğu görölmektedir. Bu kapsamda patojen izolatu AMF'yi olumsuz etkilemediği görölmüş ve biyolojik mücadelede açısından da bu durumun oldukça önemli olduğu söylenebilir.

Bu sonuçlar baz alınarak; yapılan bu araştırma Van'da domates alanlarında problem oluşturan *A. solani*'ye karşı, biyolojik kontrol ajanlarının belirlenmesi ve bunlarla oluşturulan kombinasyonlara göre etkilerinin saptanmasında biyolojik mücadele adına önemli bir katkı sağlamıştır. Ayrıca bu çalışma, oluşturulan kombinasyonların bitkinin morfolojik gelişimini ve biyokimyasal reaksiyonlarını nasıl etkilediklerini ortaya koymuştur. Bu yönüyle de özellikle de sebze fidesi yetiştiriciliği için göz ardı edilmeyecek önemli sonuçlar sağlamıştır.



KAYNAKLAR

- Abak, K., Daşgan, H.Y., Sarı, N., 2000. **Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Biber Yetiştiriciliği**. Türkiye Bilimsel ve Teknik Arş. Grubu, Adana. 4-18.
- Abd-El-Hadi, M. A., 1988. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizae with root-knot nematode in tomato [Egypt]. **Journal of Agricultural Science Mansoura Univ.(Egypt)**, **13**(1): 121-126.
- Abo-Elyousr, K.A., Abdel-Hafez, S.I., Abdel-Rahim, I.R., 2014. Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria porri*. **Journal of Phytopathology**, **162**(9): 567-574.
- Acquaah, G., 2002. Principles of crop production: Theory. **Techniques and Technology**. 460.
- Agrios, G.N., 1997. Identification of a previously unknown disease. **Plant Pathology**. 4th ed., Academic Press, San Diego, CA. 39-40.
- Aguilera-Gomez, L., Davies, F.J., Olalde-Portugal, V., Duray, S.A., Phavaphutanon, L., 1999. Influence of phosphorus and endomycorrhiza (*Glomus intraradices*) on gas exchange and plant growth of chile ancho pepper (*Capsicum annuum* L. cv. San Luis). **Photosynthetica**, **36**(3): 441-449.
- Akköprü, A., Demir, S., 2005. Biological control of *Fusarium* wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. **Journal of Phytopathology**, **153**(9): 544-550.
- Akköprü, A., Demir, S., Özaktan, H., 2005. Farklı Fluoresant Pseudomonas (FP) izolatları ve arbusküler mikorhizal fungus (AMF) *Glomus intraradices*' in domates' teki bazı morfolojik parametrelere ve *Fusarium solgunluğuna* (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) etkisi. **Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi**, **15**(2): 131-138.
- Al-Askar, A.A., Rashad, Y.M., 2010. Arbuscular Mycorrhizal Fungi: A biocontrol agent against common bean fusarium root rot disease. **Plant Pathology Journal**, **9**: 31-38.
- Altunlu, H., 2019. Tuzlu koşullarda mikoriza uygulamasının kopya biberde (*Capsicum annuum* L.) Fide gelişimi ve antioksidant enzimler üzerine etkisi. **Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, **56**(2): 139-146.
- Amin, F., Razdan, V.K., Mohiddin, F. A., Bhat, K. A., Sheikh, P.A., 2010. Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* species against seven fungal plant pathogens in-vitro. **Journal of Phytology**, **2**(10): 34-37.
- Anonim, 2014. Natural History Museum. <http://www.nhm.ac.uk>. Erişim Tarihi: 01.04.2019
- Anonim, 2017. FAOSTAT–Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#home>. Erişim Tarihi:15.03.2019
- Anonim, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı. <http://www.tuik.gov.tr/PreTabloArama.do?metod=search&araType=vt>. Erişim Tarihi: 21.04.2019
- Anonim, 2019. Mycobank. <http://www.mycobank.org/BioloMICSDetails.aspx?Rec=31786>. Erişim Tarihi: 08.05.2019

- Aslan, I., Çoruh, S., Özbek, H., Yaman, M., Şahin, F., 2005. *Brevibacillus agri*, a pathogenic bacterium of *Malacosoma neustria* (Lepidoptera: Lasiocampidae). **Fresenius Environmental Bulletin**, **14**: 98-100.
- Aslanpay, B., Demir, S., 2015. Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve hümik asit'in biber (*Capsicum annum* L.) Bitkisinin gelişimi ve *Phytophthora capsici* Leonian 'ın neden olduğu kök boğazı çürüklüğü hastalığına etkileri. **YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi** **25**(1): 45-57.
- Aybak, Ç., Kaygısız, H., 2007. **Domates Yetiştiriciliği**. Hasad Yayıncılık. ISBN-975-8377-24-8. İstanbul, 242.
- Aydın, A., 2004. Antioksidanlar. **40. Türk Pediatri Kongresi**. 24 Haziran, İstanbul.
- Aydın, M.H., 2015. Bitki fungal hastalıklarıyla biyolojik savaşta *Trichoderma*'lar. **Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi**, **2**(2): 135-148.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M., 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens an overview of the mechanisms involved. **Mycorrhiza** **6**: 457-464.
- Bardık, Y., 1997. **Domates Fillofer Mikoflorasının Alternaria solani'ye Antagonistik Etkisinin Saptanması** (yüksek lisans tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Barry A.L., F. Garcia, L.D. Thrupp. 1970. An improved single disk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. **Amer. J. Clin. Pathol.** **53**:149-158.
- Basım, H., 1990. **Bazı Bacillus subtilis İzolatlarının Önemli Bitki Patojeni Funguslara Karşı in Vitro Kosullarda Antagonistik Etkilerinin Arastırılması** (yüksek lisans tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Begum, M.F., Rahman, M.A., Alam, M.F., 2010. Biological control of *Alternaria* fruit rot of chili by *Trichoderma* species under field conditions. **Mycobiology**, **38**(2): 113-117.
- Bell, D.K., Wells, D.H., Markham, C.R., 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, **72**: 379-382.
- Benzie, I. E. F., Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, **239**: 70-76.
- Blancard, D., 2005. **Domates Hastalıkları**. Hasad Yayıncılık Ltd. Şti. 978-975-8377-44-2. İstanbul. 232.
- Brame, C., Flood, J., 1983. Antagonism of *Aureobasidium pullulans* towards *Alternaria solani*. **Tarbs Br. Mycol. Soc.** **81**: 621-624.
- Bolan, N.S., Robson, A.D., Barrow, N.J., 1987. Effects of vesicular arbuscular mycorrhizae the availability of iron phosphates to plants. **Plant and Soil**, **99**: 401 - 410.
- Bora, T., Karaca, T., 1970. **Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi**. EÜ Zir. Fak. Yardımcı Ders Kitabı, İzmir. 167.
- Bora, T., Özaktan, H., 1998. **Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş**. Prizma Matbaası. İzmir. 205.
- Bora, T., 2002. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savasta gelişmeler ve Türkiye 'de durum. **Türkiye 5. Biyolojik Mücadele Kongresi Çağrılı Bildirisi**. 4-7 Eylül 2002. Erzurum.
- Boyraz N., Sürel B., 2004. Roles of phenolics in plant diseases resistance. **Selçuk Univ. Agric. Fac.**, **18**(34): 56-69.

- Caron, M., Fortin, J. A., Richard, C., 1985a. Effect of glomus intraradices on infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici* in tomatoes over a 12-week period. **Cant. J. Bot.**, **64**:552-556.
- Caron, M., Fortin, J. A., Richard, C., 1985b. Influence of substrate on the interaction of glomus intraradices and *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici* on tomatoes. **Plant and Soil**, **87**: 233-236.
- Cerkauskas, R., 2005. **Early blight**. AVRDC, the world vegetable centre.
- Chattopadhyay, S.K., Nandi, B., 1982. Inhibition of *Helminthosporium oryzae* and *Alternaria solani* by *Streptomyces longisporus* (Krasilnikov) Waksman. **Plant and Soil** **69**: 171–175.
- Chet, I., Barak, Z.I., Oppenheim, A., 1993. Genetic engineering of microorganisms for improved biocontrol activity. **Tn Biol-echndological Propec Plant Disease Control**: 211-235.
- Chowdappa, P., Mohan Kumar, S.P., Jyothi Lakshmi, M., Upreti K.K., 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. **Biological Control**, **65**(1): 109–117.
- Cook, R. J., Baker, K.F., 1983. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. American Phytopathological Society.
- Dawoud, M.E., Kamel, Z., Hanaa, A., Farahat, M.G., 2012. Growth promotion and biocontrol of leaf spot and leaf speck diseases in tomato by *Pseudomonas* spp. **Egypt J Exp Biol**, **8**: 61-70.
- Declerck, S., Plenchette, C., Strullu, D.G., 1995. Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. **Plant Soil**, **176**: 183-187.
- Demir, S., 1998. **Bazı Kültür Bitkilerinde Vesiküler-Arbusküler Mikorhiza (VAM) Oluşumu Ve Bunun Bitki Gelişimi Ve Dayanırlılıktaki Rolü Üzerine Araştırmalar**. (basılmamış, doktora tezi). E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir.
- Demir, S., 2002. Arbusküler mikorhizal fungus (amf) *Glomus intraradices* (Schenck&Smith)'in bazı sebze bitkilerinde oluşumu ve kolonizasyonu. **YYÜ Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi**, **12**(1): 53-57.
- Demir, S., Akköprü, A., 2007. Using of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) for biocontrol of soil-borne fungal plant pathogens. **In: Biological Control of Plant Diseases**:17-37.
- Demir, S., Şensoy, S., Ocak, E., Tüfenkci, Ş., Durak, E.D., Erdinc, C., Ünsal, H., 2015. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus, humic acid, and whey on wilt disease caused by *Verticillium dahliae* Kleb. in three solanaceous crops. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, **39**(2): 300-309.
- Devi, N. O., Singh, N. I., Devi, R. T., Chanu, W. T., 2017. In Vitro Evaluation of *Alternaria solani* (Ellis and Mart.) Jones and Grout Causing Fruit Rot of Tomato by Plant Extracts and Bio-Control Agents. **Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci**, **6**(11): 652-661.
- Dhingra, D.D., Sinclair, J.B., 1985. **Basic Plant Pathology Methods**. CRC Press Inc. Boca, Florida.
- Doley, K., Jite, P.K., 2014. Interaction effects of *Glomus fasciculatum* and *Trichoderma viride* inoculations on groundnut plants inoculated with pathogen *Macrophomina phaseolina*. **IJAS**, **4**(9): 281-288.
- Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T.H., 1980. **Compendium of Soil Fungi**. Academic Press (London) Ltd, Volume, 1.

- El-Sayed, W., El-Megeed, M.A., El-Razik, A.A., Soliman, K.H., Ibrahim, S.A., 2008. Isolation and identification of phenazine-1-carboxylic acid from different *Pseudomonas* isolates and its biological activity against *Alternaria solani*. *Res J Agric Biol Sci*, **4**(6): 892-901.
- EPPO Global Database, 2019. <https://gd.eppo.int/taxon/ALTESO>. Erişim Tarihi: 28.06.2019
- Erol, F.Y., 2007. *Samsun İlinde Domateste Kök ve Kök boğazı Çürüklüğü Hastalığının Yayılışı, Şiddeti ve Hastalığa Neden Olan Etmenlerin Belirlenmesi* (yüksek lisans tezi). T.C. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bitki Koruma Ana Bilim Dalı. Samsun.
- Eşitken, A., Karlıdag, H., Erçisli, S., Sahin, F., 2002. Effects of foliar application of *Bacillus* OSU-142 on the yield, growth and control of shot-hole disease (*Coryneum blight*) of Apricot. *Gartenbauwissenschaft*, **67**(4): 139-142.
- Fitter, A.H., Garbaye, J., 1994. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organism. *Plant and Soil*, **159**(1): 123 - 133.
- Fontenelle, A.D.B., Guzzo, S.D., Lucon, C.M.M., Harakava, R., 2011. Growth promotion and induction of resistance in tomato plant against *Xanthomonas euvesicatoria* and *Alternaria solani* by *Trichoderma* spp. *Crop Protection*, **30**(11): 1492-1500.
- Fritz, M., Jakobsen, I., Lyngkjær, M. F., Thordal-Christensen, H., Pons-Kühnemann, J., 2006. Arbuscular mycorrhiza reduces susceptibility of tomato to *Alternaria solani*. *Mycorrhiza*, **16**(6): 413.
- Gams, W., Bissett, J., 1998. Morphology and identification of *Trichoderma* in *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Basic Biology, Taxonomy and Genetics* **1**:3-34.
- Gao, Z., Zhang, B., Liu, H., Han, J., Zhang, Y., 2017. Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. *Biol Control* **105**:27-39.
- Gai, J.P., Christie, P., Feng, G., Li, X.L., 2006. Twenty years of research on community composition and species distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in china, *Mycorrhiza*, **16**: 229-239.
- Gebhardt, S.E., Thomas R.G., 2002. *Nutritive Value of Foods*. USDA Agricultural Research Services. Home and Garden Bulletin Number:72, Washington, USA, 97.
- Gerdemann L.W., Nicholson T.H., 1963. Spores of mycorrhizal endogene extracted from soil by wet sieving and decanting, *Trans. Br. Mycol. Soc.* **46**: 235-244.
- Giovanetti, M., Mosse, B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vesiculararbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* **84**: 489-500.
- Gould, W.A., 1983. Tomato production, processing and quality evaluation.
- Harman, G.E., 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* **96**: 190-194.
- Hernández-Ortega, H.A., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., Zavaleta-Mancera, H.A., López-Delgado, H.A., Mendoza-López, M.R., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrient status, and total antioxidant activity of *Melilotus albus* during phytoremediation of a diesel-contaminated substrate. *Journal of Environmental Management*, **95**: 319-324.
- Jetiyanon, K., Kloepper, J.W., 2002. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control, Issue 24*: 285-291.
- Jones, J.B., Jones, J.P., Stall, R E., Zitter, T.A., 1991. Infectious antifungal. *Plant Physiology*, **108**: 17-27.

- Jones, J., B., Jones J. P., Stall R.E., Zitter T.A., 1993. *Compendium of Tomato Disease*. The American Phytopathological Society Pres, ABD.
- Joseph, A., Igbiosa, O.B., Alori, E.T., Ademiluyi, B.O., Aluko, A.P., 2017. Effectiveness of *Pseudomonas* species in the management of tomato early blight pathogen *Alternaria solani*. *African Journal of Microbiology Research*, **11**(23): 972-976.
- Kabay, T., 2014, *Van Gölü Havzası Fasulyelerinde Kuraklık ve Yüksek Sıcaklığa Tolerant ve Duyarlı Genotiplerin Belirlenmesi* (doktora tezi, basılmamış). Yüzüncü Yıl Ziraat Fakültesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. VAN.
- Kacar, B., 1984. *Bitki Besleme Uygulama Klavuzu*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 900 Uygulama Klavuzları: 214.
- Kabdwal, B.C., Sharma, R., Tewari, R., Tewari, A.K., Singh, R.P., Dandona, J.K., 2019. Field efficacy of different combinations of *Trichoderma harzianum*, *Pseudomonas fluorescens*, and arbuscular mycorrhiza fungus against the major diseases of tomato in Uttarakhand (India). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, **29**(1): 1.
- Kaloo, G., 1988. Breeding vegetable crops for tolerance to stress environments. *Vegetable Breeding*, **2**: 165-202.
- Karagiannidis, N., Bletsos, F., Stavropoulos, N., 2002. Effect of *Verticillium wilt* (*Verticillium dahliae* Kleb.) and mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on root colonization, growth and nutrient uptake in tomato and eggplant seedlings. *Scientia Horticulturae*, **94**(12): 145-156.
- Karagöz, K., 2009. *Bazı PGPR Bakterilerin Marulun Gelişimi ve Marul Yaprak Leke Hastalığı Üzerine Etkileri* (yüksek lisans tezi). Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum.
- Karagöz, K., Dadaşoğlu, F., Mohammadi, P., Kotan, R., 2014. Patates uyuzu hastalığına sebep olan *Streptomyces scabies*'in antagonistik bakterilerle kontrolü. *Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi*. 3-5 Şubat 2014, Antalya, Türkiye. 360.
- Karaman, İ., 2005. *Sera Zararlılarından Aphidlere Karşı Etkili Olan Doğal Biyolojik Ajanların İzolasyonu, Tanınması ve Bu Zararlılara Karşı Etkilerinin Araştırılması* (doktora tezi). Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü. GEBZE.
- Kayım, M., Yones, A. M., Endes, A., 2018. In vitro koşullarda bazı lokal *Trichoderma harzianum* izolatları kullanılarak bakla yaprak lekesi hastalığı etmeni *Alternaria alternata*'nın biyolojik kontrolü. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, **22**(2): 169-178.
- Kırbağ, S., Parlak, Y., 1996. Elazığ'da yetiştirilen bazı sebzelerde görülen fungusların tespiti ve önemli bulunanın biyolojisi ve savaşı üzerine araştırmalar. *F.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **8**(2): 69-81.
- Kırbağ, S., Turan, N., 2006. Malatya'da yetiştirilen bazı sebzelerde kök ve kök boğazı çürüklüğüne neden olan fungal etmenler. *Fırat Üniversitesi Fen ve Müh. Bil. Der.* **18**(2): 159-164.
- King, E. O., Ward, M. K., Raney, D., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Issue*, **44**: 301-307.
- Killham, K., 1994. *Soil Ecology*. 1st Edtn. Cambridge University Press. Cambridge, Newyork. 231.
- Klein, D., Eveleigh, D.E., 1998. Ecology of *Trichoderma*. *Trichoderma and Gliocladium*, **1**: 57-74.

- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., Nagy, E., 2003. *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, **41**(1): 37-42.
- Kumar, A., Sharma, S., Mishra, S., 2010. Influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and salinity on seedling growth, solute accumulation, and mycorrhizal dependency of *Jatropha curcas* L. *Journal of Plant Growth Regulation*, **29**(3): 297-306.
- Kotan, R., 1998. *Biological and Chemical Control of Bacterial Leaf Spot (Xanthomonas campestris pv. vesicatoria (Doidge) Dye.) on Pepper and Tomato* (Master Thesis). Atatürk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Plant Protection, Erzurum.
- Kotan, R., 2002. *Doğu Anadolu Bölgesi'nde Yetiştirilen Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarından İzole Edilen Patojen ve Saprofitik Bakteriyel Organizmaların Klasik ve Moleküler Metotlar İle Tanısı ve Biyolojik Mücadele İmkânlarının Araştırılması* (doktora tezi). Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Erzurum.
- Kotan, R., Sahin, F., Demirci, E., Eken, C., 2009. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. *Biological Control*, **50**: 194-198.
- Kotan, R., 2014. Faydalı bakterilerin tarımda kullanımı. *Harman Time*, **11**: 44-48.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., Nagy, E., 2003. Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, **41**(1): 37-42.
- Kuşvuran, Ş., 2010. *Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleranslı Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar* (doktora tezi, basılmamış). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Latha, P., Anand, T., Ragupathi, N., Prakasam, V., Samiyappan, R., 2009. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. *Biological Control*, **50**(2): 85-93.
- Leibinger, W., Breuker, B., Hahn, M., Mendgen, K., 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology*, **87**(11): 1103-1110.
- Lelliot, R., Stead, D., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. *Oxford: Blackwell Scientific Publications*.
- Levent, R., 2001. *Van Yöresinde Patates Dikim Alanlarında Görülen Erken Yanıklık Hastalığı Etmeni " Alternaria Solani" (Elle and S.Martin) sor.'nin Yaygınlığı ve Bu Etmene Karşı Bazı Patates Çeşitlerinin Reaksiyonları*. (basılmamış, yüksek lisans tezi). YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Li, X.L., Marschner, H., George, E., 1991. Extension of the phosphorus depletion zone in va mycorrhizal white clover in a calcareous soil. *Plant and Soil*, **135**: 41-48.
- Li, Y., Zou, Y.N., Qiang-Sheng, W., 2013. Effects of *Diversispora spurca* inoculation on growth, root system architecture and chlorophyll contents of four citrus genotypes. *International Journal of Agriculture and Biology*, **15**(2): 342-346.
- Liu, X., Pang, J., Yang, Z., 2009. The biocontrol effect of *Trichoderma* and *Bacillus subtilis* SY1. *Journal of Agricultural Science*, **1**(2): 132-136.
- Locke, S.B., 1949. Resistance to early blight and *Septoria* leaf spot in the genus *Lycopersicon*. *Phytopathology* **39**: 829-836.

- Lumsden, R.D., Lewis, J.A., Fravel, D.R., 1995. Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soilborne plant pathogens. *ACS Symposium Series*, **595**(11):166-182.
- Martin, F., Slotter, H., 2007. An evolving host for mycorrhizal research, *New Phytologist*, **174**(2): 225-228.
- Marschner, H., 1995. *Mycorrhizas*. (Second Edition). Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press. 566-595.
- Melo, I.S., Faull, J.L., 2000. Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma* spp. *Scientia Agricola* **57**: 55-59.
- Mohammed, Z. K., 1982. Physiological and antagonistic activities of streptomycetes in rhizosphere of some plants. *Egypt. J. Phytopathol.* **14**: 121–128.
- Momel, T.M., Pemezny, K.L., 2006. *Florida Plant Disease Management Guide: Tomato*. Florida Cooperation Extensive Service, Institute of Food and Agriculture Sciences, Gaine ville. 32611.
- Morandi, D., 1996. Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions and their potential role in biological control. *Plant and Soil*, **2**: 241 - 251.
- Murphy, J.F., Reddy, M.S., Ryu, C.M., Kloepper, J.W., Li, R., 2003. Rhizobacteria-mediated growth promotion of tomato leads to protection against Cucumber mosaic virus. *Phytopathology*, **93**(10): 1301-1307.
- Mutlu, G., Üstüner, T., 2017. Elazığ ili domates alanlarında fungal hastalıkların yaygınlığı ve şiddetinin saptanması. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, **4**(4): 416-425.
- Neergaard, P., 1945. *Danish Species of Alternaria and Stemphylium: Taxonomy, Parasitism, Economic Significance*. Oxford University Press, London. 260–287.
- Noval, B., Pérez, E., Martínez, B., León, O., Martínez-Gallardo, N., Délano-Frier, J., 2007. Exogenous systemin has a contrasting effect on disease resistance in mycorrhizal tomato (*Solanum lycopersicum*) plants infected with necrotrophic or hemibiotrophic pathogens. *Mycorrhiza*, **17**(5): 449-460.
- Niwas, S., Sharma, P.D., 1988. Biological inhibition of *Alternaria solani*. *Curr. Science* **57**: 1243.
- Orhan, E., Esitken, A., Ercisli, S., Turan, M., Sahin, F., 2006. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrient contents in organically growing raspberry. *Scientia Horticulture*, **111**: 38–43.
- Ozan, S., Maden, S., 2004. Ankara ili domates ekiliş alanlarında solgunluk ve kök ve kökboğazı çürüklüğüne neden olan fungal hastalık etmenleri. *Bitki Koruma Bülteni*, **44**(14):105-120.
- Ozan, S., Maden, S., 2005. Ankara ili domates ekiliş alanlarında yapraklarda hastalık oluşturan fungal etmenler, yaygınlıkları ve çıkış zamanları. *Bitki Koruma Bülteni; Cilt 45*:1-4.
- Özgönen, H., Biçici, M., Erkiş, A., 2001. The effect of salicylic acid and endomycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* on plant development of tomatoes and fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Turk J. Agric For.*, **25**: 25-29.
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F., Kınay, P., 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, **1**(1): 61-78.

- Palta, Ş., Demir, S., Şengönül, K., Kara Ö, Şensoy, H., 2010. Arbüsküler mikorizal funguslar (AMF) bitki ve toprakla ilişkileri, mera ıslahındaki önemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, **12**(18): 87-98.
- Peralta, I.E., Knapp, S., Spooner, D.M., 2005. New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from northern Peru. *Syst Bot* **30**: 424–434.
- Peterson, R.L., Farquhar, M.L., 1994. Mycorrhizas-integrated development between root and fungi, *Mycologia*, **86**(3): 311-326.
- Phillips, J. M., Hayman, D. S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British mycological Society*, **55**(1): 158-161.
- Rabie, G.H., 1998. Induction of fungal disease resistance in *Vicia faba* by dual inoculation with *Rhizobium leguminosarum* and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycopathologia*, **141**(3): 159-166.
- Rajput, R.B., Solanky, K.U., Prajapati, V.P., Pawar, D.M., Suradkar, S.R., 2013. Effect of fungal and bacterial bioagents against *Alternaria alternata* (fr.) Keissler in vitro condition. *The Bioscan*, **8**(2): 627-629.
- Requena, N., Jimenez, I., Toro, M., Bareae, J.M., 1997. Interactions between Plant-Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisiodes*, a model legume for revegetation in Mediterranean Semi-Arid Ecosystems. *New Phytol.* **136**: 667-677.
- Rhodes, L.H., 1980. The use of mycorrhizae in crop production systems. *Outlook on Agriculture*, **10**(6): 275 – 281.
- Rotem, J., 1994. *The Genus Alternaria: Biology, Epidemiology, And Pathogenicity*. American Phytopathological Society.
- Royse, D.J., Ries, S.M., 1978. The influence of fungi isolated from peach twigs on the pathogenicity of *Cytospora cincta*. *Phytopathology*, **68**: 603-607.
- Ruiz-Lozano, J.M., Aroca, R., Zamarreño, Á.M., Molina, S., Andreo-Jiménez, B., Porcel, R., López-Ráez, J.A., 2016. Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant, Cell & Environment*, **39**(2): 441-452.
- Samuels, G.J., 2006. *Trichoderma*: systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*, **96**(2): 195-206.
- Sastry, M.S.R., Sharma, A.K., Johri, B.N., 2000. Effect of an AM fungal consortium and *Pseudomonas* on the growth and nutrient uptake of *Eucalyptus* hybrid. *Mycorrhiza* **10**: 55-61.
- Sevgican, A., 1999. *Örtüaltı Sebzeçiliği, Cilt-1*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:528.
- Shanmugam, V., Atri, K., Gupta, S., Kanoujia, N., Naruka, D. S., 2011. Selection and differentiation of *Bacillus* spp. antagonistic to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Alternaria solani* infecting tomato. *Folia Microbiologica*, **56**(2): 170-177.
- Shinde, B. A., Dholakia, B. B., Hussain, K., Aharoni, A., Giri, A. P., Kamble, A. C. 2018. WRKY 1 acts as a key component improving resistance against *Alternaria solani* in wild tomato, *Solanum arcanum* Peralta. *Plant Biotechnology Journal*, **16**: 1502-1513.
- Silva, H.S.A., Romeiro, R.S., Carrer Filho, R., Pereira, J.L.A., Mizubuti, E.S.G., Mounter, A., 2004. Induction of systemic resistance by *Bacillus cereus* against

- tomato foliar diseases under field conditions. *Journal of Phytopathology*, **152**(6): 371-375.
- Smith, S.E., Read, D.J., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd ed. Academic Press, London, UK.
- Song, Y., Chen, D., Lu, K., Sun, Z., Zeng, R., 2015. Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. *Frontiers in Plant Science*, **6**: 786.
- Strandberg, J. O., 1992. Alternaria species that attack vegetable crops: biology and options for disease management. *In Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites* (Editor: J. Chelkowski and A. Visconti). Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 175–208.
- Subramanian, K.S., Santhanakrishnan, P., Balasubramanian, P., 2006. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae*, **107**(3): 245-253.
- Sujatha, N., Ammani, K., 2013. Growth in Vigna mungo as influenced by *Glomus fasciculatum*, *Pseudomonas fluorescens* Os25, and *Trichoderma viride*. *Mycorrhiza New*, **25**:1.
- Sundaramoorthy, S., Balabaskar, P., 2012. Consortial effect of endophytic and plant growth promoting rhizobacteria for the management of early blight of tomato incited by *Alternaria solani*. *J Plant Pathol Microbiol*, **3**(7).
- Swain, T., Hillis, W. E., 1959. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L. the quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **10**: 63–68.
- Şavur, B.O., 2015. *Domates Kök ve Kök Boğazı Çürüklüğü Hastalığına (Fusarium Oxysporum F.Sp. Radicis- Lycopersici Jarvis & Shoemaker) Karşı Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) ve Salisilik Asit Uygulamalarının Domates (Solanum Lycopersicum L.) Bitkisinin Bazı Gelişim ve Verim Parametreleri İle Hastalık Şiddetine Etkisi* (basılmamış, doktora tezi). YYÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Tapwal, A., Singh, U., Singh, G., Garg, S., Kumar, R., 2011. In vitro antagonism of *Trichoderma viride* against five phytopathogens. *Pest Technol*, **5**(1): 59-62.
- Townsend, G.K., Heuberger, J.W., 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report*, **27**: 340-343.
- Tozlu, E., Tekiner, N., Kotan, R., 2018. Screening of *Trichoderma harzianum* Rifai (1969) isolates of domestic plant origin against different fungal plant pathogens for use as biopesticide. *Fresenius Environmental Bulletin*, **27**(6): 4232-4238.
- Turhan, G. ve Hayat, T., 1994. Domateste *Alternaria solani* (Ell. And G. Martin) Sor. ile Biyolojik Savaşta Bazı Yeni Antagonistlerin Etkinliği Üzerinde Araştırmalar. *Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi*. 25–28 Ocak 1994, İzmir. 247–252.
- Umamaheswari, C., Sankaralingam, A., Nallathambi, P., 2009. Induced systemic resistance in watermelon by biocontrol agents against *Alternaria alternata*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, **42**(12): 1187-1195.
- Ünsal, B., 2010. *Organik Domates Yetiştiriciliğinde Alternaria alternata (Fr.) Keissler İle Mücadele Olanakları* (yüksek lisans tezi). Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Varma, P.K., Gandhi, S.K., Singh, S., 2008. Biological control of *Alternaria solani*, the causal agent of early blight of tomato. *J. Biol. Control*, **22**(1): 67-72.
- Verma, N., Verma, S., 2010. *Alternaria* diseases of vegetable crops and new approaches for its control. *Asian J Exp Biol Sci*, **1**(3): 681-692.

- Vural, H., Eşiyok, D., Duman, İ., 2000. **Kültür Sebzeleri**, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir. 440.
- Walia, S., Singh, M., Kaur, C., Kumar, R., Joshi, S., 2010. Antioxidant composition of red and orange cultivars of tomatoes (*Solanum lycopersicon* L): a comparative evaluation. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, **19**(1): 95-97.
- Wang, M., Cao, J., Lin, L., Sun, J., Jiang, W., 2010. Effect Of 1- methylcyclopropene on nutritional quality and antioxidant activity of tomato fruit (*Solanum lycopersicon* L.) During storage. **Journal of Food Quality**, **33**(2): 50-164.
- Weindling, R., 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. **Phytopathology**, **22**(8): 837-845.
- Willcox, J.K., Catignani, G.L., Lazarus, S., 2003. Tomatoes and cardiovascular health. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, **43**: 1-18.
- Woo, S.L., Scala, F., Ruocco, M., Lorito, M., 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp. phytopathogenic fungi, and plants. **Phytopathology**, **96**: 181-185.
- Yıldız, A., 2010. A native *Glomus* sp. from fields in Aydın province and effects of native and commercial mycorrhizal fungi inoculants on the growth of some vegetables. **Turk J Biol.**, **34**: 447-452.
- Yigit, F., 1993. **Domateslerde Erken Yanıklık Hastalığına Karşı Biyolojik Savasta *Verticillium psalliotae* Treschow'nin Etkinliği Üzerinde Arastirmalar** (yüksek lisans tezi). EÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Yigit, F. ve Turhan, G., 1994. Domateslerde erken yanıklık hastalığına karşı biyolojik savasta *Verticillium psalliotae* Treschow 'nin etkinliği üzerinde araştırmalar. **Türkiye 3. Biyolojik Mücadele Kongresi**. 25-28 Ocak 1994, İzmir. 247-252.
- Yoksuloğlu, F., 2001. **Domates yetiştiriciliği ve Domates Virüs Hastalıkları**. (basılmamış, yüksek lisans tezi). ÇÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

ÖZ GEÇMİŞ

Gaziantep'e bağlı Boyno Köyü mahallesinde, 1989 yılında doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Gaziantep'de tamamladı. 2010 yılında girdiği Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünden 2014 yılında mezun oldu. 2017 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Ana Bilim Dalında yüksek lisansa başladı. 2014-2017 yılları arasında Topuzlar Tarım Tic. Ltd. Şti'de yönetici olarak çalıştı. Şu an Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 30/07/2019

Tez Başlığı / Konusu: Van'da Domates Alanlarından İzole Edilen *Alternaria solani* (Ell. ve G. Martin) Sor.'nin Biyolojik Mücadele Olanaklarının Belirlenmesi

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 109 (Yüzdokuz) sayfalık kısmına ilişkin, 16/07/2019 tarihinde şahsım tarafından intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 7 (Yedi) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzcüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.


30/07/2019

Adı Soyadı: Gökhan BOYNO

Öğrenci No: 17910001024

Anabilim Dalı: Bitki Koruma

Programı: Tezli

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR


Prof. Dr. Semra DEMİR

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR

(Unvan, Ad, Soyad, İmza)


Enstitü Müdürü