



**FARKLI TOPRAKLARDAN İZOLE EDİLEN  
RHİZOBAKTERİLER İLE *Rhizoctonia solani* Kühn.'ÜN  
BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

**Halit ANAK**  
Yüksek Lisans Tezi

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

- 1. Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ**
  - 2. Tez Danışmanı: Prof. Dr. İrfan ÇORUH**
- 2019**

**Her hakkı saklıdır**

**T.C.  
IĞDIR ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FARKLI TOPRAKLARDAN İZOLE EDİLEN RHİZOBAKTERİLER İLE  
*Rhizoctonia solani* Kühn.'ÜN BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

**Halit ANAK**

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

**IĞDIR**

**2019**

**Her hakkı saklıdır**

Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ danışmanlığında Halit ANAK tarafından hazırlanan bu çalışma .....tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Bitki Koruma Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. İrfan ÇORUH.....İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ .....İmza:

Üye: Dr.Öğr.Üyesi Reyyan YERGİN ÖZKAN .....İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ .....İmza:

Üye: Dr. Öğt. Üyesi Tuba GENÇ KESİMCİ.....İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun ..... / ..... /2019 tarih ve 2019/ .....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

(imza)

.....

Doç. Dr. Süleyman TEMEL

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 orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Halit ANAK



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

## ÖZET

### FARKLI TOPRAKLARDAN İZOLE EDİLEN RHİZOBAKTERİLER İLE *Rhizoctonia solani* Kühn.'ÜN BİYOLOJİK MÜCADELESİ

ANAK, Halit

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

1. Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ

2. Tez Danışmanı: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

Şubat 2019, 91 sayfa

Bu çalışmada fasulye bitkisinde çökerten hastalığına neden olan *Rhizoctonia solani*'nin volkanik, kumlu, tuzlu topraklardan ve Ebu Cehil (*Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.) bitkisinden izole edilen bakteri strainlerinin biyokontrol etkinlikleri araştırılmıştır. Yapılan izolasyon sonucunda 83 bakteri straini elde edilmiş ve bakteriler biyokimyasal testler ve yağ asit metil ester analizi ile tanılanmıştır. *In vitro* testinde 83 bakteri straininden 20 tanesi etkili bulunmuş ve bu strainlerin 0,1 - 2,4 cm arasında değişen engelleme zonu oluşturarak patojenin misel gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır. Bakteri strainlerinin patojen izolatlarını engelleme oranının ise en yüksek %50 - %66 arasında değiştiği tespit edilmiştir. *In vivo* saksı denemelerinde ise bakteri strainlerinin kontrol grubuna göre hastalık gelişimini başarılı bir şekilde engellediği saptanmıştır. HV43, HV34, HT30 ve HT21 strainlerinin %100 etki göstererek hastalık çıkışını engellediği belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), *Rhizoctonia solani*, Biyolojik mücadele, *Calligonum polygonoides* L.

## ABSTRACT

### BIOLOGICAL CONTROL OF *Rhizoctonia solani* Kühn. WITH RHIZOBACTERIA ISOLATED FROM DIFFERENT SOIL

ANAK, Halit

Master Thesis, Plant Protection Main Discipline

1<sup>st</sup> Thesis Adviser: Asst. Prof Dr. Mesude Figen DONMEZ

2<sup>nd</sup> Thesis Adviser: Prof. Dr. İrfan ÇORUH

February, 2019, 91 pages

In this study, the biological control activities of the bacteria strains, which have been isolated from the volcanic, sandy salty soils and Ebu Cehil plant (*Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.) were investigated against isolates of *Rhizoctonia solani* causing root rot in beans. As the result of the isolation 83 strains were obtained and the bacteria were identified by biochemical tests and fatty acid methyl esterase analyses. In the *in vitro* experiments, 20 strains from among 83 bacteria strains were found to be effective and it was determined that these strains inhibited the mycelial growth by forming a prevention zone ranging between 0,1 cm and 2,4 cm. The prevention rate of bacteria strains against pathogen isolates was found to range between 50%-66% maximum. In the *in vivo* pot experiments, the bacteria strains were found to successfully inhibit the disease development compared to the control group. The HV43, HV34, HT30 and HT21 strains were determined to prevent the onset of disease with an effectiveness of 100%.

**Keywords:** Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Rhizoctonia solani*, Biological control, *Calligonum polygonoides* L.

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin araştırma konusunun belirlenmesinde, tez çalışmamın gerçekleştirilmesinden yazımına kadar geçen süreçte, maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim, üzerimde çok emeği bulunan, danışmanım, Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen DÖNMEZ'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Patojen temini için yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ'ye tez jürime katılan Prof. Dr. İrfan ÇORUH'a, Dr. Öğr. Üyesi Tuba GENÇ KESİMCİ'ye Dr. Öğr. Üyesi Reyhan YERGİN ÖZKAN'a, Dr. Öğr. Üyesi Ramazan GÜRBÜZ'e, verilerin istatistiksel analizlerinin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Ayşe USANMAZ BOZHÜYÜK'e ve çalışmalarımnda beni destekleyen tüm bölüm hocalarıma, destek ve yardımlarını her zaman gördüğüm çok değerli laboratuvar çalışma arkadaşlarıma, Fakültemiz çalışanlarından Birnur ÖZLER'e, çalışmakta bulunduğum Ağrı Zirai Karantina Müdürlüğü Müdürü Levent BÜYÜKKARAKUŞ ve değerli mesai arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde yanımda olan manevi desteklerini her zaman hissettiğim aileme, beni büyük bir sabırla destekleyen sevgili eşim ve canım kızıma yürekten teşekkür ederim.

Halit ANAK

Şubat, 2019

## İÇİNDEKİLER

|  | <b>Sayfa No</b> |
|--|-----------------|
| ÖZET .....   | i               |
| ABSTRACT .....   | ii              |
| ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR .....  | iii             |
| İÇİNDEKİLER .....  | iv              |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....   | vi              |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....  | viii            |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....  | x               |
| <b>1. GİRİŞ</b> .....  | <b>1</b>        |
| <b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....  | <b>6</b>        |
| <b>3. MATERYAL ve METOT</b> .....  | <b>14</b>       |
| 3.1. Materyal .....  | 14              |
| 3.1.1. Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar .....   | 14              |
| 3.1.2. Çalışmada kullanılan bitki materyali .....  | 14              |
| 3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus izolatları .....  | 14              |
| 3.1.4. Çalışmada kullanılan izolasyon materyali .....  | 14              |
| 3.1.5. Çalışmada kullanılan karşılaştırma kültürleri .....   | 14              |
| 3.2. Metot .....   | 15              |
| 3.2.1. Örneklerin alınması .....   | 15              |
| 3.2.2. Bakteri strainlerinin izolasyonu ve stok kültürlerin hazırlanması .....                           | 15              |
| 3.2.3. Mikroorganizmaların yağ asit profillerine göre tanılanması .....                                  | 15              |
| 3.2.3.a. Aerobik bakteri strainlerinin trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi ..... | 16              |
| 3.2.3.b. Yağ asit methyl esterlerinin saflaştırılması .....  | 16              |
| 3.2.3.c. Örneklerin mikrobiyal tanı sistemi ile analiz edilmesi .....                                    | 17              |
| 3.2.4. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) testi .....                                 | 18              |
| 3.2.5. Bakteri strainlerinin koloni morfolojilerinin belirlenmesi ve biyokimyasal testlerle tanısı ..... | 18              |
| 3.2.5.a. Koloni morfolojisi .....  | 18              |
| 3.2.5.b. Gram reaksiyon testi.....   | 18              |
| 3.2.5.c. Katalaz testi .....   | 18              |



|  |    |
|--|----|
| 3.2.5.ç. Oxidaz testi .....  | 19 |
| 3.2.5.d. Nişasta hidrolizi .....   | 19 |
| 3.2.5.e. Levan koloni oluşumu testi .....  | 19 |
| 3.2.6. Bakteri strainlerinin azot fiksasyon özelliğinin belirlenmesi .....   | 20 |
| 3.2.7. Bakteri strainlerinin fosfor çözebilme özelliğinin belirlenmesi .....   | 20 |
| 3.2.8. Bakteri strainlerinin potasyum çözebilme özelliğinin belirlenmesi .....   | 20 |
| 3.2.9. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması .....   | 20 |
| 3.2.10. <i>In-vitro</i> koşullarda bakteri strainlerinin <i>R. solani</i> ' ye karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi .....        | 21 |
| 3.2.11. <i>In-vivo</i> koşullarda bakteri strainlerinin <i>R. solani</i> ' ye karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi .....         | 21 |
| 3.3. Verilerin Değerlendirilmesi .....   | 23 |
| <b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....   | 25 |
| 4.1. Bakteri Strainlerinin İzolasyonu .....  | 25 |
| 4.2. Mikroorganizmaların Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı .....   | 29 |
| 4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi .....   | 39 |
| 4.4. Bakteri Strainlerinin Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi ve Biyokimyasal Testlerle Tanısı .....                                 | 40 |
| 4.4.1. Koloni morfolojisi .....  | 40 |
| 4.4.2. Gram reaksiyon testi .....  | 41 |
| 4.4.3. Katalaz testi .....   | 42 |
| 4.4.4. Oxidaz testi .....  | 42 |
| 4.4.5. Nişasta hidrolizi .....   | 43 |
| 4.4.6. Levan (Fructan) testi .....   | 44 |
| 4.5. Bakteri Strainlerin Azot Fiksasyon Özelliğinin Belirlenmesi .....   | 45 |
| 4.6. Bakteri Strainlerinin Fosfor Çözebilme Özelliğinin Belirlenmesi .....   | 46 |
| 4.7. Bakteri Strainlerin Potasyum Çözebilme Özelliğinin Belirlenmesi .....   | 47 |
| 4.8. Bakteri Strainlerinin <i>In vitro</i> Koşullarda <i>R. solani</i> İzolatlarına Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi ..... | 51 |
| 4.9. Bakteri Strainlerinin <i>In vivo</i> Koşullarda <i>R. solani</i> İzolatlarına Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi .....  | 59 |
| 4.10. Tartışma .....   | 65 |
| <b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b> .....  | 71 |
| <b>KAYNAKLAR</b> .....   | 73 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....  | 92 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

|   |                              |
|---|------------------------------|
| %.....                                    | Yüzde                        |
| °C .....                                  | Santigrat derece             |
| cm .....                                  | Santimetre                   |
| µl .....                                  | Mikrolitre                   |
| CaCl <sub>2</sub> .....                   | Kalsiyum klorür              |
| CaCO .....                                | Kalsiyum karbonat            |
| dH <sub>2</sub> O .....                   | Distil su                    |
| dk .....                                  | Dakika                       |
| g .....                                   | Gram                         |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....       | Hidrojen peroksit            |
| H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....      | Sülfürik asit                |
| KCl .....                                 | Potasyum klorür              |
| KOH .....                                 | Potasyum Hidroksit           |
| mg .....                                  | Miligram                     |
| MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O ..... | Magnezyum sülfat heptahidrat |
| ml .....                                  | Mililitre                    |
| NaOCl .....                               | Sodyum Hipoklorit            |
| pH .....                                  | Hidrojen iyonu konsatrasyonu |
| pv. ....                                  | Pathovar                     |
| s .....                                   | Saniye                       |
| sdH <sub>2</sub> O .....                  | Steril distile su            |
| sp. ....                                  | Tür                          |
| spp. ....                                 | Türler                       |

### Kısaltmalar

|                   |   |
|-------------------|---|
| <i>FAME</i> ..... | Yağ Asit Metil Ester (Fatty Acid Methyl Ester)                |
| <i>HR</i> .....   | Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi                                |
| <i>LB</i> .....   | Lauryl Broth  |
| <i>MIS</i> .....  | Mikrobiyal Tanı Sistemi (Mikrobiyal<br>Identifikasyon System) |

|                    |  |
|--------------------|--|
| <b>NA</b> .....    | Nutrient Agar Besiyeri   |
| <b>NAS</b> .....   | Nutrient Starch Agar besiyeri                                      |
| <b>NBRIP</b> ..... | National Botanical Research Institute's<br>Phosphate Growth Medium |
| <b>PDA</b> .....   | Potato Dekstroz Agar   |
| <b>TSA</b> .....   | Trypticase Soy Agar Besiyeri                                       |
| <b>TSBA</b> .....  | Tryptic Soy Broth Agar   |
| <b>YDC</b> .....   | Yeast Dekstrose Kalsium Karbonat Agar<br>Besiyeri                  |
| <b>YDCA</b> .....  | Yeast Ekstrakt Kalsium Karbonat Agar                               |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  | Sayfa No |
|--|----------|
| <b>Şekil 3.1.</b> Bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizi için örneklerin MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmesi .....  | 17       |
| <b>Şekil.3.2.</b> Aday PGPR bakteri strainlerinin fungal izolatların gelişimi üzerine antagonistik potansiyellerinin ikili kültür yöntemi ile belirlenmesi .....                                   | 21       |
| <b>Şekil 3.3.</b> Bakteri strainlerinin fasulye tohumlarına uygulanması .....  | 22       |
| <b>Şekil 3.4.</b> Bakteri ile kaplanan tohumların saksılara ekilmesi .....   | 22       |
| <b>Şekil 3.5.</b> A) Bakterilerin R. solani' ye karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi için kurulan saksı denemesinden genel bir görüntü B) Fasulye köklerine fungal disklerin bırakılması ..... | 23       |
| <b>Şekil 4.1.</b> İzolasyon için katı besiyeri hazırlanması .....  | 25       |
| <b>Şekil 4.2.</b> Tuzlu toprak örneklerinin alındığı alan (Yukarı Çamurlu Köyü) .....  | 26       |
| <b>Şekil 4.3.</b> Kumlu toprak örneklerinin alındığı alan ve Ebu Cehil bitkisi (Aralık) ...  | 26       |
| <b>Şekil 4.4.</b> Volkanik toprak örneklerinin alındığı alan (Taşburun) .....  | 26       |
| <b>Şekil 4.5.</b> Tütünde HR testi için hazırlanan bakteri solüsyonları .....  | 40       |
| <b>Şekil 4.6.</b> Bakteri süspansiyonunun tütün yaprağının alt yüzüne enjektörle infiltre edilmesi .....   | 40       |
| <b>Şekil 4.7.</b> Gram reaksiyon testinde gram negatif strainlerin oluşturduğu ipliksi uzama.....  | 41       |
| <b>Şekil 4.8.</b> HV13 straininin katalaz testi sonucunda gaz kabarcığı oluşturması .....  | 42       |
| <b>Şekil 4.9.</b> Oksidaz test sonucu ( a: Negatif, b: Pozitif) .....  | 43       |
| <b>Şekil 4.10.</b> Nişasta hidrolizi sonucu meydana gelen açık renk hale oluşumu (HT30) .....  | 43       |
| <b>Şekil 4.11.</b> Levan koloni oluşumu (HT21) .....   | 44       |
| <b>Şekil 4.12.</b> Bakteri strainlerininN-Free Solid Malate-Sucrose ortamında gelişmesi.   | 46       |
| <b>Şekil 4.13.</b> NBRIP-BPB besiyerinde kontrol (a) ve HV43'ün meydana getirdiği renk açılması .....  | 47       |
| <b>Şekil 4.14.</b> Aleksandrow besiyerinde pozitif sonuç .....   | 47       |
| <b>Şekil 4.15.</b> A. Aday PGPR strainlerinin patojene karşı oluşturduğu inhibisyon zonunun ölçülmesi B. HT 30 straininin patojenin Rs-pat izolatına karşı oluşturduğu inhibisyon zonu.....        | 52       |

|   |    |
|---|----|
| <b>Şekil 4.16.</b> Strain HV43'ün B-227 izolatına etkisi .....  | 60 |
| <b>Şekil 4.17.</b> Strain HT21'in B-227 izolatına etkisi .....  | 60 |
| <b>Şekil 4.18.</b> Strain HV34'ün Rs-pat izolatına etkisi ..... | 63 |
| <b>Şekil 4.19.</b> Strain HV34'ün Rs-pat izolatına etkisi ..... | 64 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|   | Sayfa No |
|---|----------|
| <b>Çizelge 4.1.</b> Çalışmada elde edilen bakteri strainlerine ait bilgiler.....  | 27       |
| <b>Çizelge 4.2</b> Tuzlu topraklardan izole edilen bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizlerine göre tanı sonuçları.....   | 30       |
| <b>Çizelge 4.3</b> Kumlu topraklardan izole edilen bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizlerine göre tanı sonuçları.....   | 31       |
| <b>Çizelge 4.4</b> Volkanik topraklardan izole edilen ve <i>in vitro</i> testlerde başarılı bulunan bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizlerine göre tanı sonuçları.....                        | 32       |
| <b>Çizelge 4.5</b> Tuzlu topraklardan izole edilen ve <i>in vitro</i> testlerde başarılı bulunan bakteri strainlerinin içerdikleri yağ asit metil ester çeşitleri ve strainlerde bulunma oranları (%)...... | 34       |
| <b>Çizelge 4.6</b> Kumlu topraklardan izole edilen ve <i>in vitro</i> testlerde başarılı bulunan bakteri strainlerinin içerdikleri yağ asit metil ester çeşitleri ve strainlerde bulunma oranları (%)...... | 35       |
| <b>Çizelge 4.7</b> Volkanik topraklardan izole edilen bakteri strainlerinin içerdikleri yağ asit metil ester çeşitleri ve strainlerde bulunma oranları (%)......  | 37       |
| <b>Çizelge 4.8</b> <i>In vitro</i> koşullarda <i>R.solani</i> gelişimi üzerine antagonistik etki gösteren bakteri strainlerinin test sonuçları.....   | 45       |
| <b>Çizelge 4.9</b> Bakteri strainlerinin azot fikse etme, fosfor ve potasyumu çözme özellikleri.....  | 48       |
| <b>Çizelge 4.10</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin B-1 izolatına karşı oluşturduğu zon, çap ve % engelleme oranları.....   | 53       |
| <b>Çizelge 4.11</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin B-1 izolatının misel gelişimi üzerine etkisi.....   | 54       |
| <b>Çizelge 4.12</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin B-227 izolatına karşı oluşturduğu zon, çap ve % engelleme oranları.....   | 55       |
| <b>Çizelge 4.13</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin B-227 izolatının misel gelişimi üzerine etkisi.....   | 56       |
| <b>Çizelge 4.14</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin Rs-pat izolatına karşı  |          |

|   |    |
|---|----|
| oluşturduğu zon, çap ve % engelleme oranları.....   | 57 |
| <b>izelge 4.15</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin Rs-pat izolatının misel gelişimi<br>üzerine etkisi..... | 58 |
| <b>izelge 4.16</b> <i>In vivo</i> ortamda bakteri uygulamalarının B-227 izolatının hastalık<br>şiddetine etkisi.....     | 61 |
| <b>izelge 4.17</b> <i>In vivo</i> ortamda bakteri uygulamalarının Rs-pat izolatının hastalık<br>şiddetine etkisi.....    | 62 |
| <b>izelge 4.18</b> <i>In vivo</i> ortamda bakteri uygulamalarının B-1 izolatının hastalık<br>şiddetine etkisi.....       | 64 |



## 1. GİRİŞ

Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Fabaceae (Leguminaceae) familyasına ait tek yıllık ılıman iklim bitkisidir. Birçok ülkede olduğu gibi Türkiye’de de en fazla tüketilen sebzeler arasında yer almaktadır (Debouck, 1991; Elçi 1998; Yılmaz ve Yazgan, 1998). Protein, mineral maddeler ve vitaminler bakımından oldukça zengin olan fasulye, insan beslenmesinde önemli bir yere sahip yemeklik baklagiller arasında ilk sırayı almaktadır (Azkan, 1989; Yılmaz ve Yazgan, 1998; Akkurt, 2010). Bunun en önemli nedenleri; yetiştiriciliğinin kolaylığı, pazar ve besin değerinin yüksek oluşu, taze, kuru veya konserve olarak tüketilebilir olmasıdır (Günçan, 1990; Zengin, 1998). Ayrıca gelişmiş kök sistemi vasıtası ile toprağın alt tabakalarındaki besin maddelerini toprak yüzeyine çıkarması ve köklerinde nodül oluşturan azot bakterileri (*Rhizobium* spp.) sayesinde yetiştiği toprağı azot bakımından zenginleştirmesi fasulyenin önemini artırmakta, özellikle gelişmekte olan ülkelerde temel tüketim maddesi teşkil etmesi nedeniyle de sebze bahçelerinin vazgeçilmez türleri arasında yer almaktadır (Kara, 1996; Elçi, 1998; Kantar ve ark., 1998; Öz ve Şahin, 1998; Dursun, 1999; Çiftçi ve Allahverdi, 2001). Ayrıca fasulye bitki artıklarıyla da yem sanayinde kullanılan önemli bir kültür bitkisi durumundadır (Smith and Huyser, 1987).

Kuru fasulye dünyada 29 milyon ha ekim alanı ve 27 milyon ton üretim miktarı ile yemeklik tane baklagiller içerisinde ilk sırada yer almaktadır (FAO, 2016). Türkiye’de ise 897,221 da ekim alanı ve 239,000 ton üretim miktarı ile nohut ve mercimekten sonra üçüncü sıradadır (TÜİK, 2018). Özellikle nadas alanlarına dane baklagillerin girmesi ülke genelinde bu bitkilerin ekilişini artırmış ve Türkiye önemli bir baklagil ihracatçısı konumuna ulaşmıştır (Kantar ve ark., 1998). Ancak fasulye bitkisinde, fungal, bakteriyel ve viral patojenlerin neden olduğu bazı hastalıklardan dolayı verim ve kalite önemli ölçüde düşmektedir (Açıkgöz, 1984). Fasulye bitkisindeki fungal etmenlerin % 100'lere varan oranda verim kaybına sebep oldukları saptanmıştır. Toprak kökenli birçok fungal hastalık etmeninin fasulyede gerek fide döneminde gerekse ileri aşamada önemli kayıplara neden olduğu ve bu etmenler arasında *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich, *Pythium ultimum* Trow, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary ve *Sclerotium rolfsii*



Sacc.'nin üründe ciddi sorunlara yol açtığı rapor edilmektedir (Willetts and Wong, 1980; Sippell and Hall, 1982; Dixon, 1984; Bruehl, 1987; Hall, 1991; Vural, 2008).

Belirtilen patojenler içerisinde yer alan *R. solani* birçok bitki grubunda verim ve kalite üzerinde ciddi kayıplara yol açan önemli bir fungal patojendir (Bakalı and Martin, 2006; Aydın, 2008; Lehtonen, 2008; Jehtonen, 2009; Kılıçoğlu ve Özkoç, 2010). Geniş bir konukçu listesine sahip olan etmen, dünyanın birçok bölgesinde yaygın olarak bulunmakta, hemen hemen tüm tarla bitkilerinde, süs bitkilerinde, sebzelerde, çayır-mera bitkilerinde, çok yıllık bitkilerin fide veya fidanlarında çökerten, kök ve kök boğazı çürüklüklerine neden olmakta kalite ve verim kayıpları oluşturmakta, bu yönüyle ihracatta önemli bir sorun teşkil etmektedir (Bains *et al.*, 2002; Lehtonen *et al.*, 2008). Etmen hem toprak hem de tohum kökenli bir fungus olup besinlerin üzerinde hızlı gelişmesi, köklerin yüzeyinde kolonize olması ve enfekte ettiği alandaki epidermal hücreleri hızlı bir şekilde istila edebilmesi ile güçlü bir patojen özelliği taşımaktadır (Carling *et al.*, 2002; Aydın *et al.*, 2011; Çapar, 2012).

*Rhizoctonia* cinsi ilk kez 1815 yılında Decandole tarafından tanımlanmıştır (Ogoshi, 1975). Fungusun tanınmasında birbiriyle dik (90°) açı yapacak şekilde düzgün dallanan hifler önem taşımaktadır. Hiflerin dallanmasının başlangıç noktasının yakınında bir septum oluşmakta ve dallanmanın olduğu yerde hif boğumlanmaktadır (Karaca, 1974). Patojen, topraktaki bitki kalıntılarında miselyum halinde yaşamını sürdürebildiği gibi serbest olarak sklerot yapısı ile de canlılığını devam ettirebilmektedir (Aydın *et al.*, 2011; Çapar, 2012).

Fungusun belirlenmiş olan farklı anastomosis gruplarının virülenslik bakımından farklılık taşıdığı bildirilmiştir (Carling *et al.*, 2002; Jehtonen, 2009; Çapar, 2012). Fasulyede fungusun AG-4 ve AG-5 gruplarının patojen oldukları, enfeksiyonları sonucunda bitkide çeşitli derecelerde zarara yol açtıkları belirtilmiştir (Eken ve Demirci, 2004).

Patojen fasulyede oluşturduğu belirtiler açısından incelendiğinde bitkilerin hipokotil ve kökleri üzerinde küçük, ince, uzun, basık ve kırmızimsı kahverengi lezyonlar oluşturduğu, köklerin kırmızımtırak kahverengi veya siyah renk almasına neden olduğu, köklerin içlerinin boşalarak yumuşamasına yol açtığı tespit edilmiştir.

Enfeksiyonun ilerleyen dönemlerinde ise yapraklarda sararma, bitki gelişiminde durgunluk ve sonuçta bitkinin olgunlaşmadan öldüğü görülmüştür (Hagedorn, 1991; Hall,1991).

*R. solani*'nin mücadelesinde üretim materyali ve toprak kaynaklı olması ve tohum ile kolay bir şekilde taşınması sebebiyle zorluklar yaşanmaktadır (Çapar, 2012). Ayrıca patojenin konukçu çevresinin çok geniş olması ve miselyum şeklinde uzun süre canlı kalabilmesi de hastalığın mücadelesini daha da zorlaştırmaktadır (Aydın *et al.*, 2011). *R. solani*'nin gelişimini yavaşlatmak ve bir sonraki yıl hastalığın çıkışını azaltmak için hastalıklı bitki ve bitki artıklarının imhası, sertifikalı üretim materyali kullanımı, solarizasyon, dayanıklı çeşit seçimi, buğday ve mısır gibi bitkilerle ekim nöbeti uygulanması önerilmektedir (Yanar *et al.*, 2005; Larkin and Honeycutt, 2006; Aydın, 2008). Ancak konukçu çevresinin zenginliği ekim nöbetine girecek bitkilerin sayısını azaltmaktadır. Solarizasyon uygulaması, her ne kadar topraktaki patojen popülasyonunu azaltsa da toprak mikroflorasını da etkilemekte, patojenler kadar faydalı mikroorganizmaları da ortadan kaldırmaktadır (Porras *et al.*, 2007). Patojenin toprakta çok hızlı gelişmesi, organik artıklar üzerinde çok uzun süre yaşayabilmesi ve uygun konukçu varlığında vejetatif miselyum olarak gelişerek enfeksiyon yapabilme özelliğinde olması bu mücadele metotlarının etkinliğini sınırlandırmaktadır (Turhan, 2010). Bu nedenle son yıllarda bu hastalığa karşı hem üretim materyalinde hem de toprakta uygulanacak bazı mücadele programları üzerinde çalışmalar yürütülmektedir. Bazı kimyasalların yumru/tohum ve toprağa uygulanmasıyla hastalığın baskı altına alınabileceği bildirilmiştir (Errampalli and Johnston, 2001). Ancak toprak ilaçlaması tarla koşullarında pek uygulanabilir bir yöntem değildir. Örtü altı yetiştiriciliğinde ise bu sınırlı alanların ilaçlanması yüksek bir maliyet oluşturmaktadır. Toprakta inokulumun yoğun olması durumunda ise uygulanan kimyasalların da hastalığı yeterince kontrol edemediği tespit edilmiştir (Aydın, 2008). Bununla birlikte tohum kökenli enfeksiyonlarla mücadelede fungusitler etkili iken, toprak kökenli bulaşmalarda fungusitlerin daha az etkili olduğu belirtilmiştir (Wilson *et al.*, 2008). Ayrıca hastalıkla mücadelede fungusitlerin yaygın ve uygunsuz olarak kullanımı tarım ürünlerindeki ilaç kalıntılarının beslenme yoluyla canlılara geçmesine, ilaçların bir kısmının toprağa karışarak yer altı sularına ve denizlere karışmasına, havanın kirlenmesine, doğada

hastalık etmenleri ve zararlıların çoğalmasına, predatör ve antagonist mikrofloranın yok olmasına, patojen genlerinde değişiklik yaparak yeni dayanıklı patojen ırklarının oluşmasına neden olmaktadır (Delen, 1991; Bora ve Özaktan, 1998; Compant ve ark., 2005; Berg, 2007). Bununla birlikte, patojen propagüllerinin farklı derinliklerde olması ve ilaçlama sonrası kalan propagüllerin ortamda daha hızlı gelişmesi bu mücadeleden istenilen sonucun alınmasını güçleştirmektedir (Blancard, 1993). Belirtilen nedenlerden dolayı toprak kökenli patojenlerle mücadele yöntemlerinin yetersiz kalması ve dünyada çevre sağlığı konusundaki hassasiyetin artması, araştırmacıları ekolojik tarım çerçevesinde, biyolojik mücadele alanında çalışmaya ve yeni biyolojik mücadele elemanlarını bulmaya yöneltmiştir. Biyolojik mücadele içerisinde çok önemli bir yere sahip olan ve kısaca PGPR (Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler; Plant Growth Promoting Rhizobacteria) olarak adlandırılan mikroorganizmalar, bitkilerin kök yüzeyine kolonize olan ve kök çevresindeki toprakla yakın ilişkide bulunan bakterilerdir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler hem bitkilerde gelişmeyi uyarıcı hem de biyolojik mücadele elemanı olarak kullanılmakta ve oldukça başarılı sonuçlar elde edilmektedir (Nandakumar *et al.*, 2001; Walsh *et al.*, 2001; Kageyama and Nelson, 2003; Ongena *et al.*, 2004; Ryu *et al.*, 2004; Jehtonen, 2009). PGPR'ler bitki köklerindeki mikroflora kompozisyonunu değiştirmesi, çeşitli stres faktörlerine karşı bitkiyi dirençli hale getirmesi, büyüme hormonları (indol asetik asit, etilen) üzerinde etkili olması, besin maddesi alımını arttırması (siderofor üretimi, havadaki veya topraktaki serbest azotun bağlanması, toprakta fosfor ve diğer besin elementlerinin alımının sağlanması), kök gelişimini teşvik etmesi ve bunlara bağlı olarak bitki büyümesini ve gelişimini arttırması gibi etkileriyle ön plana çıkmaktadır (Van Loon, 1997; Weller, 1998; Van Loon *et al.*, 1998; Metraux, 2001; Asghar *et al.*, 2002; Vessey, 2003, ). Diğer taraftan belirtilen bu mikroorganizmalar antibiyosis (kitinaz,  $\beta$ -1,3-glukanaz, antibiyotik ve siyanit üretimi), rekabet, hiperparazitizm, hipovirülens, uyarılmış dayanıklılık ve çapraz koruma gibi biyolojik mücadele mekanizmalarından bir veya birkaçını kullanarak hastalıklarla mücadelede verdiği başarılı sonuçlarla dikkati çekmektedir (Bora ve ark., 1994; Smith and Read, 1997; Bora ve Özaktan, 1998; Cattelan *et al.*, 1999; Çakmakçı 2005; Çetinkaya Yıldız, 2007; Genç, 2012).

PGPR'lar genel olarak *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinsleri içerisinde yer almakta olup genellikle bitkinin kök bölgesine yerleşerek toprak kaynaklı hastalık etmenlerinin gelişimini sınırlamaktadırlar (Montesinos, 2002; Compant *et al.*, 2005; Çakmakçı, 2005). PGPR'lar özellikle sağlıklı bitkiye inokule edildiğinde bitkinin sistemik dayanıklılığını harekete geçirmekte ve böylece kimyasal uygulamalardan, özelliklede bakırlı bileşik uygulamalarından daha başarılı sonuçlar vermektedir (Kuc, 2001).

Biyolojik mücadele çalışmaları biyolojik preparatların kullanımını yaygınlaştırmayı, yeni ve etkin biyolojik mücadele elemanlarını araştırmayı hedeflemektedir (Yiğit, 2005). Bu konuda farklı patojen konukçu ilişkisinde biyolojik mücadele elemanı olarak PGPR'ların kullanımından oldukça başarılı sonuçlar alınmaktadır. Bu yüzden tez çalışmasında içinde fasulyenin de yer aldığı birçok bitkide kök hastalığına neden olarak büyük ekonomik kayba neden olan *R. solani*'nin biyolojik mücadele olanakları araştırılacaktır. Bu amaçla Iğdır ili Aralık ilçesinde yetişen ve o bölgeye özgü olan, erozyonu önlemeye yardımcı Ebu Cehil (*Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.) bitkisinin rizosferinden, volkanik, kumlu ve tuzlu topraklardan elde edilen bakteriler biyokimyasal testler ve yağ asit profillerine göre tanımlanacak bakteri strainlerinin azotu fikse etme, fosfor ve potasyomu çözebilme özellikleri belirlenecek ve *R. solani*'ye karşı biyolojik mücadele adayları olarak etkinlikleri değerlendirilecektir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Dünyada 1980'li yıllardan beri özellikle *Rhizoctonia* gibi mücadelesi zor olan etmenlere karşı biyolojik mücadele çalışmaları geliştirilerek yapılmaktadır. Ülkemizde de biyolojik mücadele çalışmaları her geçen gün daha da önem kazanmakta ve mücadele ile ilgili çalışmaların bu yöne kaymasına sebep olmaktadır. Yaklaşık 60 yıldır üzerinde bilimsel olarak çalışılan bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler hem bitkilerde hastalık oluşturan pek çok bakteriyel, fungal ve viral etmene karşı bitkide bulunan doğal dayanıklılığı teşvik ederek koruma sağlaması hemde bitki büyümesini artırıcı özelliklerinden dolayı biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmaktadır (Weller, 1988; Wei *et al.*, 1996; Backman *et al.*, 1997; Chen *et al.*, 2000; Nejad and Johnson, 2000; Barka *et al.*, 2002; Romero *et al.*, 2003; Ongena *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2004; Erdal, 2005).

Son on yıl boyunca yapılan çalışmalarda araştırmacılar toprak kaynaklı patojenlerin gelişiminin engellenmesinde etkili olan bakterilerin çoğunun *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinslerine ait olduğunu altını çizmektedir (Montealegre *et al.*, 2003; Lahlali *et al.*, 2007; Tariq *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2011). Yürütülen çalışmalarda *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerine ait antagonistlerin *R. solani* ye karşı başarı sağlayacak kapasite de olduğu ortaya konulmuştur (Szczeczek and Shoda, 2004; Bautista *et al.*, 2007; Scherwinski *et al.*, 2008). Araştırmalar *Pseudomonas* grubu bakterilerin rizosfere çok iyi adapte olup hızla gelişebildiklerini, siderefor özellikleri ile patojen mikroorganizmaların topraktaki demiri kullanmalarını engelleyerek ya da antibiyotik üreterek bitkileri patojen saldırılarına karşı koruduklarını, sistemik dayanıklılığı teşvik edebilme yeteneğine sahip olduklarını göstermiştir (Pieterse *et al.*, 2000; Anita and Das, 2011).

James and Guttererson (1986) tarafından yapılan bir araştırmada *P. fluorescens*'in üç çeşit antibiyotik ürettiği (2,4 diacetylphloroglucinol, hidrojen siyanit ve phenazine 1-carboxylic acid) ve bu antibiyotiklerin pamukta *Pythium ultimum*'un gelişimini engellediği saptanmıştır. Leben *et al.*, (1987) tarafından patatesten *Verticillium* solgunluğunun biyolojik mücadelesinin araştırıldığı bir çalışmada *P. fluorescens* M4 straininin saksı denemesinde *Verticillium dahliae*'nin propagül sayısını azalttığı, tarla

denemesinde ise bakteri straininin hastalığı baskıladığı ancak patatestede verimde artışı sağlamadığı belirlenmiştir.

Berg *et al.* (1994), tarafından *in vitro* ortamda yapılan bir çalışmada çilekte *Verticillium* solgunluğuna neden olan *V. dahliae* gelişiminin antagonist özellikteki *Pseudomonas* strainlerinin ürettiği kitinaz ve litik enzimler sayesinde baskılandığı tespit edilmiştir.

Hallmann *et al.* (1997), tarafından pamuk tohumlarının antagonist *P. fluorescens* 89B-61 straini ile bakterizasyonunun pamuğu toprak kaynaklı hastalıklara karşı koruduğu bildirilmiştir.

Zaki and Ersten (1998), tarafından 1995-1996 yıllarında Arizona'da kurulan tarla denemesinde pamukta hastalık oluşturan *R. solani*'ye karşı *Pseudomonas cepacia* D1 straini ve fungusit karışımlarının (metalaxyl, triadimenol, thiram) etkisi değerlendirilmiştir. Deneme sonucunda *P. cepacia* D1 straini ve fungusit karışımlarının uygulandığı pamuk tohumlarından gelişen bitkilerin hastalığa yakalanmadığı gözlenmiştir. Araştırmacılar tarafından bu sonucun bakteri straininin ürettiği pyrrolnitrin ve amino pyrrolnitrin metabolitlerinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

*Enterobacter agglomerans* strainlerinin kitinolitik aktiviteye sahip proteinler ürettikleri ve salgıladıkları bu proteinlerle fungal patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Sera şartlarında pamukta yapılan bir çalışmada *E. agglomerans*' a ait üç strainin dört kitinolitik enzim ürettiği ve bu enzimlerle *R. solani*'nin hastalık şiddetini % 64-86 oranında azalttığı belirlenmiştir (Chernin *et al.*, 1995).

Asaka and Shoda (1996), *Bacillus subtilis* RB14 straininin domates fidelerinde *R. solani*'nin neden olduğu çökerten hastalığına karşı etkisi değerlendirilmiş ve bakteri straininin saksı denemesinde hastalık çıkışını etkili bir şekilde engellediği saptanmıştır. Ayrıca yapılan analizler sonucunda antagonistik etkisi tespit edilen bakteri straininin iturin A ve surfactin olmak üzere iki çeşit antibiyotik ürettiği belirlenmiştir.

Hessenmuller and Zeller (1996), tarafından *in vitro* ortamda yapılan çalışmada çilek bitkisinde hastalık oluşturan toprak kaynaklı fungal hastalık etmenleri *Phytophthora cactorum* ve *P. fragaria*'nın *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Enterobacter* ve

*Pseudomonas* cinslerine ait 15 antagonist bakteri ile biyolojik mücadelesi araştırılmıştır. İkili kültür testlerinde bakteri strainlerinin hepsinin fungal etmenlerin misel gelişimini engellediği, dört tanesinin ise çileklerin kök bölgesinde hastalık çıkışını azalttığı tespit edilmiştir. Strainler arasında en etkili bakterinin *Bacillus licheniformis* olduğu ve bu bakterinin çilekte kök çürüklüğüne neden olan *P. cactorum*'u %68 oranında engellediği bulunmuştur.

Gupta *et al.* (1999), tarafından patates rizosferinden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* straininin toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine (*Macrophomina phaseolina* ve *Fusarium oxysporum*) karşı antifungal etkinlikleri *in vitro* koşullarda test edilmiştir. Yapılan ikili kültür testlerinde *P. aeruginosa*'nın *M. phaseolina* ve *F. oxysporum*'un misel gelişimini % 70,5-74,1 arasında engellediği tespit edilmiştir. Bakteri straininin hastalıkları engelleme performansının antimikrobiyal özellikteki hidrojen cyanide (HCN) ve indole asetik asit üretimine bağlı olduğu bildirilmiştir.

Siddiqui *et al.* (2000), tarafından domates, nohut ve ayçiçeğinde hastalık oluşturan toprak kökenli *M. phaseolina*, *R. solani* ve *F. solani* etmenlerine karşı topraktan izole edilen *P. aeruginosa* straininin etkisi laboratuvar ve tarla denemesinde araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bakteri straininin patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiği ve hastalıkları başarılı bir şekilde kontrol altına aldığı tespit edilmiştir.

Chen *et al.* (2000), tarafından PGPR'lerin *Pythium aphanidermatum*'un hıyar bitkisinde neden olduğu kök boğazı çürüklüğüne karşı kullanım olanakları araştırılmıştır. *Pseudomonas corrugata* 13 ve *Pseudomonas aureofaciens* 63-28 strainleri hıyar bitkisinin köklerine uygulanmış ve bitkide bazı enzim aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir. *Pseudomonas corrugata* 13 straininin köklere uygulanmasından sonraki 5 gün içerisinde köklerde peroksidaz ve polyphenol oksidaz enzimlerinin artış gösterdiği belirlenmiştir. Bakteri strainlerinin kök bölgesine kolonize olmasına ve bitkideki enzim aktivitesinin artışına bağlı olarak *P. aphanidermatum*'un gelişiminde bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

Ramamoorthy *et al.* (2002), tarafından farklı bitkilerin rizosfer bölgesinden 20 bakteri straini izole edilmiştir. *In vitro* ve *in vivo* ortamlarda elde edilen bakteri strainlerinin domates ve biberde çökertene neden olan *P. aphanidermatum*'un

kontrolünde kullanılmaya olanakları araştırılmıştır. Strainlerden *P. fluorescens* ve *P. putida* olarak tanısı yapılan bakterilerin *P. aphanidermatum*'un gelişimini etkili şekilde engelledikleri ve uygulama yapılmış tohumlarda kontrole göre bitki büyümesini oldukça önemli düzeyde arttığı saptanmıştır.

Dwivedi and Johri (2003), tarafından PGPR'lar içerisinde en yaygın şekilde fluoresan *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerle karşılaşıldığı ve bu mikroorganizmaların hem hastalık çıkışını hem de yayılmasını baskılayabildikleri bildirilmiştir. Ayrıca *Pseudomonas*'ların, 2,4-diacetyl phologlucinol, pyrrolnitrin, pyoluteorin ve phenoziyon gibi antifungal metabolitlerin üretimi ile toprak kaynaklı fungal hastalık etmenlerinin gelişimini de baskıladığı belirtilmiştir.

*Lysobacter enzymogenes* C3 straininin tarla şartlarında etkili bir antagonist olduğu ve çim bitkisinde *R. solani* enfeksiyonuna karşı kullanıldığı tespit edilmiştir (Kılıc-Ekici and Yuen, 2003). Kobayashi *et al.* (2005), tarafından *Lysobacter* strainlerinin ekstraselüler hidrolitik enzim üreterek çeşitli fungal patojenlere karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir. *Lysobacter* sp. strain SB-K88'in xanthobaccin A antibiyotigi üreterek çökerten hastalığını engellemede başarılı olduğu bildirilmiştir (Pal, 2006).

Brewer and Larkin (2005), tarafından serada 28 potansiyel biyokontrol etmen, patatesten *R. solani*'ye karşı test edilmiştir. Çalışmada *Paenibacillus polymyxa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. ve *Rhizoctonia zae*'nin tarla izolatları, yine biyokontrol etmeni olarak bilinen *Laetisaria arvalis*, *Verticillium biguttatum*, *Cladorrhinum foecundissimum*, *Stillbella aciculose* ile *Bacillus subtilis* (Kodiak), *T. virens* (Soilgard) ve *Trichoderma harzianum*' un (Rootshield) ticari preparatları kullanılmıştır. Birçok fungal izolatin farklı oran ve formülasyonları ve antagonist kombinasyonlarının etkinliğinin araştırıldığı çalışmada azoxystrobin etkili maddeli kimyasal ilaç da denenmiştir. Çalışmanın sonucunda *Bacillus subtilis* GB03, *R. zae* LRNE17E, *S. aciculose* 112-B ve kimyasal kontrol, kök boğazı nekrozunun azaltılmasında %40-49 oranında etkili bulunmuştur. *L. arvalis* ZH-1, *R. zae* LRNE17E ve kimyasal ilaçların yumruda siyah siğil hastalığının şiddetini %54-60 oranında azalttığı, diğer uygulamaların ise *R. solani*'nin neden olduğu kök boğazı nekrozu ve siyah siğilin mücadelesinde daha az etkili olduğu bulunmuştur.



Soylu ve ark. (2005), tarafından Hatay ilinde hastalığın az sıklıkta görüldüğü biber ve domates yetiştiriciliği yapılan alanlardan izole edilen kök bakterilerinin, toprak kökenli hastalık etmenleri *S. sclerotiorum* ve *R. solani*'ye karşı etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. *In vitro* ortamda yapılan ikili kültür testlerinde bakteri türleri arasından fluoresan *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp.'nin hastalık etmenlerine karşı antagonistik etki gösterdiği ve hastalığı yüksek oranda engellediği tespit edilmiştir.

Erdoğan (2007), tarafından 2004-2006 yılları arasında Aydın ili ve ilçelerinde pamuk yetiştirilen alanlarda pamuk bitkilerinden ve yabancı otlardan izole edilen fluoresan *Pseudomonas* bakterilerinin *Verticillium* solgunluğuna ve bitki gelişimine olan etkileri Sayar 314 ve Acala Maxa pamuk çeşitlerinde araştırılmıştır. Çalışmada enfekteli pamuk örneklerinden 32 adet *Verticillium* spp. izolatu ve yabancı otların rizosferinden 41, pamuk bitkilerinin rizosferinden 18 adet olmak üzere 59 antagonist bakteri izole edilmiştir. *In vitro* testlerde Fluoresan *Pseudomonas* izolatlarından 30 tanesinin *Verticillium dahliae*'yi engellediği tespit edilmiştir. Tohumlara bakteri uygulanarak yürütülen tarla denemelerinde negatif kontrole göre *Verticillium* solgunluğu hastalık şiddetinin ve bulunma oranının farklılık gösterdiği, uygulamaların hastalığa karşı yüzde etkisinin 2005 senesinde %33-45, 2006 senesinde %22-25 arasında olduğunu tespit edilmiştir.

*Acinetobacter* ve *Citrobacter* türlerinin de içinde yer aldığı rizosfer bakterilerinin bitki gelişimini teşvik ettikleri çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. *Citrobacter braaki*'nin phytase geninin ekspresyonu sonucu bitki gelişimini uyardığı saptanmıştır ( Patel *et al.*, 2010). *Acinetobacter baumannii* LCH001 straininin ürettiği bioaktif bileşiklerin ( iturin A2, iturin A3, iturin A6) *Cryphonectria parasitica*, *Glomerella glycines*, *Phytophthora capsici*, *Fusarium graminearum*, *Botrytis cinerea*, ve *R. solani* patojenlerinin gelişimini engellediği tespit edilmiştir (Liu *et al.*, 2007).

Çubukcu (2007), tarafından 2004-2005 yılları arasında Aydın İlinde pamuk yetiştiriciliği yapılan alanlardaki farklı pamuk çeşitlerinden ve yabancı otlardan 280 endofitik bakteri straini izole edilmiştir. Elde edilen bakteri strainlerinden 12 tanesinin *in vitro* ortamda patates dekstroz agar (PDA) besiyerinde *V. dahliae*'nin gelişimini önemli ölçüde engellediği tespit edilmiştir. Buna ilaveten antagonistik etkisi belirlenen bakteri strainlerinin fosfat çözebilme ve uçucu organik bileşik üretebilme özellikleri test

edilmiştir. Ayrıca *in vivo* ortamda tohumların bakterizasyonu sonucunda iki adet fluoresans *Pseudomonas* ve bir adet *Bacillus* cinsi bakteri straininin pamuk bitkilerinde *Verticillium* solgunluğunu önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır.

Özyılmaz (2007), tarafından antagonist özelliğe sahip bakteri strainlerinin çilek yetiştiriciliğinde sorun olan önemli toprak kaynaklı fungal hastalık etmenleri *R. solani* ve *Phytophthora cactorum*'u kontrol etme olanaklarını araştırmıştır. Bu amaçla Aydın ili Sultanhisar ilçesinde yetiştirilen sağlıklı çilek, karnabahar, kırmızı lahana, brokoli, lahana, turp, bakla ile yabancı otlardan yabancı turp, darıcan ve çoban çantası bitkilerinin köklerinden 362 bakteri straini izole etmiştir. Yapılan ikili kültür testlerinde bir ya da her iki fungal patojene karşı engelleme zonu oluşturan 101 bakteri içerisinde 24 tanesi seçilmiş ve bu strainler yağ asit metil ester analizi ile tanılanmıştır. Seçilen 24 bakteri straininin her iki fungal patojene karşı *in vivo* etkinlikleri, enzim aktiviteleri, sekonder metabolit oluşturma özellikleri ve çilek bitkisinin gelişimine olan etkileri belirlenmiştir. Strainlerden hiçbirinin kitinaz, selüloz ve pektinaz aktivitesi göstermediği, 13 tanesinin ise proteaz aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Strainlerden 3 tanesinin fosfataz enzimini ürettiği ve 20 tanesinin de inorganik fosfatı çözebilme yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir. Bakteriler ikincil metabolit oluşturma özellikleri açısından değerlendirildiğinde ise 19 strainin HCN, 18 strainin siderofor, 11 strainin yüzey aktif madde ve 16 strainin de 2-4, DAPG ürettiği, iki strainin de 62.4 ve 1.9 µg/ml oranında IAA ürettiği belirlenmiştir. Saksı denemelerinde 3ss9, 6110, 7ec11, mbe strainlerinin *R. solani*'ye karşı %57; 3ss9 ve 6110 strainlerinin *P. cactorum*'a karşı %50 oranında etkili olduğu tespit edilmiştir.

Yılmaz (2008), tarafından *in vitro* ve *in vivo* koşullarda domateste sorun olan *Macrophomina phaseolina*, *R. solani*, *Fusarium oxysporum* ve *Sclerotinia sclerotiorum* gibi toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine karşı antagonist bakteri strainleri (*Lysobacter enzymogenes* C3R5 ve N4-7) ile bitki büyümesini teşvik eden kök bakterilerinin (*Bacillus pumilus* T4, *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a, *Pseudomonas fluorescens* WCS417r ve *Pseudomonas putida* 89B-61) etkinliği ve etki mekanizmaları araştırılmıştır. *In vitro* ikili kültür testlerinde *L. enzymogenes* C3R5 ve N4-7 strainlerinin tüm patojenlerin gelişimlerini önemli düzeyde engelleyerek antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Yapılan mikroskopik gözlemlerde fungus hiflerinde

kıvrılma, kararma, sitoplazmik içeriklerde pıhtılaşma, vakuolleşme, sitoplazmik boşalma ve hücre duvarlarında erimeler gibi morfolojik bakımdan oldukça önemli anormallikler gözlenmiştir. Bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin ise fungal hifler üzerinde herhangi bir yapısal bozulmaya neden olmadığı görülmüştür. *In vivo* çalışmalarda antagonist ve PGPR strainlerine ait farklı uygulamaların (tohum kaplama, yaprak yüzeyine püskürtme ve fidelerin köklerini bakteri süspansiyonu içine daldırma) bitki gelişimine ve hastalık çıkışı üzerine olan etkinlikleri araştırılmış ve strainlerin hepsinin kontrol ile karşılaştırıldığında hastalıkların çıkışını önemli düzeyde engellediği belirlenmiştir. Bitki büyümesini artıran en etkili uygulama şeklinin fidelerin şaşırtılmadan önce bakteri süspansiyonlarına daldırılması yöntemi olduğu tespit edilmiştir.

Çatallık Aksu (2015), tarafından yapılan çalışmada, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda, Aydın ilinde incir iç çürüklüğü hastalığına neden olan *Fusarium* türlerine karşı dişi ve erkek incir meyvelerinden izole edilen bakterilerin etkinlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla Aydın ilinden (Bozdoğan, Nazilli ve Erbeyli İncir Araştırma İstasyonu) toplanan hastalıklı erkek incir meyvelerinden *Fusarium* spp., (*F. solani*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides* ve *Fusarium* sp.), sağlıklı erkek incir meyvelerinden ise 138 bakteri straini izole edilmiştir. Yapılan ikili kültür testlerinde en yüksek engelleme zonu oluşturan 20 bakteri straini seçilerek tanılanmıştır. İncir iç çürüklüğüne karşı bakteri uygulamalarında *Pseudomonas* sp. olarak tanımlanan strainden (BB7-B4) %72, *Pantoea* sp. (Boğa in 1) den % 63,23, *Serratia* sp. (Kaba ilek B2) den %52,77, *Pseudomonas* sp. (BEB 10 B2T) den %42,77 etki ve ticari fungusit (prokloraz) uygulamasından %34,31 oranında etki bulunmuştur.

Dönmez ve ark. (2015), tarafından fasulye ve patates bitkilerinde çökerten hastalığına neden olan *R. solani*'ye karşı çay bitkisinin rizosferinden izole edilen 73 bakteri straininin biyokontrol etkinlikleri araştırılmıştır. *In vitro* antagonistik etki testinde 73 aday antagonist bakteri straininden 15 tanesi etkili bulunmuş ve 0,20 - 2,30 cm arasında değişen engelleme zonu oluşturarak patojenin misel gelişimini inhibe ettiği saptanmıştır. *In vivo* saksı denemelerinde ise antagonist bakteri strainlerinin kontrol grubuna göre hastalık gelişimini %12 - %83 oranları arasında engellediği tespit edilmiştir.

Ardıç (2016), tarafından Kahramanmaraş ilinde biber yetiştiriciliği yapılan yerlerde daha iyi gelişme gösteren sağlıklı bitkilerin kök bölgesinden köklerle birlikte 36 toprak örneği alınmış ve yapılan izolasyonlar sonrası 713 bakteri straini elde edilmiştir. Bu bakterilerden *Phytophthora capsici* L.'ye karşı engelleme zonu oluşturan 15 strain seçilmiş ve gram reaksiyon, oksidaz, katalaz ve fluoresan özellikleri belirlenmiştir. Bakteri strainleri Biolog Gen III sistemi ile tanılanmış ve *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *Mycobacterium confluentis*, *Mycobacterium immunogenum*, *Paenibacillus castaneae*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. viridiflava* ve *Tsukamurella pauromatabola* türleri belirlenmiştir.



### **3. MATERYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Çalışmada kullanılan alet ve ekipmanlar**

Çalışmada Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarında bulunan otoklav, steril kabin, inkübatör, hematolojik çalkalayıcı, pH metre, derin dondurucu, buzdolabı, su banyosu, magnetik karıştırıcı, hassas terazi, saf su cihazı, vortex ve mikrobiyal tanı sistemi kullanılmıştır.

##### **3.1.2. Çalışmada kullanılan bitki materyali**

Çalışmada izole edilen bakteri strainlerinin *R. solani*' ye karşı antagonistik etkisini değerlendirmek için şeker fasulye çeşiti kullanılmıştır.

##### **3.1.3. Çalışmada kullanılan patojen fungus izolatları**

Araştırmada Rs-pat, B-227 ve B-1 olmak üzere üç *R. solani* izolatu kullanılmıştır. İzolatlar Prof. Dr. Erkol DEMİRCİ (Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü)'den temin edilmiştir.

##### **3.1.4. Çalışmada kullanılan izolasyon materyali**

Çalışmada kullanılan bakteri strainlerinin elde edilmesinde Iğdır ili Aralık ilçesinde yetişen o bölgeye özgü olan, erozyonu önlemeye yardımcı Ebu Cehil (*Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.) bitkisinin kökleri ve kökleri saran kumlu toprak, ilçeye bağlı Yukarı Çamurlu köyünden alınan tuzlu toprak ve Karakoyunlu ilçesine bağlı Taşburun köyünden alınan volkanik toprak izolasyon materyali olarak kullanılmıştır.

##### **3.1.5. Çalışmada kullanılan karşılaştırma kültürleri**

Çalışmada yer alan testlerde karşılaştırma kültürleri olarak Dr. Mesude Figen DÖNMEZ'in kültür koleksiyonunda bulunan *Erwinia amylovora* (GG3 ve GG15 kodlu), *Pantoea agglomerans* (MFD 232 kodlu), *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* (MFD 351 kodlu), *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* ( MFD 135 kodlu), *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (MFD 149 ve MFD 480 kodlu) ve *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* (MFD 481 kodlu) bakteri strainleri kullanılmıştır.

## **3.2. Metot**

### **3.2.1. Örneklerin alınması**

Çalışma örnekleri 2014 yılında Iğdır İli Aralık ilçesinde kumlu topraklarda yetişen Ebu Cehil (*Calligonum polygonoides* L. subsp. *comosum* (L'Hér.) bitkisinin rizosfer bölgesinden ve ilçeye bağlı Yukarı Çamurlu köyü ile Karakoyunlu ilçesine bağlı Taşburun köylerinde bulunan, tuzlu ve volkanik topraklardan alınmıştır. Alınan örneklerin çalışma alanını temsil etmesine özen gösterilmiş ve örnekler içerisinde buz aküleri olan plastik kaplara konularak laboratuvara getirilmiştir.

### **3.2.2. Bakteri strainlerinin izolasyonu ve stok kültürlerin hazırlanması**

Alınan örneklerden bakteri strainlerinin izolasyonu için 10 g toprak tartılmış ve 250-300 ml hacminde steril erlene konulmuştur. Bunun üzerine 90 ml su eklenmiş ve 30 dk çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Erlendeki süspansiyondan steril pipetle 1 ml alınmış ve içerisine 9 ml steril su bulunan tüplere konarak iyice karıştırılmıştır. Bu tüpten tekrar 1 ml alınıp, içerisinde yine 9 ml steril su bulunan tüpe aktarılmış ve iyice karışması sağlanmıştır. Bu seyreltme işlemi 5-6 kez tekrarlanmıştır. Son 3 seyreltikten 100 µl alınıp petrilere konulmuş ve cam bagetle yayılarak 3 tekrarlı olacak şekilde nutrient agar (NA) besi ortamına ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 27 °C'de 3-4 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda gelişen karışık bakteri kültürlerinden, farklı renk ve şekildeki koloniler alınıp tekrar besiyerine ekilerek saf kültürler elde edilmiştir.

Saf kültürlere ait 24 sa'lik her bir bakteriden bir öze dolusu alınmış, içerisinde 500 µl % 30'luk gliserol ve 500 µl LB bulunan steril eppendorf tüplere aktarılmıştır. Tüpler karıştırıcıda karıştırılarak homojenizasyon sağlandıktan sonra, çalışmalarda kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3. Mikroorganizmaların yağ asit profillerine göre tanılanması**

Saf kültür olarak - 80 °C'de muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (FAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal Tanı Sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak kültüre alınan strainlerin tür ve alt tür seviyesinde tanısı yapılmıştır. Referans kültür olarak MFD 149 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (MIS tanılama yüzdesi 91) kullanılmıştır.

### **3.2.3.a. Aerobik bakteri strainlerinin trypticase soy broth agar (TSBA) besiyerinde geliştirilmesi**

Test edilen mikroorganizmalar steril platin bir öze ile depo kültürden alınmış, TSBA katı besiyerine 4 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler, 24-48 sa süreyle 27 °C'ye ayarlı bir inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.

### **3.2.3.b. Yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması**

Mikroorganizmaların yağ asitlerini saf olarak izole edebilmek için 4 farklı çözelti kullanılmıştır. Hazırlanan 4 çözelti ile aerobik bakterilerden yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması aşağıdaki metod takip edilerek yapılmıştır.

1. TSBA üzerinde geliştirilen bakterilerin inkübasyon periyodunu takiben, 4 fazlı çizim yapılmış petrilerin 3 ve 4 numaralı fazlarından canlı bakteri hücreleri steril bir özeyle toplanarak (~ 40mg) steril teflon kapaklı cam test tüplerine (5 ml) aktarılmış, tüpler etiketlenerek ağızları kapatılmıştır.

2. Her bir test tüpüne 1 ml hücre parçalayıcı çözelti ilave edilmiş ve 5-10 s çalkalandıktan sonra test tüpler 5 dk süreyle 100 °C'lik su banyosunda bekletilmiştir. Ardından tekrar 5-10 s çalkalanan test tüpler 25 dk süreyle 100 °C'lik su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Bu muamele ile canlı hücreler parçalanarak, yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

3. Test tüplerine 2 ml metilleştirme çözeltilerinden eklendikten sonra 5-10 s'lik bir çalkalamadan sonra 80 °C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletilmiş ve hemen takiben 2 dk süreyle buz veya soğuk su içerisinde soğutulmuştur. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş ve yağ asitlerinden yağ asit metil esterleri elde edilmiştir. Böylece yağ asitlerine yüksek sıcaklıklarda uçuculuk özelliği kazandırılmıştır.

4. Soğutulmuş tüplere 1,25 ml saflaştırma çözeltilerinden eklenerek 10 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısında çalkalanmıştır. Tüplerin alt kısmında asidik (inorganik), üst kısmında da organik sıvı faz olmak üzere 2 ayrı faz oluştuğu gözlenmiştir. Yağ asit metil esterleri asidik fazdan ayrılarak organik faz bölgesinde toplandığından pastör pipeti kullanarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve organik faz muhafaza edilmiştir.

5. En son aşamada her tüpe 3 ml bazik yıkama çözeltisinden ilave edilmiştir. Tüpler 5 dk süreyle hematoloji çalkalayıcısında karıştırıldıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletilmiştir. Kullanılan çözelti bazik özellikte olduğundan, serbest yağ asit metil esterleri daha saf olarak elde edilmiştir. Bu aşamada da tüp içerisinde yine iki ayrı faz oluştuğu gözlenmiştir. Üst fazda toplanan ve yağ asit metil esterleri içeren faz pastör pipeti ile alınarak 2 ml gaz kromatografisi tüplerine transfer edildikten sonra ağızları sıkıca kapatılmış, MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmiştir.

### 3.2.3.c. Örneklerin mikrobiyal tanı sistemi ile analiz edilmesi

Örnekler MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirildikten sonra cihaz çalıştırılmış, sistem klavuzunda belirtildiği gibi tek tek analiz edilerek tanı sonuçları alınmıştır. Her bir bakteri straini için elde edilen yağ asitlerinin türleri ve yüzde oranlarının ortalamaları belirlenmiştir.



**Şekil 3.1** Bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizi için örneklerin MIS cihazı üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmesi



### **3.2.4. Tütünde aşırı duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) testi**

Elde edilen bakteri strainleri NA besiyerine ekilerek, 24-48 sa 27 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen kültürlerden sH<sub>2</sub>O ile konsantrasyonu 10<sup>8</sup> hücre/ml olan solüsyonlar hazırlanmıştır. Solüsyonlar 3cc'lik plastik enjektörlerle tütün (*Nicotiana tabacum* L. Samsun) yapraklarının alt kısmından damar aralarına enjekte edilmiştir. Uygulama yapılan bitkiler en az 8 sa, ışıklı bir ortamda muhafaza edilerek inokulasyonun yapıldığı kısımda 48-72 sa içerisinde nekroz oluşup oluşmadığı gözlenmiştir. Ölü doku oluşumu HR pozitif, oluşmaması ise HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Dönmez, 2004). Bu çalışmada karşılaştırma kültürü olarak GG15 *Erwinia amylovora* (pozitif kontrol) süspansiyonu ve steril su (negatif kontrol) kullanılmıştır.

### **3.2.5. Bakteri strainlerinin koloni morfolojilerinin belirlenmesi ve biyokimyasal testlerle tanısı**

#### **3.2.5.a. Koloni morfolojisi**

Mikroorganizmalar Yeast Dekstrose Kalsiyum Karbonat Agar (YDC besiyeri üzerine nokta veya çizgi ekim şeklinde ekilmiş, 48-72 sa 27 °C 'de inkübe edildikten sonra besi yerinde gelişen kolonilerin rengi tespit edilmiştir (Saygılı, 1995).

#### **3.2.5.b. Gram reaksiyon testi**

Bakteri strainlerinin hücre duvarlarındaki farklılığı belirleyebilmek için bir lam üzerine, %3'lük KOH çözeltisinden bir iki damla damlatılmıştır. Ardından NA üzerinde geliştirilen 24-48 sa'lik bakteri kültüründen öze ile alınarak KOH çözeltisi ile 5-10 s karıştırılmıştır. Öze bu karışıma dokundurulduktan sonra yukarıya doğru kaldırılmış ve 1-3 cm veya daha uzun iplik şeklinde oluşan viskoz bir uzama gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Saygılı, 1995). Karşılaştırma kültürü olarak gram negatif MFD 232 *Pantoea agglomerans* ve gram pozitif özelliğe sahip MFD 351 *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* strainleri kullanılmıştır.

#### **3.2.5.c Katalaz testi**

Katalaz, elektron transfer zincirinin sonunda açığa çıkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in parçalanarak O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya dönüşümünü sağlayan bir enzimdir. Katalaz enzimin varlık veya yokluğunu belirlemek için bakteri strainleri NA ortamında geliştirilmiştir. 24-48 sa'lik bakteri kültüründen bir öze alınmış ve üzerine 1 damla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilmiştir. Reaksiyon

sonucu meydana gelen kabarcık oluşumu katalaz pozitif, oluşmaması ise katalaz negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Dönmez, 2004). Pozitif kontrol olarak MFD 135 *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* straini kullanılmıştır.

#### **3.2.5.ç. Oksidaz testi**

Elektron transferinde bakterilerin cytochrome c proteinine sahip olup olmadıkları bu testle saptanmıştır. Solunum prosesinde cytochrome c proteini (oksidaz c) görev almakta ve elektron transfer sisteminde maddeleri birinden diğerine indirgeyerek hücresel enerji (ATP) oluşumuna neden olmaktadır. Test için % 1 tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride içeren diskler kullanılmıştır. Bu diskler 1 damla sdH<sub>2</sub>O ile doyurulmuş ve sonra üzerleri 24-48 sa'lik bakteri ile kaplanmıştır. Gözlemlenen mavimsi-mor renk, diskte kodlu olan kimyasal ile enzimin reaksiyona girdiğini ve bakteride citochrome c proteininin olduğunu ifade etmektedir. Bu renk değişiminin oluşması pozitif, oluşmaması ise negatif sonuç olarak kabul edilmiştir (Harley and Prescott, 2002). Kontrol olarak oksidaz özelliği negatif olan MFD 480 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* kullanılmıştır.

#### **3.2.5.d. Nişasta hidrolizi**

Nişasta molekülünü parçalayarak biyolojik enerjiye dönüştürmede görev yapan amilaz enziminin var olup olmadığı bu testle belirlenmiştir. Nutrient Starch Agar (NAS) besiyerine bakteriler nokta şeklinde ekilmiştir. 2-7 günlük bir inkübasyon sonrasında bakteri kolonisinin etrafında görülen renk açıklığı veya hale amilaz pozitif olarak değerlendirilmiştir. Sonuç çıplak gözle fark edilemediğinde lugol solüsyonundan 5 ml petrilere dökülmüş ve mavi renk verenler negatif, mavi renk vermeyip ekim çizgileri etrafında açık renk hale verenler pozitif olarak kaydedilmiştir (Narayanasamy, 1997). Pozitif kontrol olarak MFD 481 *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* var. *fuscans* kullanılmıştır.

#### **3.2.5.e. Levan koloni oluşumu testi**

Bakteri strainleri nutrient sukroz agar besiyerine çizgi ekim şeklinde ekilerek 27 °C'de 5 gün inkübe edilmiştir. Levan sucrase enziminin sukrozu kullanması sonucu oluşan konveks, mukoid koloniler levan pozitif olarak belirlenmiştir (Klement *et al.*, 1990). Pozitif kontrol olarak GG3 *Erwinia amylovora* kullanılmıştır.

### 3.2.6. Bakteri strainlerinin azot fiksasyon özelliğinin belirlenmesi

N-Free Solid Malate-Sucrose (Litreye Sucrose 10g, L-Malic Acid 5g, MgSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O 0,2g, FeCl<sub>3</sub> 0,01g, NaCl 0,1g, CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,1g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,4g, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O Agar 18g ) besiyeri hazırlanmıştır. Karışımın pH'sı 1N NaOH ile 7,2'ye ayarlanmış, otoklavda 121°C'de 20 dk. steril edilmiştir. 24-48 saatlik bakteri kültürlerinden hazırlanan besiyerine ekim yapılmış, bakteriler gelişmeleri için inkübatörde 27 °C bir hafta inkübe edilmiştir. Bakteri gelişimi hergün kontrol edilmiş, gelişim gösteren strainler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### 3.2.7. Bakteri strainlerinin fosfor çözebilme özelliğinin belirlenmesi

NBRIP-BPB ( National Botanical Research Institutes's Phosphate Growth Medium; Litreye Glukoz 20g, Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 10g, MgCl<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O 5g, MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O 0,25g, KCl 0,2g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,1g, Bromphenol blue 0, 025g, pH=7 ) besiyeri hazırlanarak test tüplere aktarılmıştır. Sıvı besiyerine 24 saatlik bakteri strainleri ekim yapılarak bir hafta süreyle 27 °C inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Günlük kontoller yapılmış ve test tüplerindeki renk değişimi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

### 3.2.8. Bakteri strainlerinin potasyum çözebilme özelliğinin belirlenmesi

Aleksandrow katı besiyeri ( Litreye; 5 g glucose, 0,005 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,1 g FeCl<sub>3</sub>, 2 g CaCO<sub>3</sub>, 3 g waste mica, 2 g Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, 20 g agar) kullanılmıştır. 24-48 saatlik bakteri kültürlerinden hazırlanan besiyerine nokta ekim yapılmış, bakteriler gelişmeleri için 28 °C'de inkübatörde bir hafta inkübe edilmiştir. Bakteri gelişiminin etrafında oluşan zon pozitif olarak değerlendirilmiştir (Meena *et al.*, 2015).

### 3.2.9. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması

-80 °C'de muhafaza edilen bakteri strainleri ( NA; Lab-lemco powder 1 g, yeast extract 2 g, peptone 5 g, sodium chloride 5 g, agar 15 g, distile su 1 L. pH 7,4 ± 0,2) besi ortamına ekilerek 48 sa 28 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen bakteri kültürlerinden alınan koloniler, içerisinde nutrient broth ( NB; Lab-lemco powder 1 g, yeast extract 2 g, peptone 5 g, sodium chloride 5 g, distile su 1 L. pH 7,4 ± 0,2) bulunan erlenmayerler içerisine aktarılmıştır. Süspansiyonlara antagonistlerin yapışma özelliğini güçlendirmek için sukroz ilave edilmiştir. Kontamine edilen sıvı besi yerleri 28 °C'ye ayarlı çalkalayıcıda 140 rpm'de 1 gece inkübe edilmiştir. Hazırlanan

bakteriyel inokulumun konsantrasyonu  $10^8$  CFU/ml olacak şekilde dH<sub>2</sub>O ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

### 3.2.10. *In-vitro* koşullarda bakteri strainlerinin *R. solani*' ye karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi

*R. solani* izolatları ve bakteri strainleri arasındaki etkileşim ikili kültür yöntemi ile çalışılmıştır. Bu amaçla patojen PDA besi ortamında 4-5 gün, aday antagonist bakteriler ise NA besi ortamında 24-48 sa geliştirilmiştir. Fungal izolatlara ait kültürlerden 4 mm çapında iki disk alınarak içerisinde PDA bulunan 9 cm çapındaki petrilerin kenar kısımlarına karşılıklı olacak şekilde yerleştirilmiştir. Bakteriler ise petrinin orta kısmına çizgi ekim yapılarak bir hafta süre ile 27 °C'de inkübe edilmiştir. Bakteri ekimi yapılmayan petri kontrol olarak kullanılmıştır. Her bir bakteri straini için 2 petri kullanılmış ve çalışma 3 defa tekrarlanmıştır (Dönmez, 2015).



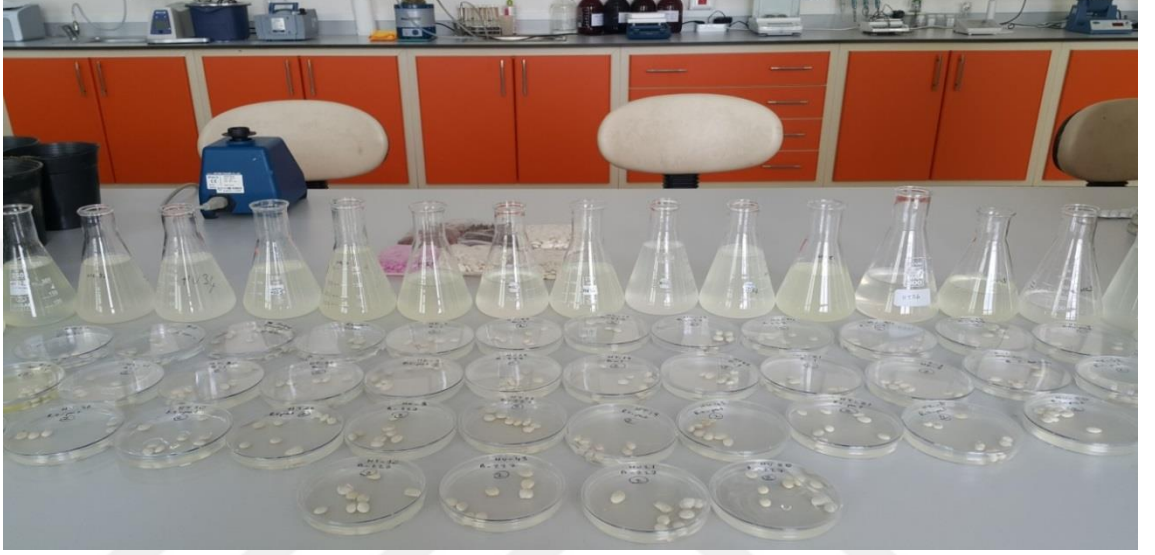
**Şekil 3.2** Aday PGPR bakteri strainlerinin fungal izolatların gelişimi üzerine antagonistik potansiyellerinin ikili kültür yöntemi ile belirlenmesi

### 3.2.11. *In-vivo* koşullarda bakteri strainlerinin *R. solani*' ye karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi

*In-vitro* şartlarda *R. solani* izolatlarına karşı etkili olduğu tespit edilen strainlerin etkinliği *in vivo* şartlarda test edilmiştir. Saksı ortamı 1:1 oranında toprak ve perlitten oluşturulmuştur. Ortam 121°C'de 1 saat 2 gün üst üste otoklavda steril edildikten sonra saksılara doldurulmuştur. Fasulye tohumları musluk suyunda yıkandıktan sonra %70'lik ethil alkolde 2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra tohumlar saf su içerisinde bırakılarak 10 dk olmak üzere iki kez durulanmıştır. Yıkanan tohumlar bakteri süspansiyonları içinde 2

sa bekleldikten sonra saksılara üçer adet ekilmiştir. Uygulama görmemiş tohumlar ise sadece steril suda bekleldikten sonra saksılara aktarılmıştır.

Saksı denemesinde bakteri uygulamalarının *R. solani* izolatlarına karşı etkisinin test edildiği görseller Şekil 3.3, 3.4 ve 3.5’de verilmiştir.



Şekil 3.3 Bakteri strainlerinin fasulye tohumlarına uygulanması



Şekil 3.4 Bakteri ile kaplanan tohumların saksılara ekilmesi

Deneme; pozitif kontrol (temiz toprak+hastalıkla bulaşık tohum), negatif kontrol (temiz toprak+temiz tohum) ve bakteri uygulaması (temiz toprak+bakteri kodlanmış tohum +patojen) olmak üzere dört tekerrürlü olarak tesadüf blokları deneme desenine göre kurulmuştur. Patojen içeren uygulamalarda, bitkilerin ekiminden 3 hafta sonra bitkilerin kök kısmı açılarak 2 adet fungal disk bırakılmıştır (Şekil. 3.5).(Dönmez, 2015).



**Şekil 3.5** A) Bakterilerin *R. solani*' ye karşı biyokontrol etkisinin belirlenmesi için kurulan saksı denemesinden genel bir görüntü B) Fasulye köklerine fungal disklerin bırakılması

### 3. 3. Verilerin Değerlendirilmesi

*In vitro* testte, inhibisyon zonu ölçümü, kontrol olarak geliştirilen fungus miselinin tamamen petriyi kapattığı anda yapılmıştır. İnhibisyon zonu miselyumun kenar kısmından bakteri kolonisine kadar ölçülerek belirlenmiştir. Yüzde engelleme oranı ise bakteri uygulaması yapılmış petrideki fungal koloni çapları ve uygulama yapılmamış kontrol petrideki çapa göre aşağıdaki formül kullanılarak saptanmıştır (Çubukçu, 2007).

$$\% \text{Engelleme} = \frac{\text{Kontrol petrideki fungus koloni çapı} - \text{Bakterili petrideki fungus koloni çapı}}{\text{Kontrol petrideki fungus koloni çapı}} \times 100 \quad (3.1)$$

*In vivo* testinin değerlendirilmesinde saksıdaki bitkiler sökülmüş, fasulye bitkisinin köklerinde meydana gelen hastalık simptomsu 0-4 skalasına göre (0: Simptom yok, normal kök gelişimi, 1: Nekroz olmadan lokalize doku renklenmesi, kök gelişimi normale yakın, 2: Dokularda yoğun renk değişikliği, normale yakın kök gelişimi, 3: Hemen hemen köklerin tamamında nekroz, kısmi olarak kök uzunluğunun sınırlanması, 4: Köklerde çürüme, kök uzunluğunda ciddi şekilde sınırlanma ) değerlendirilmiştir (Aydın, 2008; Eken ve Demirci, 2004). Tanımsal skalaya göre belirlenen değerlerle hastalık şiddeti Towsend-Heuberger (1943) formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = [\sum(\text{SD} \times \text{BS})] \times 100 / \text{ESD} \times \text{TB} \quad (3.2)$$

**SD:** Skala değeri

**BS:** Aynı skala değerindeki bitki sayısı

**ESD:** En yüksek skala değeri

**TB:** Toplam bitki sayısı

Elde edilen hastalık şiddeti (%) sonuçları, Abbott (1925), formülü yardımı ile kontrole göre % etki değerleri olarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Etki} = (\text{X} - \text{Y}) / \text{X} \times 100 \quad (3.3)$$

**X;** Kontroldeki Hastalık Şiddeti

**Y;** Uygulamadaki Hastalık Şiddeti

Elde edilen verilere, bilgisayarda SPSS (SPSS Inc. PASW Statistics versiyon 17) paket programı ile varyans analizi uygulanmış ve uygulamalar arasındaki farklılıklar  $P \leq 0.01$  hata olasılığı ile yapılan DUNCAN testiyle belirlenmiştir.



## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Bakteri Strainlerinin İzolasyonu

Laboratuvara getirilen örneklerden bakteri izolasyonu ve saflaştırması yapılmış ve toplam 83 strain elde edilmiştir. Strainlerin 30 tanesi kumlu topraklardan (Aralık), 18 tanesi tuzlu topraklardan (Yukarı Çamurlu) ve 35 tanesi de volkanik özellikteki topraklardan (Taşburun) izole edilmiştir. İzolasyon sonucu elde edilen saf bakteri kültürlerine ait stok kültürler hazırlanmış ve çalışmalarda kullanılmak üzere  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir (Şekil 4.1).



**Şekil. 4.1** İzolasyon için katı besiyeri hazırlanması

Örneklerin alındığı alanlar Şekil 4.2. Şekil 4.3. Şekil 4.4.'de ve çalışmada elde edilen bakteri strainlerine ilişkin bilgiler Çizelge 4.1 de verilmiştir.





**Şekil 4.2** Tuzlu toprak örneklerinin alındığı alan (Yukarı Çamurlu Köyü)



**Şekil 4.3** Kumlu toprak örneklerinin alındığı alan ve Ebu Cehil bitkisi (Aralık)



**Şekil 4.4** Volkanik toprak örneklerinin alındığı alan (Taşburun)

**Çizelge 4.1.** Çalışmada elde edilen bakteri strainlerine ait bilgiler

| Sıra No | Strain No | Kaynak              | Lokasyon       | Tarih |
|---------|-----------|---------------------|----------------|-------|
| 1       | HK2       | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 2       | HK3       | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 3       | HK5       | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 4       | HK7       | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 5       | HK8       | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 6       | HK9       | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 7       | HK10      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 8       | HK11      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 9       | HK12      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 10      | HK13      | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 11      | HK14      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 12      | HK15      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 13      | HK16      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 14      | HK17      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 15      | HK18      | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 16      | HK19      | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 17      | HK20      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 18      | HK21      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 19      | HK22      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 20      | HK23      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 21      | HK24      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 22      | HK27      | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 23      | HK28      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 24      | HK29      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 25      | HK30      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 26      | HK32      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 27      | HK34      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 28      | HK37      | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 29      | HK38      | Kök                 | Aralık         | 2014  |
| 30      | HK41      | Kök+ Toprak (Kumlu) | Aralık         | 2014  |
| 31      | HT1       | Toprak (Tuzlu)      | Yukarı Çamurlu | 2014  |

**Çizelge 4.1 Devamı**

| <b>Sıra No</b> | <b>Strain No</b> | <b>Kaynak</b>     | <b>Lokasyon</b> | <b>Tarih</b> |
|----------------|------------------|-------------------|-----------------|--------------|
| 32             | HT4              | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 33             | HT5              | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 34             | HT6              | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 35             | HT7              | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 36             | HT12             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 37             | HT13             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 38             | HT14             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 39             | HT16             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 40             | HT17             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 41             | HT19             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 42             | HT20             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 43             | HT21             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 44             | HT24             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 45             | HT25             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 46             | HT26             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 47             | HT30             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 48             | HT33             | Toprak (Tuzlu)    | Yukarı Çamurlu  | 2014         |
| 49             | HV1              | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 50             | HV2              | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 51             | HV3              | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 52             | HV5              | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 53             | HV8              | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 54             | HV9              | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 55             | HV11             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 56             | HV12             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 57             | HV13             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 58             | HV14             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 59             | HV15             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 60             | HV16             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 61             | HV17             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |
| 62             | HV20             | Toprak (Volkanik) | Taşburun        | 2014         |

**Çizelge 4.1 Devamı**

| Sıra No | Strain No | Kaynak            | Lokasyon | Tarih |
|---------|-----------|-------------------|----------|-------|
| 63      | HV21      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 64      | HV22      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 65      | HV23      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 66      | HV24      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 67      | HV25      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 68      | HV26      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 69      | HV27      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 70      | HV28      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 71      | HV29      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 72      | HV30      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 73      | HV31      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 74      | HV32      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 75      | HV33      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 76      | HV34      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 77      | HV35      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 78      | HV36      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 79      | HV39      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 80      | HV41      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 81      | HV42      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 82      | HV43      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |
| 83      | HV46      | Toprak (Volkanik) | Taşburun | 2014  |

#### **4.2. Mikroorganizmaların Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı**

Bakteri strainlerinin yağ asitleri saflaştırılarak mikrobiyal tanı sistemi (MIS) ile yapılan tanı sonuçları Çizelge 4.2 Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4’de verilmiştir. Çizelge 4.2’de belirtilen sonuçlara göre tuzlu topraklardan yapılan izolasyonlar sonucu 2 *Bacillus mageterium*, 3 *Bacillus atrophaeus*, 1 *Brevibacillus choshinensis*, 2 *Bacillus pumilus*, 1 *Gardonia rubriperticta*, 1 *Microbacterium lacticum*, 1 *Bacillus licheniformis*, 1 *Brevibacillus reuszeri*, 1 *Bacillus thuringiensis israelensis*, 1 *Virgibacillus pantotheticus*, 1 *Bacillus cereus*, 1 *Bacillus filicolonicus*, 1 *Bacillus subtilis* ve 1 *Paenibacillus alvei* olmak üzere 14 farklı tür tanılanmıştır.

**Çizelge 4.2** Tuzlu topraklardan izole edilen bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizlerine göre tanı sonuçları

| SIRA NO | STRAIN | MIS TANI SONUCU                              | SIM INDEX % |
|---------|--------|--|-------------|
| 1       | HT1    | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>     | 0,677       |
| 2       | HT4    | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | 0,798       |
| 3       | HT5    | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>     | 0,698       |
| 4       | HT6    | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | 0,861       |
| 5       | HT7    | <i>Brevibacillus choshinensis</i>            | 0,654       |
| 6       | HT12   | <i>Bacillus pumilus</i>                      | 0,693       |
| 7       | HT13   | <i>Gardonia rubriperticta GC subgroup A</i>  | 0,506       |
| 8       | HT14   | <i>Microbacterium lacticum GC subgroup B</i> | 0,536       |
| 9       | HT16   | <i>Bacillus licheniformis</i>                | 0,668       |
| 10      | HT17   | <i>Brevibacillus reuszeri</i>                | 0,859       |
| 11      | HT19   | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>    | 0,668       |
| 12      | HT20   | <i>Virgibacillus pantotheticus</i>           | 0,464       |
| 13      | HT21   | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>         | 0,696       |
| 14      | HT24   | <i>Bacillus pumilus GC subgroup A</i>        | 0,500       |
| 15      | HT25   | <i>Bacillus filicolonicus</i>                | 0,443       |
| 16      | HT26   | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | 0,673       |
| 17      | HT30   | <i>Bacillus subtilis</i>                     | 0,734       |
| 18      | HT33   | <i>Paenibacillus alvei GC subgroup A</i>     | 0,478       |

Kumlu topraklardan yapılan izolasyonlarda 3 *Bacillus subtilis*, 6 *Bacillus megaterium*, 2 *Bacillus cereus*, 2 *Pseudomonas stutzeri*, 2 *Sporosarcina psychrophila*, 1 *Bacillus licheniformis*, 1 *Arthrobacter aurescens*, 1 *Raoultella terrigena*, 1 *Panibacillus validus*, 1 *Chryseobacterium indologenes*, 1 *Chryseobacterium indoltheticum*, 1 *Kurthia gibsonii*, 1 *Flavimonas oryzihabitans*, 1 *Cellulomonas fimi*, 1 *Bacillus niacini*, 1 *Kocuria varians*, 1 *Brevibacillus reuszeri* ve 3 *Bacillus viscosus* olmak üzere 18 bakteri türü tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3** Kumlu topraklardan izole edilen bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizlerine göre tanı sonuçları

| SIRA NO | STRAIN | MIS TANI SONUCU                          | SIM INDEX % |
|---------|--------|--|-------------|
| 1       | HK2    | <i>Bacillus subtilis</i>                 | 0,823       |
| 2       | HK3    | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i> | 0,771       |
| 3       | HK5    | <i>Pseudomonas stutzeri</i>              | 0,828       |
| 4       | HK7    | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>     | 0,703       |
| 5       | HK8    | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i> | 0,701       |
| 6       | HK9    | <i>Sporosarcina psychrophila</i>         | 0,629       |
| 7       | HK10   | <i>Bacillus subtilis</i>                 | 0,647       |
| 8       | HK11   | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>     | 0,668       |
| 9       | HK12   | <i>Pseudomonas stutzeri</i>              | 0,621       |
| 10      | HK13   | <i>Bacillus licheniformis</i>            | 0,663       |
| 11      | HK14   | <i>Arthrobacter aureus</i>               | 0,754       |
| 12      | HK15   | <i>Raoultella terrigena</i>              | 0,826       |
| 13      | HK16   | <i>Bacillus megaterium</i>               | 0,822       |
| 14      | HK17   | <i>Panibacillus validus</i>              | 0,260       |
| 15      | HK18   | <i>Chryseobacterium indologenes</i>      | 0,892       |
| 16      | HK19   | <i>Chryseobacterium indoltheticum</i>    | 0,732       |
| 17      | HK20   | <i>Kurthia gibsonii</i>                  | 0,520       |
| 18      | HK21   | <i>Flavimonas oryzihabitans</i>          | 0,573       |
| 19      | HK22   | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i> | 0,416       |
| 20      | HK23   | <i>Cellulomonas fimi GC subgroup A</i>   | 0,556       |
| 21      | HK24   | <i>Bacillus niacini</i>                  | 0,402       |
| 22      | HK27   | <i>Sporosarcina psychrophila</i>         | 0,629       |
| 23      | HK28   | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i> | 0,807       |
| 24      | HK29   | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i> | 0,830       |
| 25      | HK30   | <i>Kocuria varians GC subgroup C</i>     | 0,567       |
| 26      | HK32   | <i>Bacillus subtilis</i>                 | 0,526       |
| 27      | HK34   | <i>Brevibacillus reuszeri</i>            | 0,803       |
| 28      | HK37   | <i>Bacillus viscosus</i>                 | 0,491       |

**Çizelge 4.3** Devamı

| SIRA NO | STRAIN | MIS TANI SONUCU          | SIM INDEX % |
|---------|--------|--------------------------|-------------|
| 29      | HK38   | <i>Bacillus viscosus</i> | 0,629       |
| 30      | HK41   | <i>Bacillus viscosus</i> | 0,740       |

Çizelge 4.4’da belirtildiği gibi volkanik topraklardan yapılan izolasyonlar sonucunda ise 1 *Micrococcus luteus*, 3 *Bacillus megaterium*, 1 *Bacillus pumilus*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, 3 *Bacillus cereus*, 2 *Bacillus* sp., 1 *Pseudomonas syringae* *syringae*, 1 *Kluyvera intermedia*, 3 *Bacillus atrophaeus*, 1 *Pseudomonas stutzeri*, 1 *Chryseobacterium indoltheticum*, 2 *Kocuria rosea*, 1 *Brevibacillus chosinensis*, 1 *Pseudomonas putida*, 1 *Paenibacillus polymyxa*, 2 *Brevibacillus centrosporus*, 2 *Sphingobacterium faecium*, 1 *Bacillus subtilis*, 1 *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, 1 *Atrobacter globiformis*, 1 *Empedobacter brevis*, 1 *Micrococcus lylac*, 1 *Pseudomonas balearica* ve 1 *Bacillus thuringiensis israelensis* olmak üzere 24 farklı bakteri straini tanımlanmıştır.

**Çizelge 4.4** Volkanik topraklardan izole edilen bakteri strainlerinin yağ asit metil ester analizlerine göre tanı sonuçları

| SIRA NO | STRAIN | MIS TANI SONUCU                             | SIM INDEX % |
|---------|--------|---|-------------|
| 1       | HV1    | <i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B     | 0,758       |
| 2       | HV2    | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A    | 0,587       |
| 3       | HV3    | <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B       | 0,625       |
| 4       | HV5    | <i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype A    | 0,720       |
| 5       | HV8    | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A    | 0,682       |
| 6       | HV9    | <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A        | 0,775       |
| 7       | HV11   | <i>Bacillus</i> GC group 22                 | 0,535       |
| 8       | HV12   | <i>Pseudomonas syringae</i> <i>syringae</i> | 0,699       |
| 9       | HV13   | <i>Kluyvera intermedia</i>                  | 0,693       |
| 10      | HV14   | <i>Bacillus atrophaeus</i>                  | 0,580       |
| 11      | HV15   | <i>Bacillus atrophaeus</i>                  | 0,478       |
| 12      | HV16   | <i>Pseudomonas stutzeri</i>                 | 0,872       |

**Çizelge 4.4 Devamı**

| SIRA NO | STRAIN | MIS TANI SONUCU                           | SIM INDEX % |
|---------|--------|---|-------------|
| 13      | HV17   | <i>Chryseobacterium indoltheticum</i>     | 0,524       |
| 14      | HV20   | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 0,511       |
| 15      | HV21   | <i>Bacillus cereus GC subgroup-A</i>      | 0,770       |
| 16      | HV22   | <i>Kocuria rosea</i>                      | 0,736       |
| 17      | HV23   | <i>Brevibacillus chosinensis</i>          | 0,841       |
| 18      | HV24   | <i>Pseudomonas putida-biotype A</i>       | 0,520       |
| 19      | HV25   | <i>Paenibacillus polymyxa</i>             | 0,408       |
| 20      | HV26   | <i>Kocuria rosea GC subgroup A</i>        | 0,626       |
| 21      | HV27   | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 0,903       |
| 22      | HV28   | <i>Brevibacillus centrosporus</i>         | 0,777       |
| 23      | HV29   | <i>Sphingobacterium faecium</i>           | 0,723       |
| 24      | HV30   | <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>      | 0,869       |
| 25      | HV31   | <i>Atrobacter globiformis GC- GroupB</i>  | 0,682       |
| 26      | HV32   | <i>Empedobacter brevis</i>                | 0,672       |
| 27      | HV33   | <i>Sphingobacterium faecium</i>           | 0,828       |
| 28      | HV34   | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 0,731       |
| 29      | HV35   | <i>Pseudomonas fluorescens biotype A</i>  | 0,594       |
| 30      | HV36   | <i>Micrococcus lylac GC subgroup A</i>    | 0,672       |
| 31      | HV39   | <i>Pseudomonas balearica</i>              | 0,635       |
| 32      | HV41   | <i>Brevibacillus centrosporus</i>         | 0,559       |
| 33      | HV42   | <i>Bacillus GC group 22</i>               | 0,698       |
| 34      | HV43   | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 0,674       |
| 35      | HV46   | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 0,607       |

Elde edilen bakterilerin içerdikleri yağ asit metil ester (FAME) çeşitleri ve strainlerde bulunma oranları MIS ile tespit edilmiştir Tuzlu topraklardan elde edilen bakterilere ait yağ asit profilleri incelendiğinde strainlere göre yüzde olarak bulunma miktarları değişmekle birlikte 12:0, 12:0 iso 13:0 iso, 11:0 3OH, 13:0 anteiso, 14:0 iso, 14:0, 15:0 iso, 15:0 anteiso, 16:1 w7c alcohol, 16:0 iso, 16:1 w11c, 16:0, 15:0 iso 3OH,



15:0 2OH, 17:1 iso w10c, 17:1 iso w5c, 17:1anteiso A, 17:0 iso, 17:0 anteiso, 17:0, 18:0, 17:0 iso 3OH, 17:0 iso 2OH ve 18:1 w9c olmak üzere 25 farklı yağ asidi tespit edilmiştir. Strainlerin hepsinde 13:0 iso, 13:0 anteiso, 14:0 iso, 14:0, 15:0 iso, 15:0 anteiso, 16:1 w7c alcohol, 16:0 iso, 16:1 w11c, 16:0, 17:1 iso w10c, 17:0 iso, 17:0 anteiso yağ asitlerinin ortak olduğu bulunmuştur. Ortak olan yağ asitlerinden 15:0 anteiso' nun HT26 straininde %46,91, HT30 straininde ise %39,06 oran ile yüksek miktarlarda yer aldığı görülmüştür. Ayrıca 15:0 iso yağ asitinin HT19, HT21, HT26 VE HT30 strainlerinde sırasıyla %30,02, %28,67, %23,48 ve %30,33 oranları ile diğer yağ asitlerinden daha yüksek miktarda var oldukları saptanmıştır (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5** Tuzlu topraklardan izole edilen ve *in vitro* testlerde başarılı bulunan bakteri strainlerinin içerdikleri yağ asit metil ester çeşitleri ve strainlerde bulunma oranları (%)

| FAME                    | HT19  | HT21  | HT26  | HT30  |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|
| <b>12:0 İso</b>         | 1,01  | 1,14  |       |       |
| <b>12:0</b>             | 0,60  | 0,74  |       | 0,09  |
| <b>11:0 3OH</b>         |       |       |       | 0,05  |
| <b>13:0 İso</b>         | 12,99 | 15,55 | 0,33  | 0,29  |
| <b>13:0 anteiso</b>     | 1,63  | 2,30  | 0,99  | 0,11  |
| <b>14:0 iso</b>         | 5,83  | 4,52  | 1,17  | 0,51  |
| <b>14:0</b>             | 4,74  | 3,59  | 0,38  | 1,04  |
| <b>15:0 iso</b>         | 30,02 | 28,67 | 23,48 | 30,33 |
| <b>15:0 anteiso</b>     | 4,52  | 4,75  | 46,91 | 39,06 |
| <b>16:1 w7c alcohol</b> | 0,86  | 0,82  | 0,86  | 0,22  |
| <b>16:0 iso</b>         | 5,46  | 5,29  | 2,86  | 1,25  |
| <b>16:1 w11c</b>        | 0,47  | 0,66  | 1,22  | 1,93  |
| <b>16:0</b>             | 3,16  | 3,06  | 2,09  | 6,51  |
| <b>15:0 iso 3OH</b>     |       |       |       | 0,06  |
| <b>15:0 2OH</b>         | 0,61  | 0,81  |       | 0,06  |
| <b>17:1 iso w10c</b>    | 2,17  | 3,16  | 2,01  | 1,62  |
| <b>17:1 iso w5c</b>     | 3,79  | 3,60  |       |       |
| <b>17:1anteiso A</b>    | 0,74  | 0,81  |       |       |

**Çizelge 4.5** Devamı

| <b>FAME</b>         | <b>HT19</b> | <b>HT21</b> | <b>HT26</b> | <b>HT30</b> |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>17:0 iso</b>     | 4,59        | 4,50        | 5,99        | 7,58        |
| <b>17:0 anteiso</b> | 0,79        | 0,80        | 9,58        | 7,62        |
| <b>17:0</b>         |             |             |             | 0,09        |
| <b>18:0</b>         |             | 0,39        | 0,30        |             |
| <b>17:0 iso 3OH</b> |             |             |             | 0,11        |
| <b>17:0 iso 2OH</b> |             |             | 0,34        | 0,14        |
| <b>18:1 w9c</b>     | 0,29        |             |             | 0,12        |

**HT19:** *Bacillus thuringiensis israelensis* **HT21:** *B. cereus GC subgroup A* **HT26:** *B.atrophaeus*  
**HT30:** *B. subtilis*

Kumlu topraklardan izole edilen bakterilerde 10:0, 11:0 anteiso, 12: iso, 12:0, 13:0 iso, 13:0 anteiso, 14:0 iso, 14:0, 13:0 iso 3OH, 15:1 iso F, 15:0 iso, 15:0 anteiso, 15:1 w5c, 15:1 w6c, 16:1 w7c alcohol, 16:1 iso H, 16:0 iso, 16:0 anteiso, 16:1 w11c, 16:1 w5c, 16:0, 15:0 iso 3OH, 15:0 2OH, 18:1 2OH, 17:1 iso w5c, 17:1 anteiso A, 17:0 iso, 17:0 anteiso, 17:0 cyclo, 17:1 w8c, 17:1 w9c, 17:1 w6c, 17:1 w5c, 17:0, 18:1 iso H, 18:0 iso, 18:0, 18:1 w9c ve 17:1 iso w10c olmak üzere 39 çeşit yağ asitinin mevcudiyeti tespit edilmiştir. 15:0 iso, 15:0 anteiso, 16:0 iso, 17:1 iso w10c, 17:0 iso, 17:0 anteiso yağ asitlerinin strainlerin hepsinde ortak olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte strainlerde 15:0 iso ve 15:0 anteiso yağ asitlerinin yüzde miktarlarının diğer yağ asitlerinden oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu değer 15:0 iso yağ asiti için % 45,58 bulunma oranı ile HK8 straininde, 15:0 anteiso yağ asiti için ise %54,89 bulunma oranı ile HK17 straininde tespit edilmiştir (Çizelge 4.6)

**Çizelge 4.6** Kumlu topraklardan izole edilen ve *in vitro* testlerde başarılı bulunan bakteri strainlerinin içerdikleri yağ asit metil ester çeşitleri ve strainlerde bulunma oranları (%)

| <b>FAME</b>         | <b>HK2</b> | <b>HK3</b> | <b>HK7</b> | <b>HK8</b> | <b>HK13</b> | <b>HK17</b> | <b>HK32</b> |
|---------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-------------|
| <b>10:0</b>         |            | 0,51       |            |            |             | 0,30        |             |
| <b>11:0 anteiso</b> |            | 0,18       |            |            |             |             |             |
| <b>12: iso</b>      |            |            | 0,58       |            |             |             |             |
| <b>12:0</b>         |            | 0,28       | 0,22       |            |             | 0,34        |             |

Çizelge 4.6 Devamı

| FAME                    | HK2   | HK3   | HK7   | HK8   | HK13  | HK17  | HK32  |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>13:0 iso</b>         |       | 3,01  | 9,22  | 0,24  |       |       | 0,29  |
| <b>13:0 anteiso</b>     |       | 0,51  | 1,95  |       |       | 0,35  |       |
| <b>14:0 iso</b>         | 0,98  | 2,45  | 4,46  | 3,72  |       | 4,21  | 4,79  |
| <b>14:0</b>             |       | 2,20  | 3,00  | 0,41  |       | 0,92  | 1,21  |
| <b>13:0 iso 3OH</b>     |       |       |       |       |       |       | 0,32  |
| <b>15:1 iso F</b>       |       |       |       |       |       |       | 0,21  |
| <b>15:0 iso</b>         | 17,34 | 44,87 | 31,42 | 45,58 | 37,22 | 3,24  | 35,19 |
| <b>15:0 anteiso</b>     | 43,58 | 36,82 | 7,18  | 33,68 | 36,39 | 54,89 | 19,45 |
| <b>15:1 w5c</b>         |       |       | 2,67  |       |       | 0,38  |       |
| <b>15:1 w6c</b>         |       |       |       |       |       | 0,29  |       |
| <b>16:1 w7c alcohol</b> | 0,73  | 0,45  | 0,65  | 1,61  |       | 7,55  | 8,15  |
| <b>16:1 iso H</b>       |       |       |       |       |       | 0,19  | 0,65  |
| <b>16:0 iso</b>         | 3,81  | 0,77  | 4,56  | 1,09  | 2,25  | 2,87  | 4,36  |
| <b>16:0 anteiso</b>     |       |       |       |       |       | 0,14  | 0,10  |
| <b>16:1 w11c</b>        | 1,35  | 1,26  | 0,78  |       |       | 8,97  | 4,36  |
| <b>16:1 w5c</b>         |       |       | 0,49  |       |       | 0,18  | 0,27  |
| <b>16:0</b>             | 2,85  | 1,18  | 4,89  |       | 3,18  | 2,88  | 2,14  |
| <b>15:0 iso 3OH</b>     |       | 0,24  |       |       |       |       |       |
| <b>15:0 2OH</b>         |       | 0,31  | 0,33  |       |       |       |       |
| <b>17:1 iso w10c</b>    | 2,05  | 0,96  | 3,43  | 0,89  | 2,02  | 1,17  | 3,06  |
| <b>17:1 iso w5c</b>     |       |       | 2,91  |       |       |       |       |
| <b>17:1 anteiso A</b>   |       |       | 0,58  |       |       |       |       |
| <b>17:0 iso</b>         | 11,22 | 1,96  | 6,89  | 1,61  | 8,91  | 0,53  | 2,34  |
| <b>17:0 anteiso</b>     | 14,80 | 1,24  | 1,95  | 4,20  | 10,03 | 2,45  | 4,19  |
| <b>17:0 cyclo</b>       |       |       |       |       |       |       | 0,29  |
| <b>17:1 w8c</b>         |       |       | 0,20  |       |       |       |       |
| <b>17:1 w9c</b>         |       |       |       |       |       | 1,28  |       |
| <b>17:1 w6c</b>         |       |       | 0,09  |       |       | 0,24  |       |
| <b>17:1 w5c</b>         |       |       |       |       |       | 0,30  |       |
| <b>17:0</b>             |       |       |       |       |       | 0,30  | 0,69  |

Çizelge 4.6 Devamı

| FAME       | HK2 | HK3  | HK7  | HK8  | HK13 | HK17 | HK32 |
|------------|-----|------|------|------|------|------|------|
| 18:1 iso H |     |      | 0,08 |      |      |      |      |
| 18:0 iso   |     |      | 0,09 |      |      | 0,13 | 0,16 |
| 18:0       |     |      | 0,31 | 0,17 |      |      | 0,12 |
| 18:1 w9c   |     | 0,25 | 0,27 | 1,43 |      | 0,69 | 0,32 |
| 18:1 2OH   |     |      | 0,10 | 0,43 |      |      |      |

**HK2 - HK13:** *Bacillus licheniformis* **HK3 - HK8:** *B. megaterium* GC subgroup A **HK7:** *B. cereus* GC subgroup A **HK32:** *B. subtilis* **HK17:** *Paenibacillus validus*

Volkanik topraklardan izole edilen bakterilere ait yağ asit profilleri değerlendirilğinde, 9:0, 10:0, 10:0 3OH, 11:0 anteiso, 12: iso, 12:0, 13:0 iso, 13:0 anteiso, 13:0, 12:0 2OH, 12:1 3OH, 12:0 3OH, 14:0 iso, 14:0, 15:1 iso w9c, 15:0 iso, 15:0 anteiso, 15:1 w8c, 15:1 w6c, 15:1 w5c, 16:1 w7c alcohol, 16:0 N alcohol, 16:0 iso, 16:0 anteiso, 16:1 w11c, 16:1 w5c, 16:0, 15:0 iso 3OH, 15:0 2OH, 17:1 iso w10c, 17:1 iso w5c, 17:1 anteiso A, 17:0 iso, 17:0 anteiso, 17:1 w8c, 17:0 cyclo, 17:0, 17:0 iso 3OH, 17:0 2OH, 17:0 3OH, 16:0 3OH, 18:1 w9c, 18:0, 18:1 w7c 11-methyl, 18:1 w5c, 18:1 2OH, 19:0 cyclo w8c, 20:4 w6,9,12,15c, 20:0, 19:0 ve 20:1 w7c olmak üzere 51 farklı yağ asiti tespit edilmiştir. Bunlar içerisinde 14:0 ve 16:0 olmak üzere sadece iki tane yağ asitinin strainlerin hepsinde ortak olduğu görülmüştür. Belirlenen yağ asitlerinin strainlerde yüzde bulunma oranları değerlendirildiğinde 15:0 iso yağ asitinin HV12 ve HV13 strainlerinde hiç yer almadığı, diğer strainlerde ise %3,16 ile %43,81 oranında var olduğu saptanmıştır. 15:0 anteiso yağ asitinin varlığı ise yine HV12 ve HV13 strainlerinde görülmezken HV2, HV14, HV20, HV25, HV34, HV43 ve HV46 strainlerinde sırasıyla %34,76, %53,64, %35,13, %51,86, %43,32, %4,73 ve %4,78 oranlarında belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7 Volkanik topraklardan izole edilen bakteri strainlerinin içerdikleri yağ asit metil ester çeşitleri ve strainlerde bulunma oranları (%)

| FAME     | HV2  | HV12 | HV13 | HV14 | HV20 | HV25 | HV34 | HV43 | HV46 |
|----------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 9:0      |      | 0,08 |      |      |      |      |      |      |      |
| 10:0     | 1,04 | 0,16 |      |      | 3,15 |      |      |      |      |
| 10:0 3OH |      | 4,06 | 0,50 |      | 0,78 |      |      |      |      |

Çizelge 4.7 Devamı

| FAME                    | HV2   | HV12  | HV13  | HV14  | HV20  | HV25  | HV34  | HV43  | HV46  |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>11:0 anteiso</b>     | 0,25  |       |       |       |       |       |       |       |       |
| <b>12: iso</b>          |       |       |       |       |       |       |       | 0,67  | 0,26  |
| <b>12:0</b>             | 0,74  | 3,68  | 3,37  |       | 2,13  | 0,55  |       | 0,73  | 0,31  |
| <b>13:0 iso</b>         | 3,98  |       |       |       | 6,16  |       | 0,25  | 12,80 | 6,19  |
| <b>13:0 anteiso</b>     | 0,39  |       |       | 0,20  |       |       | 0,36  | 1,50  | 0,56  |
| <b>13:0</b>             |       | 0,07  | 0,70  |       |       |       |       |       |       |
| <b>12:0 2OH</b>         |       | 5,05  | 0,18  |       |       |       |       |       |       |
| <b>12:1 3OH</b>         |       | 0,08  |       |       |       |       |       |       |       |
| <b>12:0 3OH</b>         |       | 4,74  |       |       |       |       |       |       |       |
| <b>14:0 iso</b>         | 3,11  |       |       | 1,08  | 3,91  | 2,97  | 1,12  | 4,25  | 3,12  |
| <b>14:0</b>             | 2,34  | 0,27  | 7,22  | 0,24  | 3,08  | 2,35  | 0,42  | 4,63  | 3,60  |
| <b>15:1 iso w9c</b>     | 0,19  |       |       |       |       |       |       |       |       |
| <b>15:0 iso</b>         | 42,41 |       |       | 18,99 | 41,11 | 3,16  | 26,70 | 33,92 | 43,81 |
| <b>15:0 anteiso</b>     | 34,76 |       |       | 53,64 | 35,13 | 51,86 | 43,32 | 4,73  | 4,78  |
| <b>15:1 w8c</b>         |       | 0,03  | 0,14  |       |       |       |       |       |       |
| <b>15:1 w6c</b>         |       |       | 0,26  |       |       |       |       |       |       |
| <b>15:1 w5c</b>         |       |       |       |       |       |       |       | 0,35  |       |
| <b>16:1 w7c alcohol</b> | 0,44  |       |       | 0,64  |       | 1,38  | 0,44  | 1,04  | 0,33  |
| <b>16:0 N alcohol</b>   |       | 0,03  |       |       |       |       |       |       |       |
| <b>16:0 iso</b>         | 0,48  | 0,06  |       |       |       | 10,10 | 2,87  | 4,87  | 3,76  |
| <b>16:0 anteiso</b>     |       |       |       |       |       |       |       |       |       |
| <b>16:1 w11c</b>        | 0,87  |       |       |       | 1,24  | 6,06  | 0,75  | 0,59  | 0,32  |
| <b>16:1 w5c</b>         |       | 0,10  | 0,12  |       |       |       |       |       |       |
| <b>16:0</b>             | 1,64  | 23,19 | 28,31 | 1,46  | 1,44  | 10,59 | 2,56  | 2,93  | 4,07  |
| <b>15:0 iso 3OH</b>     |       |       | 0,24  |       |       |       |       |       |       |
| <b>15:0 2OH</b>         |       |       |       |       |       |       |       | 0,92  | 0,28  |
| <b>17:1 iso w10c</b>    | 0,81  |       |       | 1,17  |       | 0,36  | 1,06  | 3,41  | 1,77  |
| <b>17:1 iso w5c</b>     |       |       |       |       |       |       |       | 3,75  | 3,96  |
| <b>17:1 anteiso A</b>   |       |       |       |       |       |       |       | 0,78  | 0,90  |
| <b>17:0 iso</b>         | 0,72  | 0,11  |       | 4,33  |       | 1,06  | 9,03  | 3,78  | 7,67  |

Çizelge 4.7 Devamı

| FAME               | HV2  | HV12 | HV13 | HV14  | HV20 | HV25 | HV34 | HV43 | HV46 |
|--------------------|------|------|------|-------|------|------|------|------|------|
| 17:0 anteiso       | 0,52 |      |      | 13,02 |      | 5,25 | 9,99 | 0,63 | 1,04 |
| 17:1 w8c           |      | 0,17 | 0,34 |       |      |      |      |      |      |
| 17:0 cyclo         | 0,44 | 1,34 | 9,68 |       |      |      |      | 0,24 |      |
| 17:0               |      | 0,23 | 1,95 |       |      |      |      |      |      |
| 17:0 iso 3OH       |      |      |      |       |      |      | 0,13 | 0,09 |      |
| 17:0 2OH           |      |      |      | 0,29  |      |      |      |      |      |
| 17:0 3OH           |      |      |      |       |      |      |      | 0,11 |      |
| 16:0 3OH           |      | 0,03 | 0,13 |       |      |      |      |      |      |
| 18:0               | 0,42 | 0,51 | 0,64 |       |      | 0,51 | 0,17 |      | 0,46 |
| 18:1 w9c           | 2,28 |      | 0,91 |       | 1,89 | 3,18 |      | 0,23 | 2,02 |
| 18:1 w5c           |      | 0,04 |      |       |      |      |      |      |      |
| 18:1 w7c 11-methyl |      | 0,13 |      |       |      |      |      |      |      |
| 18:1 2OH           |      | 0,03 |      |       |      |      |      |      | 0,41 |
| 19:0 cyclo w8c     |      | 0,12 | 0,83 |       |      |      |      |      |      |
| 19:0               |      | 0,08 | 0,11 |       |      |      |      |      |      |
| 20:1 w7c           |      | 0,02 |      |       |      |      |      |      |      |
| 20:0               |      | 0,08 |      |       |      |      |      |      |      |
| 20:4 w6,9,12,15c   | 0,21 |      |      |       |      |      |      |      |      |

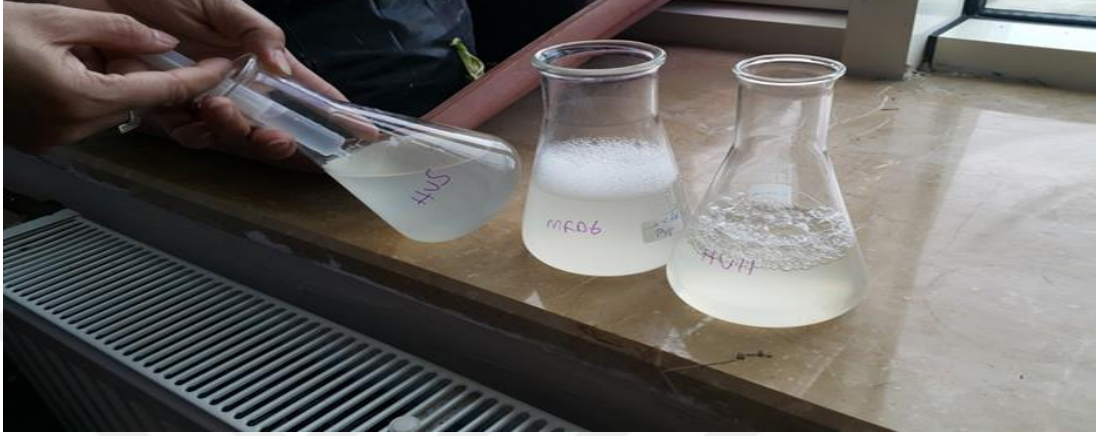
**HV2 ve HV20:** *Bacillus megaterium* GC subgroup A **HV12:** *Pseudomonas syringae* syringae  
**HV13:** *Kluyvera. intermedia* **HV14:** *B. Atrophaeus* **HV25:** *Paenibacillus. polymyxa* **HV34:** *B. Subtilis* **HV46:** *B.cereus* GC subgroup A

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde tuzlu, kumlu ve volkanik topraklardan izole edilen *Bacillus* strainleri için 15:0 iso ve 15:0 anteiso yağ asitlerinin belirleyici olduğu görülmüştür. Aynı zamanda bu yağ asitlerinin bakteri strainlerinde bulunma miktarlarının diğer yağ asitlerinden oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi

Referans kültür GG15 *Erwinia amylovora* inokulasyonundan 48-72 sa sonra, tütün yapraklarında enjekte edilen alanla sınırlı çökme ve su emmiş leke oluşturmuş, HR pozitif sonuç vermiştir. Test edilen bakteri strainlerinin hiç biri tütün yapraklarında

tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olmamış ve tüm strainler HR negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.5 ve 4.6). Bakteri strainlerinin tütünde aşırı duyarlılık sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.5 Tütünde HR testi için hazırlanan bakteri solüsyonları



Şekil 4.6 Bakteri süspansiyonunun tütün yaprağının alt yüzüne enjektörle infiltre edilmesi

#### 4.4. Bakteri Strainlerinin Koloni Morfolojisinin Belirlenmesi ve Biyokimyasal Testlerle Tanısı

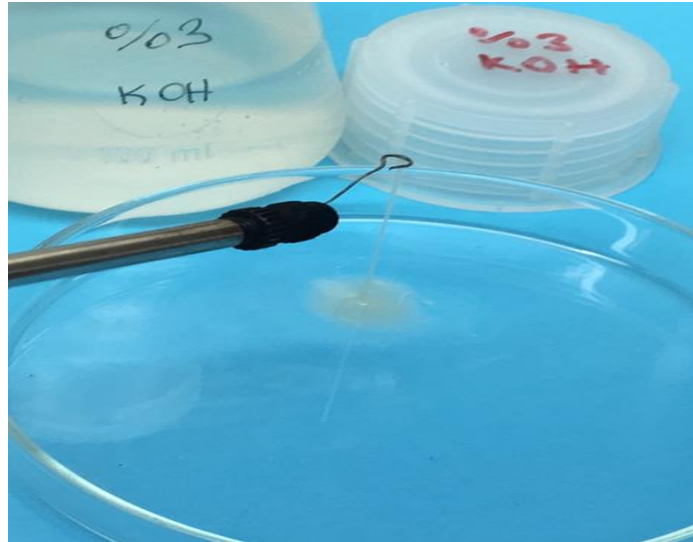
##### 4.4.1. Koloni morfolojisi

İzole edilen bakteri strainlerinden *in vitro* denemede patojene karşı etkinliği belirlenmiş olanların YDC besiyeri üzerinde koloni renkleri tespit edilmiştir. YDC besiyerine bakterilerin ekiminden 48 saat sonra *Bacillus megaterium* türü bakterilerin

krem renkli *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Paenibacillus polymyxa* ve *Paenibacillus validus* türlerinin beyaz, *Pseudomonas syringae syringae* türünün krem, *Kluyvera intermedia* türlerinin beyaz / mukoid, *Bacillus atrophaeus* türü bakterilerin ise açık kahve renginde koloniler oluşturduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

#### 4.4.2. Gram reaksiyon testi

Tuzlu toprak örneklerinden elde edilen *Bacillus*, *Gardonia*, *Microbacterium* ve *Brevibacillus* cinslerine ait 18 bakterinin gram pozitif özellikte olduğu tespit edilmiştir. Volkanik topraklardan elde edilen 35 bakteriden *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Kluyvera*, *Chryseobacterium*, *Sphingobacterium*, *Empedobacter* cinslerine ait 13 türün gram negatif, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Kocuria*, *Paenibacillus* ve *Brevibacillus* cinsine ait 22 türün ise gram pozitif karakterde olduğu saptanmıştır. Kumlu topraklardan izole edilen bakterilerin hücre duvarlarındaki farklılık değerlendirildiğinde 30 bakteriden 4 tanesinin (*Pseudomonas*, *Raoultella*, *Chryseobacterium*) gram negatif, 26 bakteri türünün ise gram pozitif özellikte olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.8. ve Şekil 4.7). Karşılaştırma kültürü olarak kullanılan MFD 232 *Pantoea agglomerans* türü özeye yapışarak uzayan bir yapı gösterdiğinden gram negatif olarak değerlendirilmiştir. Diğer referans kültür MFD 351 *Curtobacterium flaccumfaciens* subsp. *flaccumfaciens* straini ise KOH çözeltilisinde çözünmediğinden gram pozitif olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.7 Gram reaksiyon testinde gram negatif strainlerin oluşturduğu ipliksi uzama



#### 4.4.3. Katalaz testi

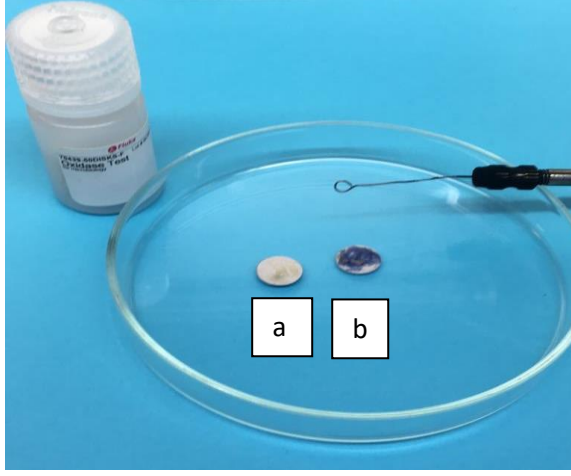
Katalaz enziminin varlığını belirlemek için yapılan test sonucunda birkaç sn içerisinde gaz kabarcıkları oluşturan HV12, HV13, HV14, HV20, HV34, HV43, HK2, HK7, HK8, HK13, HK17, HK32, HT19, HT21, HT26, HT30 strainleri ve referans kültür MFD 135 *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* straini katalaz pozitif olarak kabul edilmiştir. Strainlerden HV2 ve HK3'ün kabarcık oluşturmayarak negatif sonuç verdiği HV25 ve HV46'nın ise daha uzun sürede ve az sayıda kabarcık oluşturarak zayıf pozitif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8 ).



Şekil 4.8 HV13 straininin katalaz testi sonucunda gaz kabarcığı oluşması

#### 4.4.4. Oksidaz testi

Sitokrom oksidaz enzimini üreten bakterileri ayırt etmek için yapılan bu testte HV2, HK3, HK8 strainleri ve referans kültür MFD 480 *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* straini diskte hiçbir renk değişimi meydana getirmediğinden oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir. Diğer bakteri strainleri ise yaklaşık 1 dk içerisinde diskte mor renk oluşturmuş ve sonuç oksidaz pozitif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.9 ).



Şekil 4.9 Oksidaz test sonucu ( a: Negatif, b: Pozitif)

#### 4.4.5. Nişasta hidrolizi

Nutrient agar ve nişasta içeren besiyerinde geliştirilen HK7, HK17, HK32, HT21, HT26, HT30 strainleri ve karşılaştırma kültürü MFD 481 *Xanthomonas campestris phaseoli fuscans* üzerine lügol solüsyonu döküldüğünde koloni çevresinde belirgin parlak bir alan oluştuğundan nişastayı hidroliz edebilme özellikleri pozitif olarak belirlenmiştir. HV2, HV12, HV13, HV14, HV20, HV25, HV34, HV43, HK3, HK8, HK13, HT19 strainlerinin ekim çizgileri etrafında açık renk hale oluşumu gözlemlenmemiş ve sonuç amilaz negatif olarak kaydedilmiştir. HV46 ve HK2 strainlerinin ekim çizgileri etrafında ise zayıf açık renk hale oluşumu gözlenmiş ve sonuç zayıf pozitif olarak alınmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Nişasta hidrolizi sonucu meydana gelen açık renk hale oluşumu (HT 30)

#### 4.4.6. Levan (Fructan) testi

Nutrient agar + Sukroz içeren besiyerine ekimi yapılan HV34, HK13, HT21, HT26 strainleri ve karşılaştırma kültürü GG3 *Erwinia amylovora* levan tipte (konveks ve mukoid yapıda) koloniler oluşturarak gelişmiş ve bu gelişim şekli pozitif olarak kaydedilmiştir. HV2, HV12, HV20, HV25 HV43, HV6, HK2, HK3, HK7, HK8, HK17, HK32, HT19, HT21 ve HT30 strainleri besiyerinde levan tipte koloni gelişimi göstermemiştir. HV13 ve HV14 strainlerinin NAS besiyerindeki koloni gelişimi ise zayıf pozitif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.11).



Şekil 4.11 Levan koloni oluşumu (HT 21)

**Çizelge 4.8** *In vitro* koşullarda *R.solani* gelişimi üzerine antagonistik etki gösteren bakteri strainlerinin test sonuçları

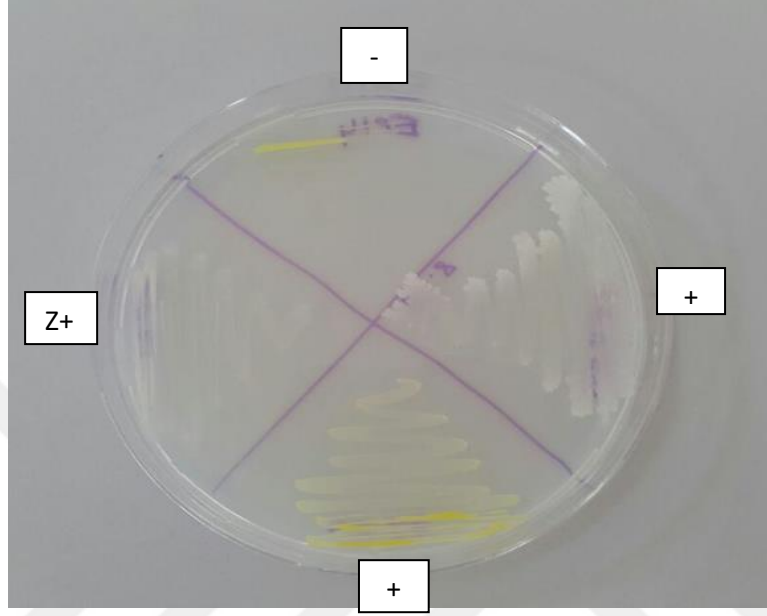
| SN   | MIS Tanı Sonucu                            | G | K              | O | L              | A              | T | KR                 |
|------|--|---|----------------|---|----------------|----------------|---|--------------------|
| HV2  | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>   | + | -              | - | -              | -              | - | Krem               |
| HV12 | <i>Pseudomonas syringae syringae</i>       | - | K <sup>+</sup> | + | -              | -              | - | Krem               |
| HV13 | <i>Kluyvera intermedia</i>                 | - | K <sup>+</sup> | + | Z <sup>+</sup> | -              | - | Beyaz,<br>mukoid   |
| HV14 | <i>Bacillus atrophaeus</i>                 | + | +              | + | Z <sup>+</sup> | -              | - | Açık<br>kahverengi |
| HV20 | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>   | + | +              | + | -              | -              | - | Beyaz              |
| HV25 | <i>Paenibacillus polymyxa</i>              | + | Z <sup>+</sup> | + | -              | -              | - | Beyaz              |
| HV34 | <i>Bacillus subtilis</i>                   | + | +              | + | K <sup>+</sup> | -              | - | Beyaz              |
| HV43 | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>  | + | +              | + | -              | -              | - | Beyaz              |
| HV46 | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>       | + | Z <sup>+</sup> | + | -              | Z <sup>+</sup> | - | Beyaz              |
| HK2  | <i>Bacillu subtilis</i>                    | + | +              | + | -              | Z <sup>+</sup> | - | Beyaz              |
| HK3  | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>   | + | -              | - | -              | -              | - | Krem               |
| HK7  | <i>Bacillus cereusGC subgroup A</i>        | + | +              | + | -              | +              | - | Beyaz              |
| HK8  | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>   | + | K <sup>+</sup> | - | -              | -              | - | Krem               |
| HK13 | <i>Bacillus licheniformis</i>              | + | +              | + | +              | -              | - | Krem               |
| HK17 | <i>Panibacillus validus</i>                | + | +              | + | -              | +              | - | Beyaz              |
| HK32 | <i>Bacillus GC group 22</i>                | + | +              | + | -              | +              | - | Krem               |
| HT19 | <i>Bacillus thuringiensis- israelensis</i> | + | +              | + | -              | -              | - | Beyaz              |
| HT21 | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>       | + | +              | + | +              | +              | - | Beyaz              |
| HT26 | <i>Bacillus atrophaeus</i>                 | + | +              | + | +              | +              | - | Açık kahve         |
| HT30 | <i>Bacillus subtilis</i>                   | + | +              | + | -              | +              | - | Beyaz              |

SN: Strain No, G: Gram reaksiyon testi, K:Katalaz testi, O: Oksidaz testi, L: Levan testi, A: Amilaz testi, T: Tütünde aşırı duyarlılık testi, KR: YDC besi yerinde koloni rengi, K<sup>+</sup>: Kuvvetli pozitif sonuç, Z<sup>+</sup>: Zayıf pozitif sonuç, +: Pozitif sonuç, -: Negatif sonuç

#### 4.5. Bakteri Strainlerin Azot Fiksasyon Özelliğinin Belirlenmesi

İzolasyon sonrası elde edilen 83 bakterinin azot fikse etme özelliği N-Free Solid Malate-Sucrose ortamında strainlerin gelişme durumuna göre belirlenmiştir. Tuzlu topraklardan izole edilen 18 strainin hepsinin besi yerinde geliştiği görülmüş ve azot fikse etme yetenekleri pozitif olarak değerlendirilmiştir. Volkanik özellikteki topraklardan elde edilen 35 strainden HV31 hariç bütün bakterilerin azot fikse etme

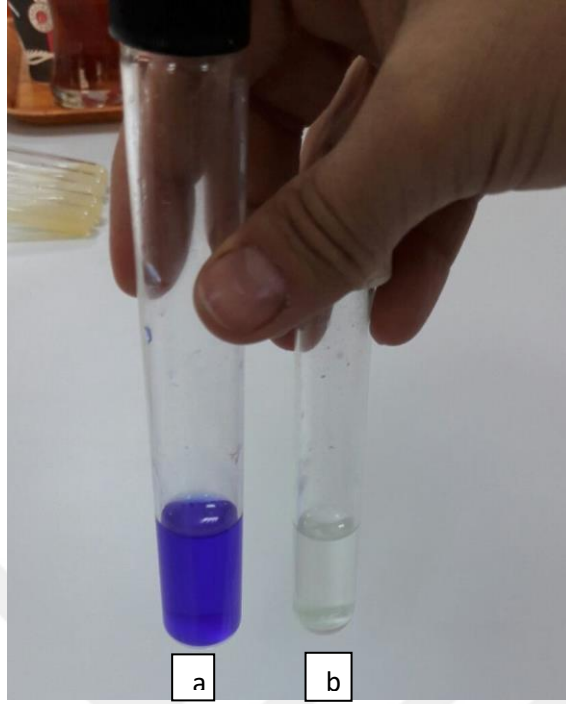
özelliğinin pozitif olduğu tespit edilmiştir. HK21, HK22 ve HK23 strainleri hariç kumlu topraklardan izole edilen bakterilerin hepsinin besi yerinde geliştiği ve azot fikse etme yeteneklerinin pozitif olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.12 )



**Şekil 4.12** Bakteri strainlerininN-Free Solid Malate-Sucrose ortamında gelişmesi

#### **4.6. Bakteri Strainlerinin Fosfor Çözme Özelliğinin Belirlenmesi**

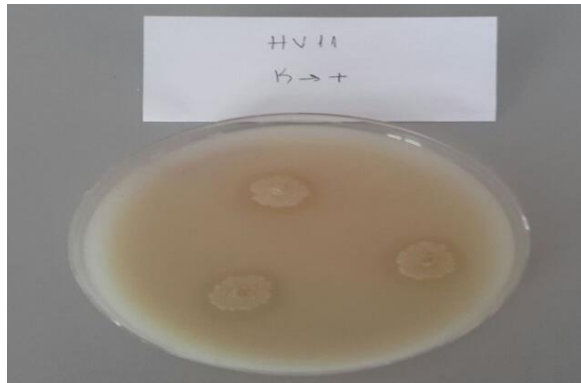
Strainlerin fosfor çözme özellikleri NBRIP-BPB sıvı besi yerindeki renk değişimine göre değerlendirilmiştir. 83 strainden 21 tanesinin (HT1, HT7, HT12, HT13, HT17, HT19, HT20, HT24, HT30, HV2, HV8, HV9, HV13, HV14, HV16, HV20, HV22, HV23, HV36, HV39, HV41) kontrolle kıyaslandığında besi yerinde renk açılmasına neden olmadığı görülmüş ve sonuç negatif olarak kabul edilmiştir. Geri kalan 62 strainin ise besiyerinde renk açılması meydana getirdiği ve buna bağlı olarak fosfor çözme özelliklerinin pozitif olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.13).



**Şekil 4.13** NBRIP-BPB besiyerinde kontrol (a) ve HV43'ün meydana getirdiği renk açılması

#### **4.7. Bakteri Strainlerin Potasyum Çözebilme Özelliğinin Belirlenmesi**

Bakteri strainlerinin potasyum çözebilme özelliği Aleksandrow katı besiyerinde gelişiminin etrafında oluşan zonun varlığıyla belirlenmiştir. Strainlerden sadece HV11'in besiyerinde zon oluşturduğu gözlenmiş, sonuç pozitif olarak değerlendirilmiştir. Diğer 82 strainin potasyum çözme özelliğinin negatif olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.14).



**Şekil 4.14** Aleksandrow besiyerinde pozitif sonuç

**Çizelge 4.9** Bakteri strainlerinin azot fikse etme, fosfor ve potasyumu çözme özellikleri

| SIRA NO | STRAIN NO | MIS TANI SONUCU                              | A  | F   | P |
|---------|-----------|--|----|-----|---|
| 1       | HT1       | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A     | +  | -   | - |
| 2       | HT4       | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | K+ | K+  | - |
| 3       | HT5       | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A     | +  | +   | - |
| 4       | HT6       | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | +  | K+  | - |
| 5       | HT7       | <i>Brevibacillus choshinensis</i>            | K+ | -   | - |
| 6       | HT12      | <i>Bacillus pumilus</i>                      | Z+ | -   | - |
| 7       | HT13      | <i>Gardonia rubriperticta</i> GC subgroup A  | +  | -   | - |
| 8       | HT14      | <i>Microbacterium lacticum</i> GC subgroup B | +  | K+  | - |
| 9       | HT16      | <i>Bacillus licheniformis</i>                | K+ | Z+  | - |
| 10      | HT17      | <i>Brevibacillus reuszeri</i>                | K+ | -   | - |
| 11      | HT19      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i>    | Z+ | -   | - |
| 12      | HT20      | <i>Virgibacillus pantotheticus</i>           | K+ | -   | - |
| 13      | HT21      | <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A         | Z+ | +   | - |
| 14      | HT24      | <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup A        | K+ | -   | - |
| 15      | HT25      | <i>Bacillus filicolonicus</i>                | K+ | Z+  | - |
| 16      | HT26      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | K+ | Z+  | - |
| 17      | HT30      | <i>Bacillus subtilis</i>                     | K+ | Z+  | - |
| 18      | HT33      | <i>Paenibacillus alvei</i> GC-subgroup A     | +  | Z+  | - |
| 19      | HV1       | <i>Micrococcus luteus</i> GC subgroup B      | K+ | K+  | - |
| 20      | HV2       | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A     | K+ | Z+  | - |
| 21      | HV3       | <i>Bacillus pumilus</i> GC subgroup B        | K+ | Z++ | - |
| 22      | HV5       | <i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype A     | K+ | K+  | - |
| 23      | HV8       | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A     | K+ | -   | - |
| 24      | HV9       | <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup-A         | K+ | -   | - |
| 25      | HV11      | <i>Bacillus</i> GC group 22                  | K+ | K+  | + |
| 26      | HV12      | <i>Pseudomonas syringae</i> <i>syringae</i>  | K+ | K+  | - |
| 27      | HV13      | <i>Kluyvera intermedia</i>                   | K+ | -   | - |
| 28      | HV14      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | K+ | -   | - |
| 29      | HV15      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                   | K+ | +   | - |
| 30      | HV16      | <i>Pseudomonas stutzeri</i>                  | K+ | -   | - |

**Çizelge 4.9** Devamı

| SIRA NO | STRAIN NO | MIS TANI SONUCU                           | A  | F   | P |
|---------|-----------|---|----|-----|---|
| 31      | HV17      | <i>Chryseobacterium indoltheticum</i>     | Z+ | Z+  | - |
| 32      | HV20      | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A  | K+ | -   | - |
| 33      | HV21      | <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup-A      | K+ | +   | - |
| 34      | HV22      | <i>Kocuria rosea</i>                      | K+ | -   | - |
| 35      | HV23      | <i>Brevibacillus chosinensis</i>          | K+ | -   | - |
| 36      | HV24      | <i>Pseudomonas putida</i> biotype A       | K+ | +   | - |
| 37      | HV25      | <i>Paenibacillus polymyxa</i>             | K+ | Z++ | - |
| 38      | HV26      | <i>Kocuria rosea</i> GC subgroup A        | +  | K+  | - |
| 39      | HV27      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | Z+ | Z+  | - |
| 40      | HV28      | <i>Brevibacillus centrosporus</i>         | Z+ | Z++ | - |
| 41      | HV29      | <i>Sphingobacterium faecium</i>           | K+ | Z+  | - |
| 42      | HV30      | <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>      | K+ | Z++ | - |
| 43      | HV31      | <i>Atrobacter globiformis</i> GC- Group-B | -  | +   | - |
| 44      | HV32      | <i>Empedobacter brevis</i>                | +  | Z+  | - |
| 45      | HV33      | <i>Sphingobacterium faecium</i>           | K+ | +   | - |
| 46      | HV34      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | K+ | +   | - |
| 47      | HV35      | <i>Pseudomonas fluorescens</i> biotype A  | K+ | +   | - |
| 48      | HV36      | <i>Micrococcus lylac</i> GC subgroup A    | K+ | -   | - |
| 49      | HV39      | <i>Pseudomonas balearica</i>              | K+ | -   | - |
| 50      | HV41      | <i>Brevibacillus centrosporus</i>         | K+ | -   | - |
| 51      | HV42      | <i>Bacillus</i> GC group 22               | K+ | K+  | - |
| 52      | HV43      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | K+ | +   | - |
| 53      | HV46      | <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A      | K+ | +   | - |
| 54      | HK2       | <i>Bacillus subtilis</i>                  | +  | -   | - |
| 55      | HK3       | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A  | +  | -   | - |
| 56      | HK5       | <i>Pseudomonas stutzeri</i>               | K+ | K+  | - |
| 57      | HK7       | <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A      | K+ | Z+  | - |
| 58      | HK8       | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A  | +  | +   | - |
| 59      | HK9       | <i>Sporosarcina psychrophila</i>          | +  | -   | - |



Çizelge 4.9 Devamı

| SIRA NO | STRAIN NO | MIS TANI SONUCU                          | A  | F   | P |
|---------|-----------|--|----|-----|---|
| 60      | HK10      | <i>Bacillus subtilis</i>                 | K+ | K+  | - |
| 61      | HK11      | <i>Bacillus cereus</i> GC subgroup A     | K+ | Z++ | - |
| 62      | HK12      | <i>Pseudomonas stutzeri</i>              | K+ | K+  | - |
| 63      | HK13      | <i>Bacillus licheniformis</i>            | K+ | -   | - |
| 64      | HK14      | <i>Arthrobacter aurescens</i>            | +  | Z+  | - |
| 65      | HK15      | <i>Raoultella terrigena</i>              | K+ | -   | - |
| 66      | HK16      | <i>Bacillus megaterium</i>               | Z+ | Z+  | - |
| 67      | HK17      | <i>Panibacillus validus</i>              | Z+ | Z+  | - |
| 68      | HK18      | <i>Chryseobacterium indologenes</i>      | Z+ | Z++ | - |
| 69      | HK19      | <i>Chryseobacterium indoltheticum</i>    | +  | +   | - |
| 70      | HK20      | <i>Kurthia gibsonii</i>                  | Z+ | Z+  | - |
| 71      | HK21      | <i>Flavimonas oryzihabitans</i>          | -  | -   | - |
| 72      | HK22      | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A | -  | -   | - |
| 73      | HK23      | <i>Cellulomonas fimi</i> GC subgroup A   | -  | K+  | - |
| 74      | HK24      | <i>Bacillus niacini</i>                  | +  | Z+  | - |
| 75      | HK27      | <i>Sporosarcina psychrophila</i>         | +  | Z+  | - |
| 76      | HK28      | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A | Z+ | -   | - |
| 77      | HK29      | <i>Bacillus megaterium</i> GC subgroup A | K+ | K+  | - |
| 78      | HK30      | <i>Kocuria varians</i> GC subgroup C     | +  | Z+  | - |
| 79      | HK32      | <i>Bacillus subtilis</i>                 | K+ | -   | - |
| 80      | HK34      | <i>Brevibacillus reuszeri</i>            | K+ | Z++ | - |
| 81      | HK37      | <i>Bacillus viscosus</i>                 | K+ | Z+  | - |
| 82      | HK38      | <i>Bacillus viscosus</i>                 | K+ | Z+  | - |
| 83      | HK41      | <i>Bacillus viscosus</i>                 | K+ | -   | - |

**A:** Azot fikse etme özelliği, **F:** Fosfor çözme özelliği, **P:** Potasyum çözme özellikleri

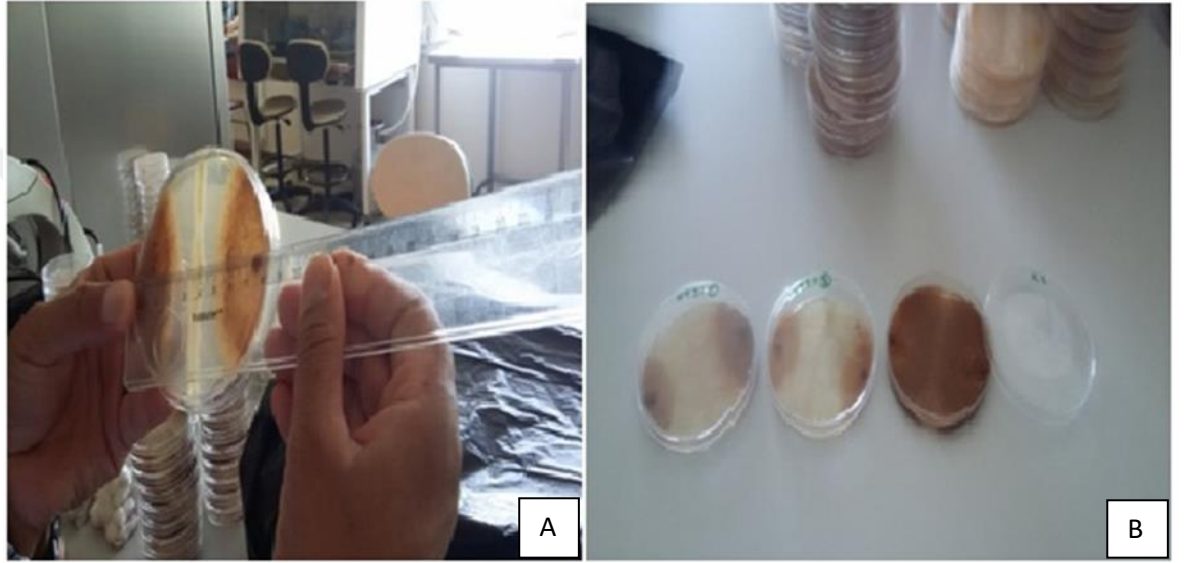
#### 4.8. Bakteri Strainlerinin *In vitro* Koşullarda *R. solani* İzolatlarına Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi

Bakteri strainlerinin patojeni *in vitro* koşullarda engelleme düzeylerinin tespiti ikili kültür testleri ile belirlenmiştir. Petri deneme sonuçlarına göre bakteri strainlerinin *R. solani*'nin B-1, B-227 ve Rs-pat izolatlarına karşı oluşturduğu engelleme zonu (cm) ve % engelleme oranı değerleri çizelge 4,10, 4,12 ve 4,14'de verilmiştir. Bakteri uygulamalarının patojen izolatlarına etkileri incelendiğinde; elde edilen 83 adet bakteri straininden B-1'e karşı 11, B-227'ye karşı 12 ve Rs-pat'a karşı 17 bakteri straininin etki gösterdiği tespit edilmiştir. Geriye kalan bakteri strainlerinin *in vitro* şartlarda fungal etmenin misel gelişimini engellemede başarılı olmadıkları tespit edilmiştir. Yapılan gözlemlerde biyokontrol etkinin bulunmadığı petrilerde fungal hastalık etmeninin misellerinin bakterilerin çizgi şeklinde geliştiği noktaları geçmiş olduğu görülmüştür. Bakteri strainlerinden HV20, HV43, HT19, HT21, HT30, HK3 ve HK 13 strainlerinin *R. solani*'nin üç izolatına, HV25'in B-1 ve B-227 izolatlarına, HV2'nin B-227 ve Rs-pat izolatlarına, HV46 ve HK8'in ise B-1 ve Rs-pat izolatlarına karşı antagonistik etki gösterdiği görülmüştür. Strainler içerisinde HV21, HV34, HK2, HK7, HK17 ve HK32'nin sadece Rs-pat'ın, HV12, HV13 ve HV14'ün ise sadece B-227 izolatının gelişimini engellemede etkili olduğu bulunmuştur.

Petri denemesinde antifungal özellikleri test edilen bakterilerin oluşturdukları engelleme zonları değerlendirildiğinde Rs-pat izolatına karşı oluşan engelleme zonu değerlerinin 0,2 – 2,4 cm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Patojene karşı en yüksek engelleme zonunu 2,4 cm ile HV43 bakterisinin oluşturduğu görülmüştür. Bu değeri sırasıyla 2,1 cm engelleme zonu ile HT30 ve 1,5 cm zon ile HT26 straini takip etmiştir. Sonuçlar B-1 izolatı açısından değerlendirildiğinde inhibisyon zonu değerlerinin 0,1 – 1,4 cm arasında olduğu, B-227 izolatı için ise bu değerlerin 0,2 – 1 cm arasında yer aldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.15 A, B).

Bakteri uygulamalarının Rs-pat izolatına etkisi incelendiğinde HV43'ün %66, HT30'un %63 ve HT26'nın %54 oranında hastalığı engelleyerek en yüksek etkiyi oluşturdukları belirlenmiştir. Uygulamaların B-227'ye etkisi değerlendirildiğinde en yüksek etki %53 oranla HV43 straininden elde edilmiştir. Bu oranı %50 ile HT30 ve %48 engelleme oranı ile HT26 straini takip etmiştir. B-1 izolatı açısından bakteri

strainerinin başarısı değerlendirildiğinde ise %55 engelleme oranı ile HV43'ün etkili olduğu bulunmuştur. %50 engelleme oranı ile HT30 ikinci sırada etki gösteren bakteri straini olmuştur. Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde her 3 fungus izolatu üzerinde en yüksek etki %55-66 engelleme oranı ile HV43 straininden alınmıştır. Bu değeri %50-63 engelleme oranı ile HT30 ve %38-54 oran ile HT26'nın takip ettiği görülmüştür (Çizelge 4.10,4.12 ve 4.14).



**Şekil 4.15 A.** Aday PGPR strainlerinin patojene karşı oluşturduğu inhibisyon zonunun ölçülmesi **B.** HT 30 straininin patojenin Rs-pat izolatına karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

İstatistiki analizler bakteri strainerinin *R. solani* izolatlarına karşı oluşturduğu engelleme zonlarına göre yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde SPSS paket istatistik programı (Versiyon 17) kullanılarak varyans analizi yapılmış, Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre aynı harfi taşıyan uygulamalar  $p \leq 0.01$  olasılıkla birbirinden farksız bulunmuştur.

**Çizelge 4.10** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin B-1 izolatına karşı oluşturduğu zon, çap ve % engelleme oranları

| <b>B – 1</b>     |                       |                       |                    |
|------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| <b>Strain No</b> | <b>Ortalama (Zon)</b> | <b>Ortalama (Çap)</b> | <b>% Engelleme</b> |
| <b>HV-20</b>     | 0,4                   | 3                     | 25                 |
| <b>HV-25</b>     | 0,3                   | 2,7                   | 33                 |
| <b>HV-43</b>     | 1,4                   | 1,8                   | 55                 |
| <b>HV-46</b>     | 0,1                   | 3,1                   | 23                 |
| <b>HK-3</b>      | 0,9                   | 2,4                   | 40                 |
| <b>HK-8</b>      | 0,7                   | 2,6                   | 35                 |
| <b>HK-13</b>     | 0,7                   | 2,6                   | 35                 |
| <b>HT-19</b>     | 0,4                   | 2,6                   | 35                 |
| <b>HT-21</b>     | 0,6                   | 2,4                   | 40                 |
| <b>HT-26</b>     | 0,5                   | 2,5                   | 38                 |
| <b>HT-30</b>     | 1,4                   | 2                     | 50                 |
| <b>KONTROL</b>   | 0                     | 4                     |                    |

**Çizelge 4.11** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin B-1 izolatının misel gelişimi üzerine etkisi

| <b>B – 1</b>      |   |                       |                        |
|-------------------|---|-----------------------|------------------------|
| <b>Strain No</b>  | <b>Mıs Tanı Sonucu</b>                    | <b>Engelleme Zonu</b> | <b>Engelleme Oranı</b> |
| <b>HV-43</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 1,80 f                | 55,37 a                |
| <b>HT-30</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 1,97 f                | 51,20 a                |
| <b>HK-3</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,37 e                | 41,33 b                |
| <b>HT-21</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 2,43 de               | 39,67 bc               |
| <b>HT-26</b>      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 2,47 de               | 38,83 bc               |
| <b>HK-13</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 2,60 de               | 35,50 bc               |
| <b>HT-19</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 2,60 de               | 35,50 bc               |
| <b>HK-8</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,63 de               | 34,73 bc               |
| <b>HV-25</b>      | <i>Paenibacillus polymyxa</i>             | 2,70 cd               | 33,03 cd               |
| <b>HV-20</b>      | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,93 bc               | 27,33 de               |
| <b>HV-46</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 3,10 b                | 23,10 e                |
| <b>KONTROL(+)</b> |   | 4,03 a                | ,000 f                 |

\*Değerler 3 tekerrür ortalamasıdır.

\*\*Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur ( $p \leq 0.01$ )

**Çizelge 4.12** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin B-227 izolatına karşı oluşturduğu zon, çap ve % engelleme oranları

| <b>B – 227</b>   |                       |                       |                    |
|------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| <b>Strain No</b> | <b>Ortalama (Zon)</b> | <b>Ortalama (Çap)</b> | <b>% Engelleme</b> |
| <b>HV-2</b>      | 0,5                   | 2,2                   | 45                 |
| <b>HV-12</b>     | 0,4                   | 2,9                   | 28                 |
| <b>HV-13</b>     | 0,2                   | 2,9                   | 28                 |
| <b>HV-14</b>     | 0,2                   | 3                     | 25                 |
| <b>HV-20</b>     | 0,3                   | 3                     | 25                 |
| <b>HV-25</b>     | 0,2                   | 3,1                   | 23                 |
| <b>HV-43</b>     | 0,7                   | 1,9                   | 53                 |
| <b>HT-19</b>     | 0,3                   | 2,8                   | 30                 |
| <b>HT-21</b>     | 1                     | 2,4                   | 40                 |
| <b>HT-26</b>     | 0,8                   | 2,1                   | 48                 |
| <b>HT-30</b>     | 0,9                   | 2                     | 50                 |
| <b>HK-3</b>      | 0,4                   | 2,6                   | 35                 |
| <b>HK-13</b>     | 0,4                   | 2,6                   | 35                 |
| <b>KONROL</b>    | 0                     | 4                     |                    |

**Çizelge 4.13** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin B-227 izolatının misel gelişimi üzerine etkisi

| <b>B – 227</b>    |   |                       |                        |
|-------------------|---|-----------------------|------------------------|
| <b>Strain No</b>  | <b>Mıs Tanı Sonucu</b>                    | <b>Engelleme Zonu</b> | <b>Engelleme Oranı</b> |
| <b>HV-25</b>      | <i>Paenibacillus polomyxa</i>             | 3,07 b                | 23,93 h                |
| <b>HV-14</b>      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 3,03 b                | 24,77 h                |
| <b>HV-20</b>      | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,97 b                | 26,43 gh               |
| <b>HV-13</b>      | <i>Kluyvera intermedia</i>                | 2,87 bc               | 29,17 efgh             |
| <b>HV-12</b>      | <i>Pseudomonas syringae pv. Syringae</i>  | 2,87 bc               | 28,90 fgh              |
| <b>HT-19</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 2,77 bc               | 31,67 efg              |
| <b>HK-13</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 2,60 cd               | 34,70 def              |
| <b>HK-3</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,57 cd               | 35,57 de               |
| <b>HT-21</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 2,40 de               | 40,47 cd               |
| <b>HV-2</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,20 ef               | 45,47 bc               |
| <b>HT-26</b>      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 2,07 f                | 48,83 ab               |
| <b>HT-30</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 2,00 f                | 50,40 ab               |
| <b>HV-43</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 1,90 f                | 52,90 a                |
| <b>KONTROL(+)</b> |   | 4,03 a                | ,0000 h                |

\*Değerler 3 tekerrür ortalamasıdır.

\*\*Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur ( $p \leq 0.01$ )

**Çizelge 4.14** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin Rs-pat izolatına karşı oluşturduğu zon, çap ve % engelleme oranları

| <b>Rs-pat</b>    |                       |                       |                    |
|------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|
| <b>Strain No</b> | <b>Ortalama (Zon)</b> | <b>Ortalama (Çap)</b> | <b>% Engelleme</b> |
| <b>HK-2</b>      | 0,3                   | 3                     | 27                 |
| <b>HK-3</b>      | 0,8                   | 2,5                   | 39                 |
| <b>HK-7</b>      | 0,2                   | 3,1                   | 24                 |
| <b>HK-8</b>      | 0,9                   | 2,6                   | 32                 |
| <b>HK-13</b>     | 0,7                   | 2,8                   | 32                 |
| <b>HK-17</b>     | 0,3                   | 3,2                   | 22                 |
| <b>HK-32</b>     | 0,2                   | 3,1                   | 24                 |
| <b>HV-2</b>      | 0,9                   | 2,9                   | 29                 |
| <b>HV-20</b>     | 0,5                   | 2,8                   | 32                 |
| <b>HV-21</b>     | 0,4                   | 2,9                   | 29                 |
| <b>HV-34</b>     | 0,3                   | 2,5                   | 39                 |
| <b>HV-43</b>     | 2,4                   | 1,4                   | 66                 |
| <b>HV-46</b>     | 0,2                   | 3,3                   | 20                 |
| <b>HT-19</b>     | 0,6                   | 2,4                   | 41                 |
| <b>HT-21</b>     | 1                     | 2,4                   | 41                 |
| <b>HT-26</b>     | 1,5                   | 1,9                   | 54                 |
| <b>HT-30</b>     | 2,1                   | 1,5                   | 63                 |
| <b>KONTROL</b>   | 0                     | 4,1                   |                    |



**Çizelge 4.15** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin Rs-pat izolatının misel gelişimi üzerine etkisi

| <b>Rs-Pat</b>     |   |                       |                        |
|-------------------|---|-----------------------|------------------------|
| <b>Strain No</b>  | <b>Mıs tanı sonucu</b>                    | <b>Engelleme Zonu</b> | <b>Engelleme Oranı</b> |
| <b>HV-46</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 3,33 b                | 18,00 g                |
| <b>HK-17</b>      | <i>Panibacillus validus</i>               | 3,23 bc               | 20,50 fg               |
| <b>HK-32</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 3,10 bcd              | 24,00 efg              |
| <b>HK-7</b>       | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 3,07 bcd              | 24,77 efg              |
| <b>HK-2</b>       | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 3,00 bcd              | 26,40 efg              |
| <b>HV-21</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 2,90 cde              | 28,63 def              |
| <b>HV-2</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,87 def              | 29,47 def              |
| <b>HV-20</b>      | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,77 defg             | 31,87 cde              |
| <b>HK-13</b>      | <i>Kluyvera intermedia</i>                | 2,77 defg             | 31,97 cde              |
| <b>HK-8</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,57 efgh             | 36,83 cd               |
| <b>HV-34</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 2,53 fgh              | 37,67 cd               |
| <b>HK-3</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 2,53 fgh              | 37,70 cd               |
| <b>HT-19</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 2,43 gh               | 40,17 c                |
| <b>HT-21</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 2,40 h                | 41,00 c                |
| <b>HT-26</b>      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 1,87 ı                | 54,10 b                |
| <b>HT-30</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 1,47 j                | 63,97 a                |
| <b>HV-43</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 1,43 j                | 64,70 a                |
| <b>KONTROL(+)</b> |   | 4,07 a                | ,0000 h                |

\*Değerler 3 tekerrür ortalamasıdır.

\*\*Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur ( $p \leq 0.01$ )

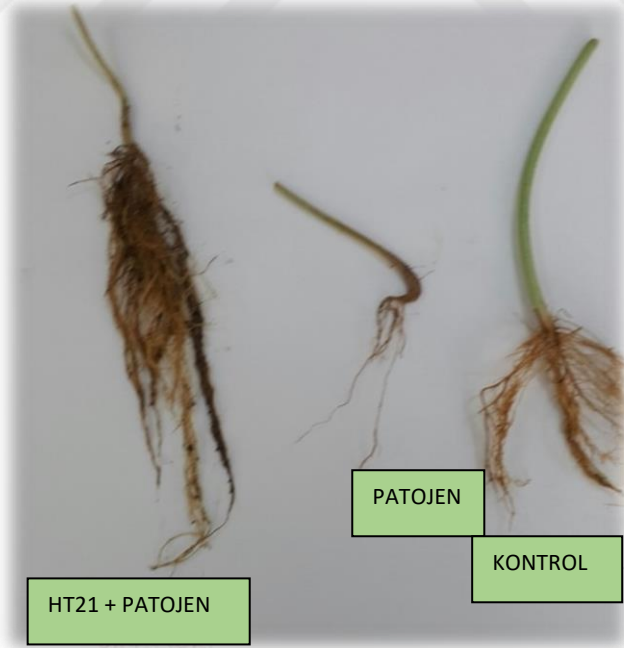
#### **4.9. Bakteri Strainlerinin *In Vivo* Koşullarda *R. solani* İzolatlarına Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi**

*In vivo* test sonuçları fasulye bitkisinin köklerinde meydana gelen hastalık simptomsunun 0-4 skalasına göre değerlendirilmesi sonucu elde edilmiştir. Patojen inokule edilmiş pozitif kontrol uygulamasında yer alan bitkilerde hastalık simptomsu gözlenmiş ve ortalama hastalık şiddeti indeksi %93,7 olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol grubunda bulunan bitkilerde ise hastalık simptomsu görülmemiştir. Bakteri uygulamalarının B-227 izolatına etkisi incelendiğinde HT21, HT30 ve HV43 strainlerinin %100 oranında hastalığı engelleyerek en yüksek etkiyi oluşturdukları görülmüştür. Hastalık gelişimini başarılı bir şekilde baskıladıkları tespit edilen HV2, HT26, HV25 ve HV20 strainlerinin ise sırasıyla %91,1, %84,4, %66,7 ve %40 engelleme oranlarına sahip oldukları belirlenmiştir. HK13, HT19, HV12, HV14 ve HK3'ün ise %11 ile %33,2 arasında değişen oranlarda patojen gelişimini baskıladığı tespit edilmiştir. Strainler içerisinde HV13'ün %93,7 hastalık şiddeti ile pozitif kontrol ile aynı grupta yer aldığı ve hastalık gelişimini engellemede başarılı olamadığı görülmüştür. (Şekil 4.16, 4.17 ve Çizelge 4.16)

İstatistiksel analizler  $p \leq 0.01$  önem derecesine göre yapılmıştır. Tekerrürlerde saptanan ortalama hastalık şiddeti ve % etki değerlerine SPSS paket istatistik programı (Versiyon 17) kullanılarak varyans analizi yapılmıştır. Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre farklı harfler istatistiksel olarak önemli bulunan bakteri uygulamalarını göstermektedir.



Şekil 4.16 Strain HV43'ün B-227 izolatına etkisi



Şekil 4.17 Strain HT21'in B-227 izolatına etkisi

**Çizelge 4.16** *In vivo* ortamda bakteri uygulamalarının B-227 izolatının hastalık şiddetine etkisi

| <b>B - 227</b>    |   |                                  |               |
|-------------------|---|----------------------------------|---------------|
| <b>Strain No</b>  | <b>Mıs Tanı Sonucu</b>                    | <b>Ortalama Hastalık Şiddeti</b> | <b>% Etki</b> |
| <b>HV-25</b>      | <i>Paenibacillus polymyxa</i>             | 31,23 e                          | 66,65 c       |
| <b>HV-14</b>      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 68,73 cde                        | 26,70 ef      |
| <b>HV-20</b>      | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 56,23 e                          | 40,00 d       |
| <b>HV-13</b>      | <i>Kluyvera intermedia</i>                | 93,73 a                          | -,0400 h      |
| <b>HV-12</b>      | <i>Pseudomonas syringae pv. Syringae</i>  | 70,80 bcd                        | 24,50 ef      |
| <b>HT-19</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 79,15 bc                         | 15,50 fg      |
| <b>HK-13</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 83,30 ab                         | 11,06 gh      |
| <b>HK-3</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 62,48 de                         | 33,35 de      |
| <b>HT-21</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | ,0000 h                          | 100,00 a      |
| <b>HV-2</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 8,30 gh                          | 91,10 ab      |
| <b>HT-26</b>      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 14,55 g                          | 84,43 b       |
| <b>HT-30</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | ,0000 h                          | 100,00 a      |
| <b>HV-43</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | ,0000 h                          | 100,00 a      |
| <b>KONTROL(+)</b> |   | 93,73 a                          | ,0000 h       |
| <b>KONTROL(-)</b> |   | ,0000 h                          | .0000 h       |

\*Değerler 4 tekerrür ortalamasıdır.

\*\*Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistikî açıdan fark yoktur ( $p \leq 0.01$ )

\*\*\* Yüzde hastalık şiddeti Towsen-Heuberger, yüzde etki Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

Rs-pat izolatı için belirlenen ortalama hastalık şiddeti indeksleri değerlendirildiğinde bakteri strainleri içerisinde yedi tanesinin ( HK2, HK7, HK13, HK17, HK32, HV2, HV21) patojene karşı etkili olmadığı tespit edilmiştir. HV34, HV43, HT21 ve HT30 strainlerinin ise hastalığa etkisi %100 olmuş ve hastalığa karşı en etkili antagonist mikroorganizmalar oldukları tespit edilmiştir. HT26 bakterisinin uygulandığı bitkilerde ise ortalama hastalık şiddeti indeksi 8,3 ve hastalık gelişimine etki %91,1 olarak belirlenmiş, bu yönüyle hastalığı engellemede oldukça etkili bir uygulama olarak kaydedilmiştir. HK3 strainin %40 hastalığı engelleme potansiyeline sahip olduğu, HK8, HT19, HV46 ve HV20 bakterilerinin ise diğer uygulamalarla

kıyaslandığında daha düşük oranlarda (%2,1 - %35,5) hastalık gelişimini engelledikleri tespit edilmiştir. (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.18)

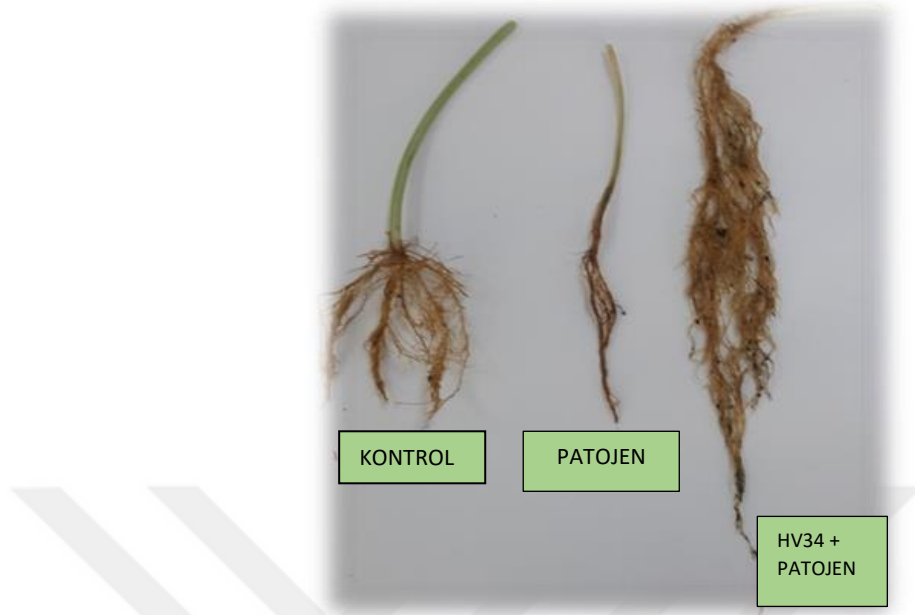
**Çizelge 4.17** *In vivo* ortamda bakteri uygulamalarının Rs-pat izolatının hastalık şiddetine etkisi

| Rs-pat             |   |                           |        |    |
|--------------------|---|---------------------------|--------|----|
| Strain No          | Mıs Tanı Sonucu                           | Ortalama Hastalık Şiddeti | % Etki |    |
| HV-46              | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 66,65 c                   | 28,90  | b  |
| HK-17              | <i>Panibacillus validus</i>               | 100,00 a                  | -6,70  | d  |
| HK-32              | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 100,00 a                  | -6,70  | d  |
| HK-7               | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 100,00 a                  | -6,70  | d  |
| HK-2               | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 100,00 a                  | -6,70  | d  |
| HV-21              | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 95,83 a                   | -2,28  | d  |
| HV-2               | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 97,90 a                   | -4,47  | d  |
| HV-20              | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 60,40 c                   | 35,50  | b  |
| HK-13              | <i>Kluyvera intermedia</i>                | 100,00 a                  | -6,70  | d  |
| HK-8               | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 91,65 ab                  | 2,21   | cd |
| HV-34              | <i>Bacillus subtilis</i>                  | ,0000 d                   | 100,00 | a  |
| HK-3               | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 56,23 c                   | 39,98  | b  |
| HT-19              | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 83,30 b                   | 11,12  | c  |
| HT-21              | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | ,0000 d                   | 100,00 | a  |
| HT-26              | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 8,30 d                    | 91,10  | a  |
| HT-30              | <i>Bacillus subtilis</i>                  | ,0000 d                   | 100,00 | a  |
| HV-43              | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | ,0000 d                   | 100,00 | a  |
| <b>KONTROL(+)</b>  |   | 93,73 ab                  | ,0000  | cd |
| <b>KONTROL (-)</b> |   | ,0000 cd                  | ,0000  | cd |

\*Değerler 4 tekerrür ortalamasıdır.

\*\*Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistikî açıdan fark yoktur ( $p \leq 0.01$ )

\*\*\* Yüzde hastalık şiddeti Towsen-Heuberger, yüzde etki Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.



**Şekil 4.18** Strain HV34'ün Rs-pat izolatına etkisi

B-1 izolatına ait biyokontrol deneme sonuçları değerlendirildiğinde HV43, HT21 ve HT30 bakterilerinin uygulandığı bitkilerde hastalık simptomsu gözlenmemiş, strainlerin hepsi patojene karşı gösterdiği %100 etki oranı ile oldukça başarılı bulunmuştur. HV25 ve HT26 bakteri uygulamalarının ise hastalık oluşumunu %50'nin üzerinde (%57,7 - %73,3) engelleyerek başarılı oldukları kabul edilmiştir. HT19, HK8, HK3, HV46 ve HV20 uygulamalarının patojenin B-1 izolatına etkileri incelendiğinde hastalığı %15,5 - %35,6 arasında değişen yüzde etki oranları ile engelledikleri tespit edilmiştir. (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.19)

*In vivo* deneme sonuçları bakteri strainlerinin patojeni engellemede gösterdikleri potansiyele göre gruplandırılmış ve %70 - %100 arasında etkiye sahip olanlar çok başarılı, %50 - %70 arasında etki gösterenler ise başarılı olarak değerlendirilmiştir.

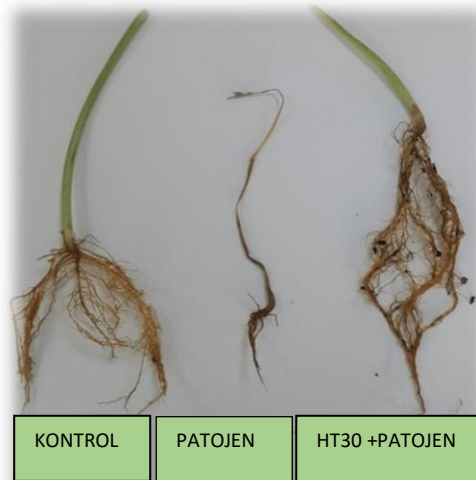
**Çizelge 4.18** *In vivo* ortamda bakteri uygulamalarının B-1 izolatının hastalık şiddetine etkisi

| <b>B – 1</b>      |   |                                  |               |
|-------------------|---|----------------------------------|---------------|
| <b>Strain No</b>  | <b>Mıs Tanı Sonucu</b>                    | <b>Ortalama Hastalık Şiddeti</b> | <b>% Etki</b> |
| <b>HV-43</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 0,00 g                           | 100,00 a      |
| <b>HT-30</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 0,00 g                           | 100,00 a      |
| <b>HK-3</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 64,55 cd                         | 31,15 de      |
| <b>HT-21</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 0,00 g                           | 100,00 a      |
| <b>HT-26</b>      | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 25,00 e                          | 73,30 b       |
| <b>HK-13</b>      | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 91,63 a                          | 2,20 g        |
| <b>HT-19</b>      | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 79,15 b                          | 15,50 f       |
| <b>HK-8</b>       | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 75,00 bc                         | 20,00 ef      |
| <b>HV-25</b>      | <i>Paenibacillus polymyxa</i>             | 44,55 e                          | 52,43 c       |
| <b>HV-20</b>      | <i>Bacillus megaterium GC subgroup A</i>  | 60,38 d                          | 35,60 d       |
| <b>HV-46</b>      | <i>Bacillus cereus GC subgroup A</i>      | 62,48 d                          | 33,35 d       |
| <b>KONTROL(+)</b> |   | 93,73 a                          | ,0000 g       |
| <b>KONTROL(-)</b> |   | ,0000 g                          | ,0000 g       |

\*Değerler 4 tekerrür ortalamasıdır.

\*\*Aynı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiki açıdan fark yoktur ( $p \leq 0.01$ )

\*\*\* Yüzde hastalık şiddeti Towsen-Heuberger, yüzde etki Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.



**Şekil 4.19** Strain HT30'un B-1 izolatına etkisi

#### 4.10 Tartışma

Fasulye üretim alanlarında toprak kaynaklı patojenlerin meydana getirdiği hastalıklar oldukça yıkıcı zararlar oluşturmaktadır (Watson, 2009; Marcenar and Valkonen, 2016; Smolinska and Kowalska, 2018). Bu patojenler içerisinde yer alan *R. solani* dünyanın pek çok yerinde konukçularında ciddi kayıplar oluşturan ve çok geniş konukçu aralığına sahip olan bir hastalık etmenidir. Sıcaklığın 20 °C'nin üzerinde olduğu yüksek nemli koşullarda, hafif ve kumlu topraklarda oluşturduğu zarar çok şiddetlidir (Levenfors, 2003). Son yıllarda *R.solani*'nin neden olduğu hastalığın epidemisinde tüm dünyada bir artış gözlenmektedir. Etmenin geniş alanlara yayılabilmesi ve oldukça fazla ürün kaybına neden olması konukçu çevresinin yoğunluğuna, tohum, toprak ve bitki artıklarında uzun süre canlılığını koruyabilmesine, organik maddeler üzerinde saprofitik olarak yaşamını sürdürebilmesine, uygun olmayan iklim koşullarına dayanıklı yapılar oluşturabilmesine, patojenin fenotipik ve genotipik yapısındaki farklılıklara bağlıdır (Harman, 2001). Patojene ait sayılan bu özellikler hastalığı tüm dünyada fasulyenin önemli hastalıklarından birisi yapmıştır. Hastalığın bu derece önemli olmasından dolayı birçok ülkede kontrolü ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Araştırmalarda toprak dezenfeksiyonu ve hastalığın kontrolü için yapılan kimyasala dayalı uygulamaların toprak sağlığını bozduğu, çeşitli canlılara zarar verdiği ve gelenen bu noktanın endişe yarattığı belirtilmektedir. Genel olarak toprak kalitesi; bitki sağlığını koruma potansiyelini ve toprağın biyolojik verimliliğini belirleyen bir dizi fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikler ile tanımlanmaktadır. Tüm bu özellikler bitki sağlığı için değerlendirildiğinde verimin optimizasyonunu ve ürünün kalitesini etkilemekte, yapılan kimyasal uygulamalar toprak özelliklerini dengesizleştirmektedir (Larsson and Pierce, 1994). Son zamanlarda bu durum toprak canlılığının korunması, biyolojik çeşitliliğin devamının sağlanması ve kimyasal kullanımının azaltılması gibi konuları önemli hale getirmiş, tarımda kimyasal uygulamalara alternatif yöntemlerin geliştirilmesinin gerekliliğini ortaya koymuştur (Chellemi and Porter, 2001). Bu alternatif yöntemlerden birisi de PGPR ve/veya antagonistik özellikteki bakterilerin kullanıldığı biyolojik kontroldür. Hastalığa karşı kullanılan kontrol yöntemleri değerlendirildiğinde, biyokontrol etkiye sahip bakteri strainlerinin kullanımının en az kimyasal uygulamalar kadar başarılı olduğu ve hatta bazı araştırmalarda kimyasal mücadeleden çok daha iyi sonuçlar verdiği tespit edilmiştir (Cook *et al.*, 2002;



Johansson *et al.*, 2003; Akpınar, 2008). Bu tez çalışması Iğdır ili volkanik, kumlu ve tuzlu topraklarından ve Ebu Cehil bitkisinden elde edilen bakteri strainlerinin *in vitro* şartlarda ve saksı denemesinde *R. solani*'nin fasulyede neden olduğu kök çürüklüğü hastalığının kontrolünde antagonistik etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Çalışmamızda farklı karaktere sahip topraklardan yapılan izolasyon sonucunda 83 bakteri straini elde edilmiştir. *In vitro* ikili kültür testlerde 83 bakteri straininden 11 tanesinin *R. solani*'nin B-1 izolatına, 12 tanesinin B-227 izolatına ve 17 tanesinin de Rs-pat izolatına karşı antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir. *R. solani*'nin üç izolatına antagonistik etki gösterdiği belirlenen 7 bakteri straininin hepsinin *Bacillus* cinsine ait olduğu görülmüştür. *Paenibacillus polymyxa* (B-1 ve B-227), *Paenibacillus validus* (Rs-pat), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Rs-pat) ve *Kluyvera intermedia* (B-227 ve Rs-pat) olmak üzere 4 farklı bakteri türünün de antagonistik etki gösteren bakteri strainleri arasında olduğu saptanmıştır. *In vitro* ortamda Rs pat izolatına karşı en yüksek engelleme oranı HT 26 (%54), HT 30 (%63) ve HV 43 (%66) strainlerinden elde edilmiştir. Patojenin B-1 ve B-227 izolatları için sonuçlar değerlendirildiğinde HT 30'un her iki izolatın gelişimini %50 oranında engellediği HV 43'ün ise %53-55 oranlarında fungusun misel gelişimini baskıladığı belirlenmiştir. Bu çalışmaya benzer araştırmalarda *in vitro*'da farklı *Bacillus* türlerinin toprak kaynaklı fungal patojenlerin gelişimini baskıladığı bildirilmiştir. Ulukuş (1988) tarafından topraktan izole edilen *Bacillus* sp. türünün *V. dahliae*'nin gelişmesini engellediği; Amer ve ark., (1997) tarafından *Bacillus thuringiensis*'in domateslerde hastalık oluşturan *Pythium ultimum* ve *F. oxysporum*' un hiflerinde morfolojik bozulmalara ve erimelere neden olduğu; Emmert and Handelsmann (1999) tarafından *Bacillus* spp.'nin hem antimikrobiyal bileşikler üretme hem de olumsuz çevre koşullarına dayanıklı spor oluşturma özellikleri ile hastalıkların kontrolünde başarıyla kullanıldığı; Alippi *et al.*, (2000) tarafından *B. licheniformis* ve *B. subtilis* türlerinin buğdayda kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana*'ya karşı en etkili türler olduğu; Tekin (2004) tarafından *Bacillus* türlerine ait antagonistlerin biber bitkisinin köklerinde hastalığa neden olan patojenleri önemli düzeyde engellediği; Soylu ve ark., (2005) tarafından biber ve domateste enfeksiyon oluşturan toprak kökenli *S. sclerotiorum* ve *R. solani*'nin mücadelesinde floresan *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp.'nin hastalık etmenlerine karşı antagonistik etki

gösterdiği ve hastalığı yüksek oranda engellediği; Abd-Allah *et al.*, (2006) tarafından *B. subtilis* uygulamalarının bitkide lipit fraksiyonlarının değişmesine neden olarak hastalık çıkışını engellediği; Çubukcu (2007) tarafından fluoresans *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsi bakteri strainlerinin pamuk bitkilerinde *Verticillium* solgunluğunu etmeni *V. dahliae*'nin gelişimini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir.

*In vitro* da biyokontrol etkinlikleri saptanan bakteri strainlerinin *R. solani*'nin hastalık gelişimine olan etkisi saksı denemesi ile belirlenmiştir. B-1 izolatına ait biyokontrol deneme sonuçları değerlendirildiğinde HV43, HT21 ve HT30 bakterilerinin uygulandığı bitkilerde hastalık symptomu gözlenmemiş, strainlerin hepsi patojene karşı gösterdiği %100 etki oranı ile oldukça başarılı bulunmuştur. HV25 ve HT26 bakteri uygulamalarının ise hastalık oluşumunu %50'nin üzerinde (%57,7 - %73,3) engelleyerek başarılı oldukları kabul edilmiştir. Bakteri uygulamalarının B-227 izolatına etkisi incelendiğinde HT21, HT30 ve HV43 strainlerinin %100 oranında hastalığı engelleyerek en yüksek etkiyi oluşturdukları görülmüştür. Hastalık gelişimini başarılı bir şekilde baskıladıkları tespit edilen HV2, HT26, HV25 ve HV20 strainlerinin ise sırasıyla %91,1, %84,4, %66,7 ve %40 engelleme oranlarına sahip oldukları belirlenmiştir. Strainler içerisinde HV13' ün *in vitro* ortamda B-227 izolatının misel gelişimini %28 oranında engellediği ancak *in vivo* ortamda hastalığı engellemede etki göstermediği hatta %93,7 hastalık şiddeti ile pozitif kontrol ile aynı grupta yer aldığı saptanmıştır. HK13 'ün *in vivo* ortamda hastalığı engelleme performansının ise *in vitro* test sonucuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu iki bakteri straini dışında B-1 ve B-227 izolatları için sonuçlar değerlendirildiğinde *in vivo* ortamda hastalıkları engelleme yeteneklerinin *in vitro* test sonuçlarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla seçilen bu bakteri strainleri ile yürütülen *in vitro* ikili kültür testleri ile *in vivo* biyokontrol etkinlikler arasında bir korelasyon olmadığı görülmüştür. Rs-pat izolatı için belirlenen ortalama hastalık şiddeti indeksleri değerlendirildiğinde HV34, HV43, HT21 ve HT30 strainlerinin hastalığa etkisinin %100 olduğu ve belirlenen bu değerle hastalığa karşı en etkili antagonistler olarak çalışmada yer aldıkları görülmüştür. HK 19 straini hariç *in vitro* ortamda etkili olan strainlerin *in vivo* ortamda daha yüksek başarı gösterdikleri belirlenmiştir. *In vitro* testlerde etkili çıkan bakteri strainlerinden yedi tanesinin (HK2, HK7, HK13, HK17, HK32, HV2, HV21)

patojene karşı *in vivo* ortamda etkili olmadığı hatta beklenenin aksine pozitif kontrolden daha yüksek oranda hastalık oluşturduğu tespit edilmiştir. Aynı şekilde Berg *et al.*, (2001) tarafından sera koşullarında çilek bitkisinde yapılan denemede *Serratia plymuthica* R12 uygulamasının *Verticillium* solgunluğu belirtilerini pozitif kontrole göre istatistiki olarak arttırdığı bildirilmiştir. Benzer şekilde Vestberg *et al.*, (2004) tarafından çilekte *P. cactorum* ve *P. fragaria* patojenlerinin neden olduğu hastalıklara karşı *Glomus mosseae* BEG29, *Bacillus subtilis* M, *Trichoderma harzianum* DB11, *Pseudomonas fluorescens* C7r12 ve *Gliocladium catenulatum* (Gliomix) uygulamalarının etkinliklerinin araştırıldığı çalışmada uygulamaların hastalığı kontrol edemediği, hatta bazı uygulamalar sonucunda hastalık şiddetinin arttığı belirlenmiştir. Tez çalışmasında bu sonuçlar doğrultusunda dikkati çeken bir sonuç da bakteri strainlerinin bazılarının *in vitro* ve *in vivo* test sonuçları arasında uyumsuzluk görülmesidir ki bu durumla biyolojik mücadele çalışmalarında sıklıkla karşılaşılmaktadır. Papavizas and Lewis (1983) ve Fravel (1998) tarafından *in vitro* antibiyosis çalışmaları ile *in vivo* biyokontrol arasında uyumsuzluğa dair birçok bulgunun mevcut olduğu bildirilmiştir. Duczek (1994) tarafından *Bipolaris sorokiniana* patojen fungusunun kontrolüne yönelik yapılan çalışmada bakteri strainlerinin etkinlikleri açısından sera ve tarla denemeleri arasında bir ilişki olmadığı; Shtienberg and Elad (2002) tarafından biyolojik kontrol çalışmalarında *in vitro* ve *in vivo* sonuçların farklılıklar gösterebileceği; Mercado-Blanco *et al.*, (2004) tarafından *Verticillium* solgunluğunun baskı altına alınmasında test edilen bakteri strainlerinin *in vivo* ve *in vitro*'daki etkinlikleri arasında bir ilişki bulunmadığı bildirilmiştir. Ayrıca *in vitro* ortamda bakterilerin antagonistik etkilerinin belirlenmesi için yapılan ikili kültür testlerinde kullanılan besiyerinin içeriğinin önemli olduğu bilinmektedir. Mikroorganizmaların antibiyotik üretimlerinin besi yerinin içerdiği karbon kaynaklarına göre değiştiği tespit edilmiştir (Shanahan *et al.*, 1992; Nielsen *et al.*, 1998; Yoshida *et al.*, 2002). Ayrıca çevre faktörlerinden antibiyotik üretiminin büyük ölçüde etkilendiği ve antibiyotik üretiminin enzim ile ilişkili olması durumunda enzim substratının yokluğunda *in vitro* testler ile sonuç alınamayacağı belirtilmiştir (Fravel, 1998).

Çalışma sonucunda genel olarak bakteri strainlerinin etkinliklerinin *in vivo* ortamda daha yüksek olduğu görülmüştür. *In vivo* koşullarda bitki hastalıkları ile

biyolojik kontrolde etkin bir sonuç almak konukçu ( bitkinin çeşitine bağlı morfolojik ve genotipik değişiklikler, gelişme dönemi), patojen (virulanslık ve patojenite farklılığı), antagonist bakteri (popülasyon yoğunluğu, üretilen enzimler, hormonlar ve antimikrobiyal maddelerin varlığı) ve çevre faktörlerinin (pH, sıcaklık, nem, toprak tekstürü, inorganik ve organik madde içeriği gibi abiyotik etkenler) interaksiyonlarına bağlıdır (Landa *et al.*, 2004). Mikrobiyal topluluklar arasında yaşam ortamına en iyi adapte olabilen, en rekabetçi türler daha fazla koloni oluşturarak popülasyon farklılıkları meydana getirmekte, böylece hızlı bir şekilde bitki köklerinde kolonize olarak hastalık etmenlerine karşı etkili bir biyokontrol özellik göstermektedir (Boudyach *et al.*, 2001; Rezzonico *et al.*, 2007). Sıcaklık, nem, ışık gibi çevresel faktörlerdeki değişikliklerin bitkinin toprak altı aksamını toprak üstü aksamına göre daha hızlı ve yüksek düzeyde etkilemediği, bu nedenle hastalıkların baskılanmasında rizosfer bölgesine uygulanan bakteri strainlerinin bitkinin toprak üstü aksamına uygulananlardan daha fazla etkili olduğu belirtilmektedir (Hsieh *et al.*, 2005). Ayrıca mikroorganizmalar için başarılı bir rizosfer kolonizasyonunun bitkinin kök eksudasyonu ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir. Eksudatların yapısının bitki çeşitine, bitkinin gelişme dönemine ve strese maruz kalmasına bağlı olarak değiştiği ve bu durumun çeşitli bakteriyel toplulukların kolonizasyonunda farklılıklara sebep olduğu belirlenmiştir. Bitkiler tarafından rizosfere salgılanan eksudatlar çeşitli karbonhidratlar, amino asitler ve organik asitlerden oluşmakta ve bölgede bulunan bazı bakterilerce bu salgılar besin kaynağı olarak kullanılarak onların kolonizasyonunu etkilemektedir (Lugtenberg and Dekkers, 1999; Bais *et al.*, 2006; Haichar *et al.*, 2008) .

Bitki gelişimini arttıran, hastalık çıkışını veya gelişimini engelleyen bakteriler hem tohuma hem de toprağa kolayca uygulanabilmektedir. Özellikle tohuma uygulanan bakteri strainlerinin hastalık çıkışını azattıkları, fungusların hif ve sporlarında yapısal bozukluklara neden oldukları, spor ve çim tüpü oluşumunu inhibe ettikleri ve verimi önemli ölçüde arttırdıkları bildirilmiştir ( Parke *et al.*, 1991; Upadhyay and Jayaswal, 1992; Bowers and Parke, 1993; Amer *et al.*, 1997; Hultberg *et al.*, 2000; Gupta *et al.*, 2001; Dwivedi and Johri, 2003).

Saksı denemesinden alınan sonuçlarda bazı bakteri uygulamalarında hem hastalık görülmediği hem de bitkinin kök kısmının kontrole göre çok iyi geliştiği

gözenmiştir. Dolayısıyla başarılı bulunan bakteri strainleri biyokontrol etkilerinin yanısıra bitki gelişimini arttırıcı özellikleriyle de dikkat çekmiştir. Elde edilen bu sonuçların tohuma uygulanan bakteri strainlerinin bitkinin sistemik dayanıklılığını uyarmasından, azotu fikse edebilme ve fosforu çözebilme özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar PGPR'lerin sahip oldukları bazı mekanizmalar ile patojen mikroorganizmaların bitkilerde hastalık oluşumunu engellediklerini, aynı zamanda bitki gelişimini teşvik ederek yaygın ve başarılı bir şekilde kullandıklarını göstermektedir (Hoitink, 1986; Slezack *et al.*, 1999; Heungens and Parke, 2000; Estevez de Jensen *et al.*, 2002; Anandhakumar and Zeller, 2004 ).

Antagonist bakteriler tarafından sistemik dayanıklılığın uyarılması sonucunda bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılığı sağlayan enzimatik değişikliklerin meydana geldiği, phenylalanine amonyalyase, lipoxygenase, hydroperoksidase, peroxidase, polyphenol oxidase gibi enzimlerin aktivitelerinde artma olduğu tespit edilmiştir (Chen *et al.*, 2000; Ongena *et al.*, 2004; Silva *et al.*, 2004). Ayrıca mikrobiyal antagonistlerin pyrrolnitrin, 2,4-diacetylphloroglucinol, hydrogen cyanide, phenazine-1-carboxylic acid, pyoluteorin, mycobacillin, oomycin A, subtilin, bacilysin ve iturin A gibi antimikrobiyal bileşikler ürettiği kitinaz, sellulaz ve glukonaz gibi fungal hücre duvarını parçalayan enzimler üreterek patojen gelişimini engelledikleri bildirilmiştir (Chen ve ark., 2000; Tambong and Höfte, 2001; Krechel *et al.*, 2002; Ramamoorthy *et al.*, 2002). Bakteri strainlerinin indol asetik asit, giberallik asit, sitokinin ve etilen gibi bitkisel hormonları üreterek, asimbiyotik olarak azotu fiksederek, toprakta alınamayacak formdaki fosfor ve diğer besin elementlerini mineralize ederek bitkide büyümeyi arttırdıkları ve patojen gelişimini engelleyici rol oynadıkları çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Gutierrez-Manero *et al.*, 2001; Dobbelaere *et al.*, 2002; Şahin *et al.*, 2004). Antagonist bakteriler tarafından indol asetik asit üretiminin bitkinin kök uzaması ve gelişiminde etkili olduğu, indol asetik asit ile kök gelişimi arasında pozitif ilişki bulunduğu saptanmıştır (Asghar *et al.*, 2002; Khalid *et al.*, 2004). Yapmış olduğumuz bu çalışmada da etkili bulunan bakteri strainlerinin bu mekanizmalardan bir veya bir kaçını kullanarak patojeni baskıladıkları düşünülmektedir. Bunun aydınlatılabilmesi için ileride daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Iğdır ili volkanik, kumlu ve tuzlu topraklarından elde edilen bakteri strainlerinin *R. solani*'nin neden olduğu kök çürüklüğü hastalığına karşı biyolojik mücadelede kullanımına yönelik *in vitro* ve şartlarda yapılan araştırma ile hastalığın kontrolünde ümitvar sonuçlar elde edilmiştir. Bu bakteri strainlerinin hastalıkla entegre mücadele programı içerisine tohum uygulaması olarak dahil edilmesi ile ülke ekonomisine ve üreticilere önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Bu çalışmanın devamında araştırılması gereken konular arasında;

- Etkili bulunan bakteri strainlerinin sera ve tarla denemelerinde, farklı konukçu-patojen sistemlerinde hem patojen gelişimi ve hastalığın engellenmesi hem de bitki gelişim parametreleri üzerine etkilerinin araştırılması
- Bakteri strainlerinin arazi koşullarında tek tek veya kombinasyonlar halinde uygulanarak patojeni engellemedeki etkilerinin test edilmesi
- Tarla denemelerinde bakteri strainlerinin uygulandığı bitkilerin rizosfer kısmında popülasyonlarının izlenmesi
- Sera ve tarla denemelerinde farklı bakteri uygulamalarının (tohum, yaprak, tohum + yaprak) hastalık gelişimi üzerine etkilerinin değerlendirilmesi
- Bakteri ve fungusit uygulamalarının birleştirilmesi ile ilaçlama sıklığındaki değişimlerin izlenmesi
- Çalışmada başarılı bulunan bakteri strainlerinin hastalığı engellemede ne tür biyokontrol mekanizmalar kullandıklarının belirlenmesi
- Bakteri strainlerinin bitki gelişimini teşvik edici etkilerine dair mekanizmaların çalışılması
- Bakteri strainlerinin farklı fungal yapılara olan etkilerinin (hiflerde meydana gelen morfolojik bozulmalar, erimeler vb.) mikroskobik olarak incelenmesi ve ürettikleri antifungal sekonder bileşiklerin ( ekstraselüler kitinaz, glukonaz vb.) araştırılması
- Bakteri uygulamaları sonucu bitkilerde meydana gelen enzimatik ( lipogenaz, katalaz, peroksidaz, PAL vb.) değişikliklerin incelenmesi

- Bakteri strainlerinin tespit edilen özelliklerinin DNA'ya dayalı metotlarla hangi genlerden kaynaklandığının saptanması yer almaktadır.



## KAYNAKLAR

- Anonim, 2018. Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri. [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr) Erişim Tarihi (27.02.2018)
- Anonymous, 2018. FAO Statical Database. [www.faostat.fao.org](http://www.faostat.fao.org) Erişim tarihi (13.04.2018)
- Abd-Allah, F., Hashem, A., Ezzat S.M., 2006. Lipid Metabolis in Tomato and Bean As Sensitive Monitor For Biocontrol of Wilt Diseases, *Phthoparasitica* 34(5),516-522.
- Açıkgöz, S., 1984. *Erzincan ve Erzurum Yörelerinde Phaseolus vulgaris L. Üzerindeki Virüslerin Tanılanması, Yayılışları ve Zararları Üzerinde Araştırmalar*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. (Doktora Tezi), Erzurum, 75.
- Akkurt M., 2010. *Fasulye (Phaseolus vulgaris L.) Bitkisinde Bakteri Aşılmasının Azot Fiksasyonuna ve Bitkinin Kök ve Toprak Üstü Organlarına Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Ordu, 66.
- Akpınar M. Ö., 2008. *Pamukta Fide Kök Çürüklüğü Etmenlerine Karşı Bazı Biyolojik Preparatların Etkinliğinin Saptanması*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 78.
- Alippi, A.M., Perelló, A.E., Sisterna, M.N., Greco, N.M., Cordo, C.A., 2000. Remove From Marked Records Potential Of Spore-Forming Bacteria As Biocontrol Agents of Wheat Foliar Diseases Under Laboratory and Greenhouse Conditions. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 107 (2), 155-169.
- Amer, G.A., Aggarwal, R., Singh, D.V., Srivastava, K.D., 1997. Interaction of *Bacillus thuringiensis* with *Pythium ultimum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: Possible Role in Biological Control. *Currennt Sciences*, 3, 284–286.



- Anandhakumar, J., Zeller, W. 2004. Investigation on the Biocontrol of *Phytophthora* Diseases on Strawberry Based on Antagonism. **11th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing. Proceedings of the Conference**, Weinsberg, Germany, 240-243.
- Anitha A., Das M.A., 2011. Activation of Rice Plant Growth Against *Rhizoctonia solani* using *Pseudomonas fluorescens*, *Trichoderma* and Salicylic Acid. **Research in Biotechnology**, 2(4), 07-12.
- Ardıç, Z.H., 2016. **Kahramanmaraş Biber Alanlarından İzole Edilen Toprak Bakterilerinin *Phytophthora capsici*'ye Karşı Etkilerinin Belirlenmesi**. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 55.
- Asaka O., Shoda, M., 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of Tomato with *Bacillus subtilis* RB14. **Applied and Environmental Microbiology**, 62,4081-4085.
- Asghar, H.N., Zahir, Z.A. Arshad, M. Khaliq, A., 2002. Relationship Between *in vitro* Production of Auxins by Rhizobacteria and Their Growth-promoting Activities in *Brassica juncea* L., **Biol Fertil Soils** (2002) 35,231–237.
- Aydın, M.H., 2008. **Patates Yetiştiriciliğinde Sorun Olan *Rhizoctonia solani*'nin Biyolojik Savaşımı ve Bunun Kimyasal Savaşla Entegrasyonu**. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 183.
- Aydın, M.H., Turhan G., Göre M.E., 2011. Patates Yumrularında *Rhizoctonia solani* Kühn Sklerotlarının Canlılığı ve Oluşumu Üzerine Bazı Antagonistlerin Etkinliğinin Belirlenmesi. **Anadolu Journal of Aarı**, 21 (2), 29 – 38.
- Azkan, N., 1989. **Yemeklik Dana Baklagiller**. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Bursa, 40.
- Backman, A.C., Bengtsson, M., Witzgall, P., 1997. Pheromone Release by Individual Females of Codling Moth, *Cydia pomonella*. **Journal of Chemical Ecology**, 23,807- 815.

- Bains, P.S., Bennypaul, H.S., Lynch, D.R., Kawchuk, L.M., Schaupmeyer, C.A., 2002. *Rhizoctonia* Disease of Potatoes (*Rhizoctonia solani*): Fungucidal Efficacy and Cultivar Susceptibility. *American Journal of Potato Researc*, 79,99-106.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., 2006. The Role of Root Exudates in Rhizosphere Interactions with Plants and Other Organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266.
- Bakalı, A.M., Martin, M.P., 2006. Black Scurf of Potato. *Mycologist*, 20,130-132.
- Barka, E.A., Gognies, S., Nowak, J., Audran, J.C., Belarbi, A., 2002. Inhibitory Effect of Endophyte Bacteria on *Botrytis Cinerea* and Its Influence to Promote the Grapevine Growth. *Biological Control*, 24,135-142.
- Bautista, G., Mendoza, H., Uribe, D., 2007. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* in Native Potato (*Solanum phureja*) Plants Using Native *Pseudomonas fluorescens*. *Acta Biol. Colomb*, 12 (1),19 – 32.
- Berg, G., Knaepe, C., Ballin, G., Seidel, D., 1994. Biological Control of *Verticillium dahliae* Kleb. by Natural Occuring Rhizosphere Bacteria. *Phytopath*, 29,249-262.
- Berg, G., 2007. Biological Control of Fungal Soilborne Pathogens in Strawberries. *Biological Control Of Plant Diseases*, Chincholkar, S.B. and Mukerji, K.G. The Haworth Press, United States of America 1-16.
- Berg, G., Fritze, A., Roskot, N., Smalla, K., 2001. Evaluation of Potential Biocontrol Rhizobacteria From Different Host Plants of *Verticillium dahliae* Kleb. *Journal of Applied Microbiology*, 91(6),963-971.
- Blancard, D., 1993. *Maladis Dela Tomate* INRA (Domates Hastaliklari Çev: Abak, K., Sari, N., M.F., Ç.Ü. *Adana Hasad Yayıncılık, Bitkisel üretim Serisi 2*.
- Bora, T., Özaktan, H., 1998. *Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, İzmir, 205.
- Bora, T., Yildiz, M., Özaktan, H., 1994. Ege Bölgesinde Kavun ve Karpuzlarda Görülen *Fusarium* Solgunluklarının Antagonistik *Fluorescent Pseudomanas*'larla

Önlenmesi Olanakları Üzerinde Arastirmalar. Ege Üniversitesi Arastırma Fonu 92-ZFR-035 Sayılı Proje Kesin Raporu., 26.

- Boudyach, E.H., Fatmi, M., Akhayat, O., Benizri, E., Ait Ben Oumar, A., 2001. Selection of Antagonistic Bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and Evaluation of Their Efficiency Against Bacterial Cancer of Tomato, ***Biocontrol Science and Technology***, 11,141-149.
- Bowers, J.H. Parke J.L., 1993. Epidemiology of Pythium Damping-off and Aphanomyces Root Rot of Peas After Seed Treatment With Bacterial Agents for Biological Control. ***Phytopathology*** 83,1466-1473.
- Brewer, M.T., Larkin, R.P., 2005. Efficacy of Several Potential Biocontrol Organisms Against *Rhizoctonia solani* on Potato, ***Crop Protection***, 24,939-950.
- Bruehl, G.W., 1987. ***Soilborne Plant Pathogens***. Macmillan, New York.
- Carling, D.E., Kuninaga, S., Brainard, K.A., 2002. Hyphal Anastomosis Reactions, rDNA Internal Transcribed Spacer Sequences and Virulence Levels Among Subsets of *Rhizoctonia solani* Anastomosis Group 2 (AG2) and AG-BI. ***Phytopathology***, 92,43-50.
- Cattelan, A.J., Hartel, P. G., Fuhrmann, J.J., 1999. Screening for Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. ***Soil Science Society of America Journal***, 63(6), 1670–1680.
- Chellemi, D.O., Porter, I.J., 2001. The Role of Plant Pathology in Understanding Soil Hhealth and its Application to Production Agriculture. ***Australasian Plant Pathology*** 30,103-109.
- Chen, C., Belanger. R.R., Benhamou, N., Paulitz, T.C., 2000. Defense Enzymes Induced in Cucumber Roots by Treatment with Plant Growth-promoting Rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*, ***Physiological and Molecular Plant Pathology*** 56,13–23.

- Chernin, L., Ismailov, Z., Haran, S., Chet, I., 1995. Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* Antagonistic to Fungal Plant pathogens. *Applied and Environmental Microbiology*. 61( 5), 1720–1726.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., Aıt Barka, E., 2005. Use of Plant Growth-promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71,4951-4959.
- Cook, R.J., Weller, D.M., Youssef El-Banna, A., Vakoch, D., Zhang, H., 2002. Yield Responses of Direct Seeded Wheat to Rhizobacteria and Fungicide Seed Treatments. *Plant Disease*, 86,780-784.
- Çakmakçı, R., 2005. Bitki Gelişiminde Fosfat Çözücü Bakterilerin Önemi. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19,93-108.
- Çapar, E., 2012. *Patateste Farklı Sklerot Düzeylerinin Rhizoctonia solani İnfeksiyonlarındaki Rolünün ve Hastalıkla Mücadelede Yumru İlaçlamalarının Etkinliğinin Araştırılması*. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 71.
- Çatallık Aksu, Ü., 2015. *İncir İç Çürüklüğüne Karşı Antagonist Bakteriler ile Biyolojik Mücadele*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 92.
- Çetinkaya Yıldız, R., 2007. *Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni [Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis (smith) davis et. Al.]’nin Tanlanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler ile Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması*. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 191.
- Çiftçi, V., Allahverdi. A., 2001. Van - Gevaş Koşullarında Farklı Ekim Zamanlarının Şeker Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşidinin Verim ve Bazı Verim Öğelerine Etkisi. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(3),55–60.

- Çubukcu N., 2007. *Pamuklarda Verticillium Solgunluğu ( Verticillium dahliae Kleb.)' na Karşı Endofitik Bakterilerle Biyolojik Mücadele*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 73.
- Debouck, D., 1991. *Systematics and Morphology*. In: Common Beans: Research for Crop Improvement. Centro Internacional de Agricultura Tropical, 55-107.
- Delen, N., 1991. Patojenlerin Fungisitlere Dayanıklılık Sorunu. *TYUAP Ege-Marmara Dilimi, ABAV Toplantısı*, 12-14 Mart, Menemen/İzmir.
- 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*, eds., Prof. Dr. S.B. Chincholkar and Prof. Dr. K.G. Mukerji, Haworth Press, NY, USA, 17-37.
- Dixon, G.R., 1984. *Vegetable Crop diseases*. Macmillan, London.
- Dobbelaere, S., Croonenborghs, A., Thys, A., Ptacek, D., Okon, Y., Vanderleyden, J., 2002. Effect of Inoculation with Wild Type *Azospirillum brasilense* and A. irakense Strains on Development and Nitrogen Uptake of Spring Wheat and Grain Maize. *Biology and Fertility of Soils*, 36, 284-297.
- Dönmez, M.F., 2004. *Erzurum ve Erzincan İllerinde Fasulye Bitkisinde Görülen Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanılanması ve Pseudomonas syringae Pv. phaseolicola ve Xanthomonas scampestrist Pv. phaseoliye Karşı Çeşitli Fasulye Genotip/ Varyetelerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 297.
- Dönmez, M.F., Uysal, B., Demirci, E., Ercişli, S., Çakmakçı, R., 2015. Biological Control of Root Rot Disease Caused by *Rhizoctonia solani* Kühn on Potato and Bean Using Antagonist Bacteria. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 14 (5), 29-40.
- Duczek, L.J., 1994. Relationship Between a Grenhouse and Field Assay for Biological Control of Common Root Rot of Spring Wheat and Barley. *Canadian Plant Disease Survey*, 74 (2),135-140.

- Dursun, A., (1999). *Erzincan'da Yaygın Olarak Yetiştirilen "Yalancı Dermason Fasulye" (Phaseolus vulgaris L.) Populasyonunun Seleksiyon Yoluyla Islahı* (Doktora tezi, basılmamış). Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Dwivedi, D., Johri, B.N., 2003. Antifungals From Fluorescent *Pseudomonas*: Biosynthesis and Regulation. *Current Science*, 85,1693-1703.
- Eken, C., Demirci, E., 2004. Anastomosis Groups and Pathogenicity of *Rhizoctonia solani* and Binucleate *Rhizoctonia* Isolates From Bean in Erzurum, Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 86,49-52.
- Elçi, Ş., 1998. *Ziraatte Baklagiller*. Tarım İşletmeleri Müdürlüğü Yayınları, Cilt: 1, 422.
- Emmert, E.A.B., Handelsman, J.O., 1999. Biocontrol of Plant Disease: a (Gram+) Positive Perspective, *FEMS Microbiology Letters*, 171(1), 1-9.
- Erdal, M., 2005. *Bitki Gelişimini Uyaran Kök Bakterilerinin (PGPR) Domatesin Gelişmesine ve Fusarium solani'ye Etkisi Üzerine Bir Araştırma*. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 68.
- Erdoğan, O., 2007. *Fluoresan Pseudomonasların Pamukta Verticillium Solgunluğu (Verticillium dahliae Kleb.)'na ve Bitki Gelişimine Etkileri*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 121.
- Errempalli, D., Johnston, W., 2001. Control of Tuber-borne Black Scurf (*Rhizoctonia solani*) and Common Scab (*Streptomyces scabies*) of Potato with Combination of Sodium Hypochloride and Thiophanate Methylpreplanting Seed Tuber Treatment. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 23,68-77.
- Estevez de Jensen, C., Percich, J.A., Graham, P.H., (2002) Integrated Management Strategies of Bean Root Rot with *Bacillus subtilis* and *Rhizobium* in Minnesota. *Field Crops Research* 74, 107-115.
- Fravel, D.R., Connick, W.J., Lewis, J.A., 1998. Formulation of Microorganisms to Control Plant Diseases. In: *Formulation of Microbial Biopesticides*:

- Beneficial Microorganisms, Nematodes and Seed Treatments*. Edited by H.D. Burges. Kluwer Academic Pub. 187-202.
- Genç, T., 2012. *Erzurum ve Erzincan İllerinde Çilek Bitkilerinden İzole Edilen Verticillium dahliae Kleb.'nın Vejetatif Uyum grupları, Patojenitesi ve Biyolojik Mücadelesi*. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, 142.
- Gupta, C.P., Sharma, A., Dubey, R.C., Maheshwari, D.K., 1999. *Pseudomonas aeruginosa* (GRC1) as a Strong Antagonist of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium oxysporum*. *Cytobios*, 99, 183-189.
- Gupta, C.P., Dubey, R.C., Kang, S.C., Maheshwari, D.K., 2001. Antibiosis-mediated Necrotrophic Effect of *Pseudomonas* GRC2 Against Two Fungal Plant Pathogens. *Current Science*, 81, 91-94.
- Gutierrez-Manero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehrouachi, J., Tadeo, F.R., Talon, M., 2001. The Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* Produce High Amounts of Physiologically Active Gibberellins. *Physiologia Plantarum*, 111, 206- 211.
- Güncan, A., 1990. *Uygulamalı Tarım*. Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Konya, 218.
- Hagedorn, D.J., 1991. *Rhizoctonia* Root Rot. *Compendium of Bean Diseases* (Ed. Hall, R.). APS Press, USA, 13.
- Haichar, F.Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J.I., Prosser, J.I., Balesdent, J., Heulin, T., Achouak, W., 2008. Plant Host Habitat and Root Exudates Shape Soil Bacterial Community Structure. *The ISME Journal* 2(12), 1221-1230.
- Hall, R. (ed.), 1991. *Compendium of bean diseases*. APS Press, St. Paul, USA. 102.
- Hallmann Quadt, A., Hallmann J., Kloepper, J.W., 1997. Bacterial Endophytes in Cotton: Location and Interaction with Other Plant Associated Bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 43(3), 254-259.

- Harley, J.P., Prescott, L.M., 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5th Edition. McGraw Hill, New York. 450.
- Harman, G.E., (2001). Rhizoctonia Seed and Seedling Rot. In *Compendium of pea diseases*, edited by Kraft J.M. and Pfleger F.L. St Paul, Mn, USA: American Phytopathological Society. 110.
- Hessenmuller, A., Zeller, W., 1996. Biological Control of Soil-borne *Phytophthora* Species in Strawberry with Bacterial Antagonists. I. Antagonistic Effect and Colonization of Rhizoplane. *Zeitschrift-fur-Pflanzenkrankheitenund-Pflanzenschutz* 103(6), 602-609.
- Heungens K., Parke J.L., (2000). Zoospore Homing and Infection Events: Effects of the Biocontrol Bacterium *Burkholderia cepacia* AMMDR1 on Two Oomycete Pathogens of Pea (*Pisum sativum* L.). *Applied and Environmental Microbiology* 66, 5192-5200.
- Hoitink, H.A., 1986. Basis for the Control of Soil Borne Plant Pathogens with Composts. Ann. Rev. *Phytopathology*, 24, 93-114.
- Hsieh, T.F., Huang, H.C., Erickson, R.S., 2005, Biological Control of Bacterial wilt of Bean Using a Bacterial Endophyte, *Pantoea agglomerans*, *Journal Phytopathology*, 153, 608-614.
- Huang, X., Zhang, N., Yong, X., Yang, X., Shen, Q., 2011. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping-off Disease in Cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43. *Microbiological Research*, 167, 135– 143.
- Hultberg, M., Alsanus, B., Sundin, P., 2000. *In vivo* and *in vitro* Interaction Between *Pseudomonas fluorescens* and *Pythium* in the Suppression of Damping-off in Tomato Seedling. *Biological Control*, 19, 1-8.
- James, D.W., Gutterson, N.I., 1986. Multiple Antibiotics Produced by *Pseudomonas fluorescens* HV37a and Their Differential Regulation by Glucose. *Applied Enviromental Microbiology*. 52,1183-1189.



- Jehtonen, M.J., 2009. *Rhizoctonia solani* as a Potato Pathogen Variation of Isolates in Finland and Host Response. University of Helsinki Finland, *Academic Dissertation in Plant Pathology*. 81.
- Johansson, P.M., Johnson, L., Gerhardson, B., 2003. Suppression of Wheat Seedling Diseases Caused by *Fusarium culmorum* and *Microdochium nivale* Using Bacterial Seed Treatment. *Plant Pathology*, 52, 219-227.
- Kageyama, K., Nelson, E.B., 2003. Differential Inactivation of Seed Exudates Stimulation of *Pythium ultimum* Sporangium Germination by *Enterobacter cloacae* Influences Biological Control Efficacy on Different Plant Species. *Applied and Environmental Microbiology*. 69,1114-1120.
- Kantar, F., Demirci, E., Ağsakallı, A., 1998. Doğu Anadolu'da Yemelik Dane Baklagillerin Problemleri. *Doğu Anadolu Tarım Kongresi*, Erzurum, 490-498.
- Kara, K., 1996. *Tarla Bitkileri*. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 191, Erzurum, 364.
- Karaca, İ., 1974. *Sistemik Bitki Hastalıkları*. Cilt. IV. Deuteromycetes. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 217. Bornova- İzmir, 272.
- Khalid, A., Arshad, M., Zahir, Z.A., 2004, Screenin Plant-growth Promoting Rhizobacteria for Improving Growth and Yield of Wheat, *Journal of Applied Microbiology*, 96,473-480.
- Kılıçoğlu, M.Ç., Özkoç, İ., 2010. Molecular Characterization of *Rhizoctonia solani* AG4 Using PCR-RFLP of the rDNA-ITS Region. *Turk Journal of Biology*. 34, 261-269.
- Kılıç-Ekici, O., Yuen, G.Y., 2003. Induced Resistance as a Mechanism of Biological Control by *Lysobacter enzymogenes* Strain C3. *Phytopathology*, 93(9), 1103-1110.
- Klement, Z., Rudolph, K., Sands, D.C., 1990. *Methods in Phyto bacteriology*. Akademia Kiado, Budapest, 547.

- Kobayashi, D.Y., Reedy, R.M., Palumbo, J.D., Zhou, J.M., Yuen, G.Y., 2005. A Clp Gene Homologue Belonging to the Crp Gene Family Globally Regulates Lytic Enzyme Production, Antimicrobial Activity, and Biological Control Activity Expressed by *Lysobacter enzymogenes* Strain C3+. *Applied Environmental Microbiology*, 71(1), 261–269.
- Krechel, A., Faupel, A., Hallmann, J., Ulrich, A., Berg, G., 2002. Potato Associated Bacteria and Their Antagonistic Potential Towards Plant-Pathogenic Fungi and the Plant Parasitic Nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Canadian Journal of Microbiology*, 48, 772-786.
- Kuc, J., 2001. Concepts and Direction of Induced Systemic Resistance in Plants and its Application. *European Journal of Plant Pathology*, 107,7-12.
- Lahlali, R., Bajji, M., Ijjakli, M.H., 2007. Isolation and Evaluation of Bacteria and Fungi as Biological Control Agents Against *Rhizoctonia solani*. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 72 (4), 973-982.
- Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A., Jiménez-Díaza, R.M., 2004. Influence of Temperature on Plant Rhizobacteria Interactions Related to Biocontrol Potential for Suppression of *Fusarium* Wilt of Chickpea. *Plant Pathology*, 53, 341–352.
- Larkin, R.P., Honeycutt, C.W., 2006. Effect of Inoculum Density and Soil Tillage on the Development and Severity of *Rhizoctonia* Diseases of Potato, *Phytopathology*, 96,68-79.
- Larson, W.E., Pierce, F.J., 1994. *The Dynamics of Soil Quality As a Measure of Sustainable Management*. In: Doran, J.W. (Ed.), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Soil Science Society of America Special Publication No. 35. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, 37 – 51.

- Leben, S.D., Wad1, J.A., Easton, G.D., 1987. Effect of Fluorescent *Pseudomonas* on Potato Plant Growth and Control of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology*, 77, 1592-1595.
- Lehtonen, M.J., Somervuo P., Valkonen, P.T., 2008. Infection with *Rhizoctonia solani* Induces Defense Genes and Systemic Resistance in Potato Sprouts Grown Without Light. *Phytopathology*, 11,1190-1198.
- Levenfors, J., 2003. *Soil-borne Pathogens in Intensive Legume Cropping - Aphanomyces spp. and Root Rots*. Doctoral Thesis Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 554.
- Liu, C.H., Chen, X., Liu, T.T., Lian, B., Gu, Y., Caer, V., Xue, Y.R., Wang, B.T., 2007. Study of the Antifungal Activity of *Acinetobacter baumannii* LCH001 *in vitro* and Identification of its Antifungal Components. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 76 (2) 459-466.
- Lugtenberg, B.J.J., Dekkers, L.C., 1999. What Make *Pseudomonas* Bacteria Rhizosphere Competent? *Environmental Microbiology*. 1,9-13.
- Marcenar, D., Valkonen, J.P.T., 2016. Seedborne Pathogenic Fungi in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* cv. INTA Rojo) in Nicaragua. *Plos One* DOI:10.1371/journal.pone.0168662 December 20, 1-18.
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K., Bajpai, V.K., 2015b. Potassium Solubilizing Rhizobacteria (KSR); Isolation, Identification, and K-release Dynamics from Waste Mica. *Ecological Engineering*, 81, 340-347.
- Mercado-Blanco, J., Rodriguez-jurado, D., Herves, A., Jimenez-Diaz, R.M., 2004. Suppression of *Verticillium* Wilt in Olive Planting Stocks by Root-Associated Fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological Control*, 30,474-486.
- Metraux, J.P., 2001. Systemic acquired Resistance and Salicylic Acid Current State of Knowledge. *European Journal of Plant Pathology*, 107, 13-18.

- Montealegre, J., Reyes, R., Perez, L.M., Herrera, R., Silva, P., 2003. Selection of Bioantagonistic Bacteria to be Used in Biological Control of *Rhizoctonia solani* in Tomato, *Electronic Journal of Biotechnology*, 6 (2), 115-127.
- Montesinos, E., Bonaterra, A., Badosa, E., Frances, J., Alemany, J., Llorente, I., Moragrega, C., 2002. Plant-microbe Interactions and the New Biotechnological Methods of Plant Disease Control. *International Microbiology*, 5,169–175.
- Nandakumar, R., Babu, S., Viswanathan, R., Raguchander, T., Samiyappan, R., 2001. Induction of Systemic Resistance in Rice Against Sheath Blight Disease by *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biology and Biochemistry*, 23,603-612.
- Narayanasamy, P., 1997. *Plant Pathogen Detection and Disease Diagnosis*. 331.
- Nejad, P., Johnson, P.A., 2000. Endophytic Bacteria Induce Growth Promotion and Wilt Disease Suppression in Oil Seed Rape and Tomato. *Biological Control*, 18(3),208-215.
- Nielsen, M.T., Sorensen, J., Fels, J., Pedersen, H.C., 1998. Secondary Metabolite and Endochitinase Dependent Antagonism Toward Plant-Pathogenic Microfungi of *Pseudomonas fluorescens* Isolates from Sugar Beet Rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 3563-3569.
- Ogoshi, A., 1975. Grouping of *Rhizoctonia solani* Kühn. and Their Perfect Stages. *Review Plant Protection Research*, 8, 93-103.
- Ongena, M., Duby, F., Rossignol, F., Fouconnier, M.L., Dommes, J., Thonart, P., 2004. Stimulation of the Lipxygenase Pathway is Associated With Systemic Resistance Induced in Bean by a Nonpathogenic *Pseudomonas* Strain. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 17,1009-1018.
- Öz, M.H., Şahin, M., 1998. Erzincan Şartlarına Uygun Kuru Fasulye Çeşitlerinin Tespit Edilmesi Üzerine Araştırmalar. *Doğu Anadolu Tarım Kongresi*. Cilt 1, 506-512.

- Özyılmaz, Ü., 2007. *Aydın İlinde Çilek Kök Hastalıklarına Karşı Antagonist Bakterilerle Biyolojik Savaş*. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 145.
- Pal, K.K., 2006. *Biological Control of Plant Pathogens*. APS Net, The Plant Health Instructor DOI 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.
- Papavizas, G.C., Lewis, J.A., 1983. Physiological and Biocontrol Characteristic of Stable Mutants of *Trichoderma viride* Resistant to MBC Fungicides. *Phytopathology*. 73,407-411.
- Parke, J.L., Rand, R.E., Joy, A.E., King, E.B., (1991). Biological Control of *Pythium* Damping-off and *Aphanomyces* Root Rot of Peas by Application of *Pseudomonas cepacia* or *Pseudomonas fluorescens* to Seed. *Plant Disease* 75, 987-992.
- Patel, K.J., Vig, S., Nareshkumar, G., Archana, G., 2010. Effect of Transgenic Rhizobacteria Overexpressing *Citrobacter braakii* appA on phytate-P Availability to Mung Bean Plants. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20 (11), 1491-1499.
- Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Jurriaan, T., Parchmann, S., Mueller, M.J., Buchla, A.J., Metraux, J.P., Van Loon, L.C., 2000. Rhizobacteria Mediated Induced Systemic Resistance (ISR) in *Arabidopsis* Requires Sensitivity to Jasmonate and Ethylene But is not Accompanied by an Increase in Their Production. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 57, 123-134.
- Pieterse, C.M.J., Van Wees, S.C.M., Van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J., Van Loon, L.C., 1998. A Novel Signaling Pathway Controlling Induced Systemic Resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 10,1571–1580
- Porrás, M., Barrau, C., Romero, F., 2007. Effects of Soil Solarization and *Trichoderma* on Strawberry Production. *Crop Protection*, 26, 782-787.
- Ramamoorthy, V., Raguchander, T., Samiyappan, R., 2002. Enhancing Resistance of Tomato and Hot Pepper to *Pythium* Diseases by Seed Treatment With

- Fluorescent *Pseudomonads*. *European Journal of Plant Pathology*, 108, 429-441.
- Rezzonico, F., Zala, M., Keel, C., Duffy, B., Moënne-Loccoz, Y., Défago, G., 2007. Is the Ability of Biocontrol Fluorescent *Pseudomonads* to Produce the Antifungal Metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol Really Synonymous with Higher Plant Protection? *New Phytologist*, 173,861-872.
- Romero, A.M., Correa, O.S., Moccia, S., Rivas, J.G., 2003. Effect of Azospirillum-Mediated Plant Growth Promotion on The Development of Bacterial Diseases On Fresh-Market And Cherry Tomato. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 832–838.
- Ryu, C.M., Farag, M.A., Hu, C.H., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Pare, P.W., 2004. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 134,1017-1026.
- Saygılı, H., 1995. *Fitobakteriyoloji*. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bornova-İzmir, 208.
- Scherwinski, K., Grosch, R., Berg, G., 2008. Effect of Bacterial Antagonists on Lettuce: Active Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and Negligible, Short-term Effects on Nontarget Microorganisms. *FEMS Microbiology Ecology*, 64 (1), 106-116.
- Shanahan, P., O'sullivan, D.J., Simpson, P., Glennon, J.D., O'Gara, F., 1992. Isolation of 2,4-Diacetylphloroglucinol from a Fluorescent *Pseudomonas* and Investigation of Physiological Parameters Influencing Its Production. *Applied Environmental Microbiology*, 58(1), 353–358
- Shtienberg, T., Elad, Y., 2002. Is it Possible to Cope with Variability of Biological Control, IOBC/WPRS Bulletin, Seventh Meeting of the WG: Influence of A-Biotic and Biotic Factors on the Biocontrol Agents, Kusadası, Turkey, 19.
- Siddiqui, I.A., Qureshi, S.A., Sultana, V., Ehteshamul-Haque, S., Ghaffar, A., 2000. Biological Control of Root Rot-Root Knot Disease Complex of Tomato. *Plant and Soil*, 227, 163-169.

- Silva, H.S.A., Romerio, R.S., Macagnan, D., Halfeld, B.A., Pereira, M.C.B., Mounter, A., 2004, Rhizobacterial Induction of Systemic Resistance in Tomato Plants: Non-Specific Protection and Increase in Enzyme Activities, *Biological Control*, 29,288–295.
- Sippell, D.W., Hall, R., 1982. Effects of Pathogen Species, Inoculum Concentration, Temperature, and Soil Moisture on Bean Root Rot and Plant Growth. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 4, 1–7.
- Slezack, S., Dumas Gaudot, E., Rosendahl, S., Kjoller, R., Paynot, M., Negrel, J., Gianinazzi, S., (1999). Endoproteolytic Activities in Pea Roots Inoculated with the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus mosseae* and *Aphanomyces euteiches* in Relation to Bioprotection. *New Phytologist*, 142, 517-529.
- Smith, K.J., Huysen, W., 1987. *World Distribution and Significance of Soybean*. In. Ellis. R. H. (Ed.). Soybeans Improvement Production and Uses; Sec. Ed. Ed. J. R. Wilcox. Amer. Soc. of Agron. Madison. Wisconsin, 1-22.
- Smith, S.E., Read, D.J., 1997. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas. *Mycorrhizal Symbiosis*. (Editörs: Smith, E.S., D.J. Read, D.J.) *Academic Press*, London. 9-161.
- Smolinska, U., Kowalska, B., 2018. Biological control of the soil-borne fungal pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* review. *Journal of Plant Pathology*. 100,(1), 1–12.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş., Ekici, Ö.K., 2005. Antagonistic Potentials of Rhizosphere-Associated Bacterial Isolates Against Soil-Borne Diseases of Tomato and Pepper Caused By *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8, 43-48.
- Szczeczek, M., Shoda, M., 2004. Biocontrol of Rhizoctonia Damping-off of Tomato by *Bacillus subtilis* combined with *Burkholderia cepacia*. *Journal Phytopathology* 152, 549-556.

- Şahin, F., Çakmakçı, R., Kantar, F., 2004. Sugar Beet and Barley Yields in Relation to Inoculation with N<sub>2</sub>-Fixing and Phosphate Solubilizing Bacteria. *Plant Soil*, 265, 123-129.
- Tambong, J.T., Höfte, M., 2001. Phenazines are Involved in Biocontrol of *Pythium myriotylum* on Cocoyam by *Pseudomonas aeruginosa* PNA 1. *European Journal of Plant Pathology*, 107, 511-521.
- Tariq, M., Yasmin, S., Hafeez, F.Y., 2010. Biological Control of Potato Black Scurf by Rhizosphere Associated Bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 439-451.
- Tekin, Ş., 2004. *Farklı Biber Ekim Alanlarında Yetiştirilen Bitkilerin Rizosferlerinden İzole Edilen Antagonist Bakterilerin Bazı Fungal Patojenlerin Gelişimi Üzerine Etkinlikleri*. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 52.
- Turhan, O., 2010. *Çilekte Siyah Kök Çürüklüğü (Rhizoctonia solani Kühn.) Hastalığına Karşı Bazı Biyolojik Control Ajanlarının Etkileri*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 59.
- Ulukuş, İ., 1988. The Antagonistic Effect of a *Bacillus* sp. Against Some Bacterial and Fungal Plant Pathogens and Some Antagonistic Fungi. *The Journal of Turkish Phytopath.* 17 (3).
- Upadhyay, R.S., Jayaswal, R.K., 1992. *Pseudomonas cepacia* Causes Mycelial Deformities and Inhibition of Conidiation in Phytopathogenic Fungi. *Current Microbiology*, 24, 181-187.
- Van Loon, L.C., 1997. Induced resistance in plants and role of pathogenesis related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 753-765.
- Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., 1998. Systemic Resistance Induced by Rhizosphere Bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36, 453-483.



- Vessey, Kewin, J., 2003, Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biofertilizers, *Plant and Soil* 255, 571-586.
- Vestberg, M., Kukkonen, S., Saari, K., Parikka, P., Huttunen, J., Tainio, L., Devos, N., Weekers, F., Kevers, C., Thonart, P., Lemoine, M.C., Cordiwe, C., Alabouvette, C., Gianinazzi, S., 2004. Microbial Inoculation for Improving the Growth and Health of Micropropagated Strawberry. *Applied Soil Ecology*. 27, 243-258.
- Vural, Ç., 2008. *Hatay İli Fasulye Ekim Alanlarında Karşılaşılan Fungal ve Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay, 49.
- Walsh, U.F., Morrissey J.P., O’Gara, F., 2001. *Pseudomonas* for Biocontrol Phytopathogens: From Functional Genomics to Commercial Exploitation. *Current Opinion in Biotechnology*, 12, 289-295.
- Watson, A., 2009. *Soil-Borne Diseases of Beans*. PRIMEFACT 586, ISSN 1832-6668, 1-6.
- Wei, G., Kloepper, J.W., Tuzun, S., 1996. Induction of Systemic Resistance to Cucumber Diseases and Increases Plant Growth by Plant 167 Growth-Promoting Rhizobacteria Under Field Conditions. *Phytopathology*, 86,221-224.
- Weller, D.M., 1988. Biological Control of Soilborne Plant Pathogens in the Rhizosphere With Bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26, 379-407.
- Willetts, H.J., Wong, J.A.L., 1980. The Biology of *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. trifoliorum*, and *S.minor* with Emphasis on Specific Nomenclature. *Botanical Review*, 46,101-165.
- Wilson, P.S., Ahvenniemi, P.M., Lehtonen, M.J., Kukkonen, M., Rita, H., Valkonen, J.P.T., 2008. Biological and Chemical Control and Their Combined Use to Control Different Stages of the *Rhizoctonia* Disease Complex on Potato Through the Growing Season. *Annals of Applied Biology*. 153, 281-416.

- Yanar, Y., Yılmaz, G., Coşkun, Ş., Çeşmeli, İ., 2005. Patates Çeşitlerinin *Rhizoctonia solani* Kühn'nin Neden Olduğu Siyah Kabukluluk Hastalığına Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi. *Gazi Osmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (2), 19-22.
- Yılmaz, Ş., 2008. *Domates Bitkilerinde Sorun Toprak Kökenli Bazı Fungal Hastalık Etmenleri İle Mücadelede Kök Bakterilerinin Kullanılma Potansiyellerinin Belirlenmesi*. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 71.
- Yılmaz, E., Yazgan, A., 1998. Farklı Yörelere Ait Dermason Fasulye Tiplerinin Kuru Dane Verimlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. *II. Sebze Tarımı Sempozyumu*, Tokat, 213-216.
- Yiğit, F., 2005. Bitki Patojenlerinin Kontrolünde Kullanılan Biyokontrol Ürünler Ve Özellikleri. *Selçuk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19 (36), 70-77.
- Yoshida, S., Hiradate, S., Tsukamoto, T., Hatakeda, K., Shirata, A., 2001. Antimicrobial Activity of Culture Filtrate of *Bacillus Amyloliquefaciens* RC-2 Isolated From Mulberry Leaves. *Phytopathology*, 91, 181-187.
- Zaki, K., Kersten, H., 1998. Control of Cotton Seedling Damping-off in the Field by *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. *Plant Disease*, 82,291-293.
- Zengin, H., 1998. Erzincan Fasulye Ekim Alanlarında Görülen Yabancı Otlar ve Dağılımları. *II. Sebze Tarımı Sempozyumu*, Tokat, 320-325.

## ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Ağrı ili Eleşkirt ilçesi Yağmurlu Eyüp Komu köyünde dünyaya geldi. İlköğretimini Eleşkirt Yatılı İlköğretim Bölge Okulu'nda, Orta öğretimini Isparta Atabey Lisesi'nde birincilikle tamamladı. Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde lisans eğitimini 2010 yılında tamamladı. 2012 yılında Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji bölümünde yüksek lisansa başladı ve bu eğitimi halen devam etmektedir. 2011-2014 yılları arasında Iğdır ili Aralık İlçe Gıda Tarım Ve Hayvancılık Müdürlüğü'nde çalıştıktan sonra 2014 yılından itibaren Ağrı Ziraî Karantina Müdürlüğü'nde çalışmaktadır.