

**TOHUMLUK ŞEKER PANCARI
ÜRETİMİNDE BİYOKONTROL
ETMENİ OLARAK
MİKROORGANİZMALARIN
KULLANILABİLİRLİĞİ**

Mehmet Salih DAĞ
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı
AĞustos-2006

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Mehmet Salih Dağ'ın "Tohumluk Şeker Pancarı Üretiminde Biyokontrol Etmeni Olarak Mikroorganizmaların Kullanılabilirliği" başlıklı **Biyoloji** Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 31.07.2006 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. MERİH KIVANÇ
Üye	: Prof. Dr. AHMET ASAN
Üye	: Prof. Dr. KIYMET GÜVEN
Üye	: Prof. Dr. ENGİN KINACI
Üye	: Yrd. Doç. Dr. MUSTAFA YAMAÇ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET
Yüksek Lisans Tezi
TOHURLUK ŞEKER PANCARI ÜRETİMİNDE
BİYOKONTROL ETMENİ OLARAK
MİKROORGANİZMALARIN KULLANILABİLİRLİĞİ

Mehmet Salih DAĞ
Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Merih KIVANÇ

2006, 85 sayfa

Günümüzde patojen mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için kimyasal ilaç kullanımı yaygınlaşmış buna paralel olarak mikroorganizmaların kimyasal ilaçlara direnç kazanmaları da artmıştır. Birçok kimyasal ilacın kullanılmasından istenilen sonuçların alınamaması nedeniyle patojenlerin kontrolünde etkili ve bitkilere zararsız olan biyolojik mücadelenin kullanımı büyük önem kazanmıştır. *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve Aktinomiset türleri ile *Trichoderma* spp. biyokontrol ajanı olarak kullanılan antagonistler arasındadır. Bu çalışmada, topraktan izole edilen diğer fungusların yanı sıra mikrobiyoloji laboratuvarında daha önce izole edilmiş olan *Trichoderma harzianum* izolatlarının, *Fusarium* spp. B2 ve B2-1 izolatlarına etkileri incelenmiştir. İnhibisyon deneylerinde, *Trichoderma harzianum*'un 12 farklı izolatu (T15, T4D, Tm2, Tm4A Tm7, Tm8D, Tm10, Tm11, Tm8B, Tm18, Tm20, Tm22) ile toprak kökenli bitki patojenleri olan *Fusarium* sp.'nin 2 farklı izolatu olan B2 ve B2-1 kullanılmıştır. *Trichoderma harzianum*'un en yüksek inhibisyon değeri T15 izolatu ile elde edilmiş ve tohumluk şeker pancarı fidelerinde *Fusarium* spp.'den kaynaklanan çürümelere engellemeye karşı test edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Trichoderma harzianum*, *Fusarium* spp., Biyokontrol, Patojen, Antagonist

ABSTRACT**Master of Science Thesis****AVAILABILITY OF MICROORGANISMS
AS BIOCONTROL AGENT IN BREEDING OF SUGAR BEET
THAT IS SUITABLE FOR SEED****Mehmet Salih DAĞ****Anadolu University
Graduate School of Sciences
Biology Program****Supervisor: Prof. Dr. Merih KIVANÇ
2006, 85 pages**

Because of the increasing rate of chemical usage against pathogenic microorganisms, some of the strains are getting resistant to the chemicals in use. On account of the fact that many chemicals are not effective, it has become important to use a biocontrol method that is effective in the control of pathogenic organisms and which is harmless for plants. *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Actinomyces* and *Trichoderma* spp. are some antagonistic substances which are used as biocontrol agents. In this study, we observed the effects of some fungus that were isolated from the soil and *Trichoderma harzianum* strains which are previously isolated on *Fusarium* spp. B2 and B2-1 strains at our laboratory (A.U. Faculty of Sciences, Dept. of Biology, Microbiology Lab). At inhibition tests; 12 different strains of *Trichoderma harzianum* (T15, T4D, Tm2, Tm4A, Tm7, Tm8D, Tm10, Tm11, Tm8B, Tm18, Tm20, Tm22) and two different isolate of soil originated *Fusarium* sp. (B2 and B2-1) were used. The highest value of inhibition for *Trichoderma harzianum* was obtained by using T15 isolate which was tested to avoid rots caused by *Fusarium* spp. on sugar beet seedlings in our experimental studies.

Keywords: *Trichoderma harzianum*, *Fusarium* spp., Biocontrol, Pathogen,
Antagonist

TEŞEKKÜR

Kimyasal ilaçların kullanımının her geçen gün artmasına paralel olarak mikroorganizmaların bunlara karşı artan bağışıklıkları, zararsız olan biyolojik mücadelenin kullanımını kaçınılmaz hale getirmiştir. Mikroorganizmaların biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabilirliğinin araştırılmasında ve yüksek lisans tezimin hazırlanmasında değerli yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Merih Kıvanç'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Prof. Dr. Ahmet Asan'a kültürlerin temini ve *Fusarium* sp. izolatlarının tanımlanmasında yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Eskişehir yöresinde ekili pancar tarlalarında hastalık görülen alanlardan alınan toprak örnekleri için, Eskişehir Şeker Fabrikasında görevli Ziraat Yüksek Mühendisi Nedim Sayoğlu'na katkılarından dolayı teşekkür ederim.

T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Eskişehir Orman Toprak ve Ekoloji Araştırmaları Enstitüsü Müdürlüğü'nün toprak analiz laboratuvarında, kullandığımız toprakların kimyasal analizlerini yapan Kimya Teknikeri Salim Türkel'e teşekkür ederim.

Denemelerimde kullandığım fidelerin temininde ve tarla çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen KWS Türk Tarım Tic. A.Ş.'den Genel Müdürü Ahmet Kadir Özyer, Genel Müdür Yrd. Dr. Veli Girgin, Pancar Tohumu Üretim ve İşleme Müdürü Fahri Öz, Mısır Tohumu Üretim Müdürü Mustafa Balta, Amasya Suluova Bölge Müdürü Mustafa Doğan Kaya, Amasya Suluova Bölgesi Üretim Şefi Alpaslan Akın'a teşekkür ederim.

Mikrobiyoloji laboratuvarındaki çalışmalarımda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Uzm. Erdoğan Çakır, Araş. Gör. M. Burçin Mutlu ve Araş. Gör. Rasime Demirel'e, ayrıca; Uzm. Mustafa Karakaş'a teşekkür ederim.

İyi günümde olsun, kötü günümde olsun; maddi ve manevi desteklerini bir an olsun benden esirgemeyen Sevgili Aileme teşekkürü bir borç bilirim.

Mehmet Salih DAĞ

Ağustos 2006

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Biyolojik mücadelede genel prensipler.....	4
1.2. Biyolojik mücadelenin avantaj ve dezavantajları.....	4
1.2.1. Biyolojik mücadelenin avantajları.....	4
1.2.2. Biyolojik mücadelenin dezavantajları.....	5
1.3. Biyokontrol ajanlarında aranan özellikler.....	5
1.4. Biyokontrol ajanlarının etkinliğini belirleyen faktörler.....	6
1.5. Biyolojik savaşta başlangıç süreci.....	7
1.5.1. Bitkiye ait etkenler.....	8
1.5.2. Zararlıya ait etkenler.....	9
1.5.3. Doğal düşmana ait etkenler.....	9
1.5.4. Çevreye ait etkenler.....	9
1.6. Canlı hastalık etmenleri.....	9
1.6.1. Bakteriler.....	10
1.6.1.1. Bakterilerin biyolojik ve ekolojik özellikleri.....	10
1.6.1.2. Bakterilerin bulaşma ve yayılmaları.....	10
1.6.2. Mantarlar.....	10
1.6.2.1. Mantarların biyolojik ve ekolojik özellikleri.....	11
1.6.2.2. Mantarların bulaşmaları ve yayılmaları.....	11
1.6.2.3. Fungal hastalıkların genel kontrolleri.....	14
1.7. Cansız hastalık etmenleri.....	15
1.7.1. Hava kirliliği.....	15

1.7.2. Toprak ve su kirliliği.....	16
1.7.3. Sıcaklık faktörü.....	16
1.8. Şeker pancarı tarımı ve şeker pancarı hastalıkları.....	17
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19
2.1. Materyal.....	19
2.1.1. Kullanılan test mikroorganizmaları.....	19
2.1.2. Kullanılan test bitkisi.....	19
2.1.3. Kullanılan besiyerleri ve kimyasal maddeler.....	19
2.1.3.1. Patates dekstroz agar (Merck).....	19
2.1.3.2. Kullanılan çözümler.....	20
2.1.3.3. Czapek-dox agar.....	20
2.1.3.4. Nutrient agar (Fluka).....	21
2.1.3.5. Ashby besiyeri.....	21
2.1.3.6. Yeast malt extract agar.....	21
2.1.3.7. Winogradsky's Nitrogen-free Mineral Medium.....	22
2.1.3.8. <i>Trichoderma</i> selective medium.....	22
2.1.3.9. <i>Fusarium</i> selective medium.....	23
2.1.3.10. Plate count agar (Fluka).....	23
2.1.3.11. Starch casein nitrate agar.....	24
2.1.3.12. Cetrimide agar.....	24
2.2. Yöntem.....	25
2.2.1. Topraktan mikroorganizmaların izolasyonu.....	25
2.2.2. Patojenlere karşı topraktan izole edilen izolatların etkilerinin belirlenmesi.....	26
2.2.3. Mikroorganizmaların tanımlanması.....	27
2.2.4. Topraktan izole edilen <i>Bacillus</i> sp., <i>Azotobacter</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp. izolatlarının antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi.....	28
2.2.5. <i>Trichoderma harzianum</i> izolatlarının <i>Fusarium</i> B2 ve B2-1'e karşı inhibisyon testleri.....	28
2.2.6. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un seradaki uygulamaları.....	29
2.2.7. Fide aşılamaalarının hazırlanması.....	30

2.2.8. Kullanılan sera ve tarla toprağındaki mikroorganizma sayısı.....	33
3.BULGULAR.....	34
3.1. Toprakтан izole edilen izolatların patojenlerin gelişimine olan etkileri....	34
3.1.1. Toprakтан izole edilen aktinomiset izolatlarının patojenlerin gelişimine olan etkileri.....	34
3.1.2. Toprakтан izole edilen <i>Azotobacter</i> spp. izolatlarının patojenlerin gelişimine olan etkileri.....	36
3.1.3. Toprakтан izole edilen <i>Bacillus</i> spp. izolatlarının patojenlerin gelişimine olan etkileri.....	38
3.1.4. Toprakтан izole edilen <i>Pseudomonas</i> spp. izolatlarının patojenlerin gelişimine olan etkileri.....	39
3.1.5. <i>T. harzianum</i> izolatlarının bitki patojenlerinin gelişimine olan etkileri.....	39
3.2. İzolatların tanımlanması.....	42
3.3. Sera koşullarında <i>T.harzianum</i> uygulamaları.....	45
3.4. Tarla koşullarında <i>T.harzianum</i> uygulamaları.....	53
3.5. Toprakтан izole edilmiş olan izolatların antibiyotik dirençleri.....	64
4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	66
4.1. Patojenlere karşı izole edilmiş olan izolatların biokontrol ajanı olarak kullanılması.....	66
4.2. Fungal inhibisyon.....	69
4.3. <i>Trichoderma harzianum</i> ile sera ve tarla denemeleri.....	71
KAYNAKLAR.....	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

1. Biyolojik savaşta başlangıç süreci.....	7
2. Petri kutusunda mikroorganizma–patojen inhibisyon uygulanması.....	26
3. Sera tesadüf parselleri deneme deseni.....	30
4. Tarla tesadüf parselleri deneme deseni.....	32
5. Akt 16-2,12-2 izolatlarının <i>Fusarium culmorum</i> 'a karşı inhibisyonları.....	35
6. Akt 16-2 izolatının <i>Fusarium solani</i> ve <i>Fusarium oxysporum</i> 'a karşı inhibisyonları.....	35
7. Azo Tarla 26 izolatının <i>Fusarium solani</i> 'ye karşı inhibisyonları.....	37
8. Azo Tarla 11 izolatının <i>Fusarium culmorum</i> ve <i>Fusarium moniliforme</i> 'ye karşı inhibisyonları.....	37
9. B16 izolatının <i>Fusarium solani</i> 'ye karşı inhibisyonu.....	39
10. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un T15 izolatının <i>Fusarium B2</i> 'yi inhibisyonu.....	40
11. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un T15 izolatının <i>Fusarium B2-1</i> 'i inhibisyonu.....	41
12. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un Tm20 izolatının <i>Fusarium B2</i> 'yi inhibisyonu.....	41
13. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un Tm20 izolatının <i>Fusarium B2-1</i> 'i inhibisyonu.....	42
14. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un T15 izolatı.....	46
15. <i>Fusarium</i> sp. B2 izolatı.....	46
16. <i>Fusarium</i> sp. B2-1 izolatı.....	47
17. T15 ile aşılınmış saksılar.....	50
18. B2 ile aşılınmış saksılar.....	50
19. B2-1 ile aşılınmış saksılar.....	51
20. T15 ve B2 ile aşılınmış saksılar.....	51
21. T15 ve B2-1 ile aşılınmış saksılar.....	52

22. Kontrol grubu olan saksılar.....	52
23. <i>Trichoderma harzianum</i> 'un T15 izolatının mikroskop görüntüsü.....	54
24. <i>Fusarium</i> sp. B2 izolatının mikroskop görüntüsü.....	54
25. <i>Fusarium</i> sp. B2-1 izolatının mikroskop görüntüsü.....	55
26. Suluova deneme tarlası ekimden önce genel görünüm.....	59
27. Targi deneme tarlası ekimden önce genel görünüm.....	59
28. Suluova deneme tarlası aşılınmış fide ekim çalışmaları.....	60
29. Targi deneme tarlası aşılınmış fide ekim çalışmaları.....	60
30. T15 ile aşılınmış fideler.....	61
31. B2 ile aşılınmış fideler.....	61
32. B2-1 ile aşılınmış fideler.....	62
33. T15 ve B2 ile aşılınmış fideler.....	62
34. T15 ve B2-1 ile aşılınmış fideler.....	63
35. Kontrol grubu olan fideler.....	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.8.	Şeker pancarında ekonomik önemi olan bazı mantar türlerinin sebep oldukları hastalıkların Türkçe isimleri.....	18
3.1.1.	Topraktan izole edilen Aktinomiset izolatlarının patojen fungusların gelişimlerine olan etkilerinin belirlenmesi.....	34
3.1.2.	Topraktan izole edilen <i>Azotobacter</i> spp. izolatlarının patojen fungusların gelişimlerine olan etkilerinin belirlenmesi.....	36
3.1.3.	Topraktan izole edilen <i>Bacillus</i> spp. izolatlarının patojen fungusların gelişimlerine olan etkilerinin belirlenmesi.....	38
3.1.5.	<i>T.harzianum</i> izolatlarının %RI (inhibisyon) değerleri.....	40
3.2a.	<i>Pseudomonas</i> izolatlarının test sonuçları.....	43
3.2b.	Etkili olan <i>Azotobacter</i> izolatlarının test sonuçları.....	43
3.2c.	Etkili olan <i>Bacillus</i> izolatlarının Vitek test sonuçları.....	44
3.3a.	Sera koşullarında tohumluk şeker pancarı fidelerine uygulanan T15 izolatı ile patojenlerin etkileşimleri.....	48
3.3b.	Sera koşullarında kullanılan toprakların analiz sonuçları.....	49
3.4a.	Suluova deneme tarlasında tohumluk şeker pancarı fidelerine uygulanan T15 izolatı ile patojenlerin etkileşimleri.....	56
3.4b.	Targi deneme tarlasında tohumluk şeker pancarı fidelerine uygulanan T15 izolatı ile patojenlerin etkileşimleri.....	57
3.4c.	Tarla koşullarında kullanılan toprakların analiz sonuçları.....	58
3.5a.	Antibiyotik disklerinin <i>Bacillus</i> sp. izolatlarına etkileri.....	64
3.5b.	Antibiyotik disklerinin <i>Pseudomonas</i> sp. izolatlarına etkileri.....	64
3.5c.	Antibiyotik disklerinin <i>Azotobacter</i> sp. izolatlarına etkileri.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

EZE	: Ekonomik zarar eşiği
Bkz.	: Bakınız
RI	: İnhibisyon değeri (%)
R ₁	: Antagonistin patojen yönündeki büyüme çapı
R ₂	: Antagonist ile patojenin aşılama durumları arasındaki mesafe
Fe	: Demir
Spor/ml	: 1ml'deki spor sayısı
NaOH	: Sodyum hidroksit
HCl	: Hidroklorik asit
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
µg	: Mikrogram

1.GİRİŞ

Bitki hastalıklarıyla mücadele, tarımsal üretim sisteminin önemli unsurlarından biridir. Bitki hastalıklarından kaynaklanan ürün kaybını en aza indirmek için ağırlık kazanmış yöntem kimyasal savaşımdır. Kimyasal savaşım, uygulaması basit ve kısa sürede sonuç alınan bir yöntemdir. Ancak bu yöntemde bir problem çözülürken diğer birçok problem ortaya çıkmaktadır. Bitki hastalıkları açısından ortaya çıkan problemler; yeni hastalıkların teşviki veya daha sık olarak önceden var olan hastalığın şiddetlenmesi ve dayanıklılıktır. Ayrıca çevre ve insan sağlığına vermiş olduğu zarar ve ekonomik kayıp gibi sorunlar, bu yöntemin dezavantajıdır. Bu ve buna benzer sorunlar, 1921'den başlayan ve günümüze kadar gelen biyolojik kontrol fikrinin önemini ortaya koymaktadır [1].

Kimyasal bileşiklerin doğal dengeyi bozucu mahiyetteki etkisi ve bu dengeye zararı, diğer bütün faktörlerden daha fazladır. Çünkü bunlar, faydalı türlere, hem doğrudan öldürerek, hem de –konukçularını öldürmeleri dolayısıyla- besin kaynaklarını ortadan kaldırarak zarar verdirirler [2]. Ayrıca devamlı ve bilinçsiz kimyasal bileşik kullanımı sonucu zararlılar bu bileşiklere karşı dayanıklılık kazanırlar. Yararlıların dayanıklılık kazanma özellikleri olmadığından kullanılan kimyasal bileşikler yararlıları öldürürken, zararlıların kazandıkları dayanıklılık nedeniyle onları öldürmezler. Bunun sonucu da zararlı popülasyonu hızla artar, yararlılar ortadan kalkmış olurlar [8]. Bu bakımdan, bütün dünyada kimyasal mücadele yerine kullanılmaya çalışılan biyolojik mücadelenin hızlı gelişme gösterdiğine şahit olmaktayız [2].

Biyolojik mücadeleyi asıl önemli kılan; ekosistemle dengesini bozmaması ve zararlı türler karşısında kalıcı ve dinamik bir engel vücuda getirmesidir. Biyolojik mücadelenin üstünlüğü bu ikisini bir arada sağlayabilmesinden ileri gelmektedir. Bu özellik diğer mücadele yöntemlerinde bulunmaz [2].

Bitki hastalık ve zararlıları, insan ve hayvanlarda görülen hastalık ve zararlılardan çok daha fazla sayıda olmakta ve bitkiler, insan ve hayvanlara oranla daha fazla hastalıklara yakalanabilmektedir. İnsan ve hayvanlar ile bitkilerde görülen hastalık ve zararlılar arasındaki bu farklılık araştırmacılarca,

bitkilerin dış yüzey alanlarının çoğunlukla hayvan ve insanlara oranla daha fazla olmasına, bitkilerin hareketsizliğine ve bitkilerin kötü çevre koşullarından kendilerini koruyacak yardımcı araçlara sahip olmamalarına bağlanmaktadır. Örneğin kültür bitkisi olarak sadece buğday bitkisinde 187 adet değişik etmenin hastalık meydana getirebilmekte olması, bu duruma çarpıcı bir kanıt olarak gösterilebilir [9].

Bugün ülkemizde 60'ın üzerinde değişik kültür bitkisi yetiştirilmekte ve bu bitkiler üzerinde zarar meydana getirebilen 300'den fazla hastalık etmeni tespit edilmiş durumdadır. Bu hastalık etmenlerinden 50 civarındakilerin çeşitli kültür bitkilerinde zaman zaman ekonomik düzeyde zarar yapabildiği bilinmektedir [9].

Tüm ülkelerde, yetiştirilen tarımsal ürünler, bitki zararlıları, hastalık etmenleri ve yabancı otlar tarafından zarara uğratılmaktadır. Yapılmış olan araştırmalar, tarımsal ürünlerin yaklaşık % 35'inin zararlılar, hastalık etmenleri ve yabancı otlar tarafından kayba uğratıldığını göstermiştir. Bu oran içerisinde, hastalık etmenleri ve yabancı otlardan dolayı meydana gelen toplam kayıp oranı, zararlılardan dolayı meydana gelen kayıplardan daha yüksek olmaktadır [9].

Bitki hastalık etmenlerine, zararlılarına ve yabancı otlara karşı canlı organizmalar kullanılarak onları öldürmek, olağanüstü çoğalmalarını önlemek veya popülasyonlarını ekonomik zarar eşiğinin altına düşürmek için uygulanan tüm yöntemlere “Biyolojik Mücadele” denilmektedir [9]. Kullanılan organizmalara ise “Biyokontrol Ajansı” adı verilmektedir. Funguslar, bakteriler, virüsler ve aktinomisetler olmak üzere birçok canlı organizma grubu biyokontrol ajanı olarak kullanılabilir. Bugüne kadar değişik araştırmacılar tarafından farklı potansiyelde biyokontrol ajanları tespit edilmiştir [1].

Mikroorganizmaların neden olduğu hastalıklar, infeksiyonla başlar ve mikroorganizmanın hasta veya ölü bitkide üremesiyle son bulur. Zararlı, bir organizma ya da bir etmen iken, hastalık iki etmen ya da organizmanın interaksyonu sonucu oluşur (bitki ve patojen). Bitkilerde görülen hastalıkların bazıları bitkilerin patojenlere reaksiyonuna göre (sarı cücelik, çizgi gibi) adlandırılırken, bazıları da bitkilerde hastalığın görüldüğü kısım ya da organlara göre hastalık dokularına göre (kök çürüklüğü, yaprak lekesi, başak yanıklıkları)

adlandırılır [3,6]. Hastalığın, patojen ve duyarlı konukçu arasındaki sürekli ilişkiler sonucunda tanımlanabilir simptomların oluşmasıyla meydana geldiği saptanmıştır [4]. Hastalıkların kontrol altına alınması hem bitkinin hem de bitki sağlığını etkileyen etmenlerin göz önünde bulundurulmasını gerektirmektedir [5,6].

Kimyasal mücadele sonucu zararlılar bu bileşiklere karşı bağışıklık kazanmakta ve her sefer daha fazla ilaç kullanımını gerektirmenin yanısıra, ilaçlar etkisini kaybettiği için istenilen sonuç alınamamakta ve çevre kirliliği meydana gelmektedir. Ayrıca zararlılar kimyasal maddelere karşı dayanıklılık kazandıkları için biyolojik mücadeleden başka bir çözüm yolu kalmamaktadır. Biyolojik mücadelede ise zararlıların böyle bağışıklık kazanması gibi bir durum söz konusu değildir [2].

Değişen ekolojik şartlara sahip ortamlardaki çevre şartları biyolojik kontrol organizmalarının hayatta kalması, popülasyonlarının gelişebilmesi için genellikle uygun olmamaktadır. Zorunlu olarak tek bir türle yapılan biyolojik kontrol, çoğu üründe değişik mikroorganizmaların bulunmasından dolayı genellikle yeterli sonuç vermemektedir [3, 35]. Bununla birlikte, biyolojik kontrol kimyasal mücadelenin mümkün olmadığı birçok durumda da başvurulabilecek etkili bir yol olarak gözükmektedir. Ayrıca fazla masraf gerektirmemektedir. Biyokontrol ajanları olarak kullanılan mikroorganizmalar kimyasal ilaçlar gibi ortamda birikip, toksisite oluşturmamaktadır. Birçoğu da, insanlar üzerinde patojen olmadığı için insanlara zarar vermemekte ve her şeyden önemlisi çevreyi kirletmemektedir. Tarımsal zararlılar için kullanılan pestisidler ve organik kimyasalların çeşitli bitki ve hayvanlarda depolanarak, besin zinciri yolu ile insanlara ve diğer canlılara toksik etki yapması, yine bu kimyasalların doğada parçalanmasının zor olması biyokontrol ajanı olarak mikroorganizmaların kullanımını gündeme yerleştirmektedir. Bu amaçla kullanılacak ajanların spesifik, güvenilir, stabil ve ekonomik olması gerekmektedir [35]. Buradan hareketle, Tohumluk Şeker Pancarı'nda büyük ekonomik zarara neden olan *Fusarium*'lara karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılacak mikroorganizmaları araştırmak amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir.

1.1. Biyolojik Mücadelede Genel Prensipler

Biyolojik mücadelede genel prensip; zararlı üzerinde az veya çok etkisi bulunan bütün doğal düşman popülasyonlarının korunması, güçlendirilmesi ve gerekirse ithal edilen türlerle takviye edilmesi istikametinde çalışmaktır. Buna göre, zararlılara karşı yapılan biyolojik mücadelenin esaslarını üç noktada toplayabiliriz:

- Doğal düşman popülasyonlarının korunması,
- Doğal düşman popülasyonlarının artırılması,
- Yabancı türlerin ithal edilmesi.

Bu üç yöntem, aynı zamanda bir zararlıya karşı uygulanacak biyolojik mücadelenin aşamalarını teşkil eder. Bu safhalar birbirinden ayrı düşünülmemelidir. Çünkü, bunlar birbirinin tamamlayıcısı durumundadır [11].

1.2. Biyolojik Mücadelenin Avantaj ve Dezavantajları

Biyolojik mücadeleye başvurulduğunda kimyasal mücadelenin yol açtığı bütün olumsuz etkilerden kaçınmak ve zararlı türler üzerinde kalıcı kontrol sağlamak mümkün olmaktadır. Bununla birlikte, biyolojik mücadelenin avantajları olduğu gibi, bunun yanı sıra, bazı dezavantajlı yanları da olduğu bilinmekte ve bunun gerek planlamacı ve gerekse uygulayıcılar tarafından ifade edilmektedir [2].

1.2.1. Biyolojik Mücadelenin Avantajları

Biyolojik mücadelenin, diğer mücadele yöntemlerine nazaran avantajları ve üstün yanları şu şekilde özetlenebilir:

Yan ve art etkilerinin olmayışı; biyolojik mücadele sebebiyle insan, hayvan, bitki ve faydalı organizmalarda herhangi bir zarar meydana gelmemektedir [2].

En az masrafla en iyi sonucun alınabilmesi; düşük maliyetle yüksek oranda kontrolün sağlanması, biyolojik mücadelenin bir başka avantajıdır [2].

Devamlı etki / etkisini idame özelliği; kullanılan organizmanın faydalı etkisi, zararlı türün populasyon yoğunluğu normale ininceye ve ekosistemde denge durumu oluşuncaya kadar azalmaksızın, hatta artarak sürmektedir [2].

Zararlılarda dayanıklılık ve bağışıklığa yol açmaması; biyolojik kontrol çalışmalarında, pestisit kullanımı sonunda ortaya çıkabilen dayanıklılık ve bağışıklık kazanma probleminin veya sekonder zararlı türlerin ekonomik zararlı hale gelme riskinin olmayışı da biyolojik mücadelenin diğer bir avantajıdır [2].

Dolaylı faydalar sağlaması; biyolojik kontrol elemanları, konukçuyu direkt olarak öldürmekten başka; üreme gücünü azaltma, gelişimde dengesizlikler yaratma, parazitoit-predatör ve abiyotik faktörlere karşı zararlının direncini kırma veya hassasiyet oluşturma gibi dolaylı sonuçlar doğurmak suretiyle de ayrıca fayda sağlarlar [2].

1.2.2. Biyolojik Mücadelenin Dezavantajları

Biyolojik mücadele uygulamalarının avantajları yanında bazı dezavantajları da vardır. Bu dezavantajlar şunlardır:

Esaslı bilgi istemesi; biyolojik mücadele, geniş çapta, esaslı ve detaylı bilgi sahibi olmayı gerektirir. Biyolojik mücadelede başarı için özellikle iyi bir biyoloji ve ekoloji bilgisi şarttır [2].

Başlangıçta risk taşıması; biyolojik mücadele, başlangıçta belli bir zararı (Başlangıç riski) göze almayı gerektirir [2].

Neticenin geç alınması; biyolojik mücadelede başarı, diğerlerine göre daha geç elde edilir. Bu da uygulayıcıyı sabırlı olmaya zorlar ve belli bir süre beklemesini gerektirir [2].

1.3. Biyokontrol Ajanlarında Aranılan Özellikler

Bir doğal düşmanın biyolojik savaş etmeni olarak başarılı bir şekilde kullanılabilmesi için bazı özelliklere sahip olması gerekir. Aşağıda belirtilecek

özelliklerin çoğuna veya tümüne sahip olan bir doğal düşman o oranda başarılı bir biyolojik savaş etmenidir [8].

1. Biyokontrol ajanı sıcaklık, nem ve diğer fiziksel faktörlere karşı hoşgörülü olabilmelidir.

2. Biyokontrol ajanı konukçusu zararlıya her bitki üzerinde saldırabilmelidir.

3. Biyokontrol ajanının konukçu spektrumu dar, diğer bir deyişle konukçu dizisi az olmalıdır. Bu arada doğal düşmanın mümkün olduğu kadar spesifik olması istenmektedir.

4. Biyokontrol ajanının biyolojisi, konukçusunun biyolojisi ile iyi uyuşmalı ve besine ihtiyaçları olduğu dönemlerde konukçusu kritik dönemlerde olmamalıdır.

5. Biyokontrol ajanı konukçusu zararlıyı arayıp bulma özelliğinde olmalıdır.

Bu özellikler, biyokontrol ajanlarının düşük populasyonlarda olması halinde de mevcut olmalıdır [8].

1.4. Biyokontrol Ajanlarının Etkinliğini Belirleyen Faktörler

İçinde biyokontrol ajanlarının da bulunduğu ekosistemde onların etkin olmasını engelleyen faktörler vardır. Bunları tanımanın biyokontrol ajanların aktivitelerini arttırıcı tedbirlerin alınabilmesi bakımından yararı vardır.

1. **İklim:** İklim hem zararlı hem de onun konukçusu bitki için uygun olabilir. Fakat aynı iklim bir doğal düşmanın etkililiğini engelleyen faktör de olabilir.

2. **Hayat dönemlerindeki uyumsuzluk:** Uyumsuzluk çoğu zaman iklim yüzünden olur.

3. **Konukçu uygunluğu:** Konukçu iriliği, yoğunluğu, bulunduğu yer, konukçunun yakalanabilirliği ve konukçu bitkinin cinsi etkinliğe etki eden faktörlerdendir.

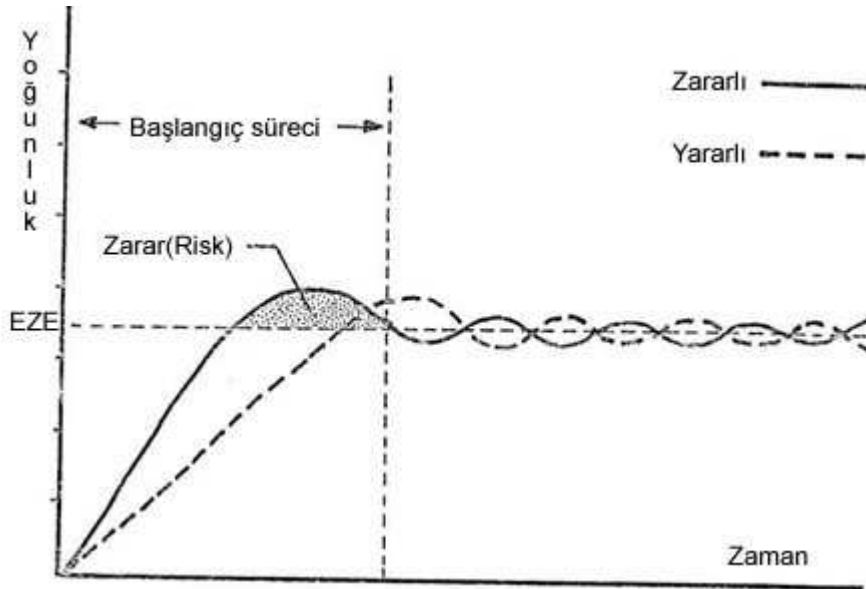
4. **Alternatif konukçu:** Hedef zararlının bulunmadığı zamanlarda doğal düşmanlar varlıklarını sürdürebilmeleri için alternatif konukçularla vakit geçirebilmelidirler.

5. **Doğal düşman rekabeti:** İki veya daha fazla yararlı tür arasındaki rekabet doğal düşmanların etkinliğini azaltır.

6. **Pestisitler:** Selektif olmayan pestisitlerin kullanılması doğal düşmanların etkilerine onların popülasyonlarının azalması veya yok olması nedeniyle olumsuz yönde etki eder [8].

1.5. Biyolojik Savaşta Başlangıç Süreci

Biyolojik savaşta temel düşünce öncelikle türlerin korunmasıdır. Böylece etmen olacak canlının varlığı korunmuş, sonra bunun işlevinden amaca uygun biçimde yararlanılmış olur. Bu olgunun oluşabilmesi için şüphesiz belirli bir kesintisiz zaman sürecine ihtiyaç vardır. Bu süreç içinde tür korunur, popülasyonu gelişir, yoğunluğu artar ve nihayet etmen olarak zararlı tür aleyhine işlevini arttırarak ekonomik düzeyde yararlı olmaya başlar (Şekil 1). İşte sistemin oluşması, ekonomik düzeyde işlevine başlaması için gerekli olan bu süreye **başlangıç süreci** adı verilebilir. Biyolojik savaş çalışmalarında bu süreç oldukça önemli olup biyolojik savaş çalışmalarının başarısında büyük rolü vardır [8].



Şekil 1. Biyolojik savaşta başlangıç süreci

Başlangıç süreci aynı zamanda az da olsa belirli oranda bir riskin göze alınmasını da gerektirir. Bu risk ekonomik kayıptır ve göze alınabildiği ve katlanılabildiği takdirde dengenin oluşması gerçekleştirilmiş, zararlı ile üzerinde yaşadığı doğal düşmanı arasında ahenkli bir ilişki sağlanmış olur. Bu ilişki sonucunda zararlı popülasyonu da ekonomik zarar eşiğinin altındaki bir popülasyon yoğunluğu ile varlığını sürdürür. Sonuçta amaca ulaşılmış olur. Amaca ulaşılmış olunması yeterli değildir. Bunun sürekli kılınması gereklidir. Bu da sisteme dışarıdan bir müdahale yapılmaması başta olmak üzere, zararlı ve doğal düşmanın popülasyon yoğunlukları sürekli izlenmeli ve sistemin bozulmaması için gerekli önlemler alınmalıdır. Bu önlemler sisteme zarar vermeyen önlemler olmalıdır. Örneğin doğal düşmanın yani yararlıının düşük düzeyde de olsa olumsuz yönde etkilenmesine neden olabilecek ilaçlamalar yapılmamalıdır. Aynı şekilde kültürün yok edilmesi yani üretiminden vazgeçilmesi, yangın gibi doğal olaylar sistemin bozulmasına neden olabilecek etkenlerdir [8].

Başlangıç süreci dört ana grup altında toplanabilecek etkenlere göre kısa veya uzun bir süre olabilir. Bu etkenler;

1. Bitkiye ait etkenler
2. Zararlıya ait etkenler
3. Doğal düşmana ait etkenler
4. Çevreye ait etkenler olarak gruplandırılabilir.

1.5.1. Bitkiye ait etkenler

Bunların başında bitkinin çeşidi, vejetasyon süresi ve fenolojik dönemi gelir [10]. Vejetasyon süresi başlangıç sürecinin ve dolayısıyla biyolojik savaş uygulamasının başarısını etkiler. Vejetasyon süresi kısa olan bitkilerde biyolojik savaş çalışmalarının başlangıç süreci kısa olmalıdır [8]. Bitkinin fenolojik dönemi başlangıç sürecini etkiler [10].

1.5.2. Zararlıya ait etkenler

Başlangıç süreci üzerinde etkili faktörler zararlının biyolojisi, davranışları, yoğunluğu ve epidemiyolojik özellikleri gibi hususlar, zararlının türü ve karakterine göre değişmektedir [2].

1.5.3. Doğal düşmana ait etkenler

Doğal düşmanın türü, biyolojisi ve davranışları, populasyon yoğunluğu başlangıç sürecine doğrudan etkilidir. Genel olarak bir doğal düşman türünde aranan özelliklerin büyük çoğunluğunun bulunması durumunda biyolojik savaş çalışmasının başlangıç süreci kısa, başarısı da yüksek olacaktır [8].

1.5.4. Çevreye ait etkenler

Bunların başında iklim faktörlerinden sıcaklık, nem, yağmur gibi etkenler başlıcalarıdır. Bir bölgenin sıcaklık koşullarına uyum sağlayabilen etmen seçimi ile hem başlangıç süreci kısa, hem de başarısı yüksek biyolojik savaş çalışmaları yapılabilmesi mümkün olabilir [8].

Uygulanan diğer mücadele metotları ise; ilaçlama yapılmaması, kültürün yok edilmemesi yani üretimin geçici bir süre de olsa durdurulmaması gibi şartların yerine getirilmesi lazımdır [2].

Bitkilerde hastalık meydana getiren etmenler ise canlı ve cansız hastalık etmenleri olmak üzere 2'ye ayrılır.

1.6. Canlı Hastalık Etmenleri

İnsanları ve hayvanları hastalandıran mikroorganizmaların bir bölümü de bitkileri hastalandırır. Örneğin: bakteriler, mantarlar, virüsler, nematodlar... Bunların dışında kültür bitkilerinin gıdasına ve güneşlenmesine mani olduğu için bu kültürleri strese sokan yabancı ot'lar canlı hastalık faktörleridir. Ayrıca gıda

noksanlıkları, istenmeyen iklim faktörleri (don veya aşırı sıcaklık), atmosferi kirleten gazlar, çevreyi bulaştıran atıklar... gibi cansız faktörler de Bitki Hastalıkları Bilimi (Fitopatoloji) kapsamı içinde yer almaktadır [13].

1.6.1. Bakteriler

Yurdumuzda yetiştirilen değişik kültür bitkilerinde saptanıp resmi kayıtlara geçmiş bakteri sayısı 22 kadardır [13].

1.6.1.1. Bakterilerin Biyolojik ve Ekolojik Özellikleri

Türlere göre değişmek kaydı ile her bakterinin hastalık faaliyetine başlayabilmesi için optimum düzeyde bir sıcaklık isteği mevcut ise de, hemen tüm türler ve ırkların faaliyeti için asıl önemli faktör ortam nem'idir [13].

1.6.1.2. Bakterilerin Bulaşma ve Yayılmaları

Bakterilerin bir bölümü tarla kültürlerinde bulaşık tohumlar kanalıyla tarlaya direkt olarak intikal edebilirler. Bahçe kültürlerinde, bakteri ile bulaşık fidanların dikilmesi direkt enfeksiyon kaynağını oluşturur. Hastalıklı ağaçlardan alınacak aşı gözleri veya kalemler de hastalığın bulaşmasında önemli birer kaynaktır [13].

Yukarıdaki faktörler dışında, bakterilerin böceklerle, rüzgârla, el işçiliği (budama, yaprak seyreltmesi, hasat...) ve bu işçilikte kullanılan aletlerle (özellikle budama makası ve diğer yardımcı aletler) aynı tarla veya bahçenin hastaliksız bölümlerine veya civara yayılması mümkündür [13].

1.6.2. Mantarlar

Mantarların eşeyli veya eşeysiz üremelerine göre sistematigi değişebilmektedir. Örneğin: Elma ağaçlarında Karaleke etmeni olan *Venturia inaequalis*'in parazit dönemi *Ascomycetes* sınıfı içinde gösterilirken, aynı mantarın

saprofit dönemi (*Fusicladium*) *Deutoromycetes* (Imperfekt) sınıfı içinde gösterilmektedir [14].

1.6.2.1. Mantarların Biyolojik ve Ekolojik Özellikleri

Her mantar cinsinin ve hatta bu cinse bağlı farklı türlerin aktif hale geçebilmeleri için belirli sınırlar içinde bir sıcaklığa, yüksek bir nem'e ve şüphesiz mevcut bir gıda ortamına ihtiyaçları vardır. Ancak nem faktörü, tıpkı bakterilerde olduğu gibi, mantarlar için de ana faktördür. Ortam sıcaklığı optimum düzeyde olsa bile, yeterli nem koşulları mevcut değilse, mantarların enfeksiyon yapmaları beklenemez [14].

Mantar enfeksiyonlarının en yüksek olduğu ortam yeterli nem ile optimum sıcaklığın bitki gıda ortamında seyrettiği şartlardır. Ancak, nem ve gıda ortamının uygun olması durumunda sıcaklık optimum düzeyde olmasa da hastalık çıkışı beklenebilir. Örneğin; *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle'nin optimum sıcaklık isteği 23-28 °C, minimum ve maksimum sıcaklık isteği ise 16-35 °C 'dir [14].

Sağlıksız bitkilerin hastalığa karşı koyma güçleri (direnc) yetersiz kalacağı için, bu tip bitkiler mantari etmenler için de bol ve kolay elde edilebilir gıda ortamlarını oluştururlar [14].

1.6.2.2. Mantarların Bulaşmaları ve Yayılmaları

Mantarlar da yağmur ve çiğ ile, böcekler ve kuşlar ile, el işçiliği ile, alet ve ekipman ile bitkinin sağlıklı organlarına, komşu bitkilere ve yan alanlara ulaşabilir [14].

Hastalık taşımayan temiz alanlara hastalığı sokmanın direkt yolu iki faktörden geçer. Bunlar; bulaşık (hastalıklı) tohum kullanmak ve bulaşık (hastalıklı) fide, fidan, aşı materyalini (kalem veya göz) temiz alana nakletmektir [14].

Hastalık etmenlerinin bitkilere girebilmesi için ilk koşul, çok sayıda faktör etkisi altında bulunan sporların (konidilerin) çimlenmesidir. En önemli olanlar [15]:

- 1- Sıcaklık: Sıcaklık birçok etmen için minimum ve maksimum geniş sınırlar içinde oynar iken, sıcaklık optimumu genellikle türler için 22-25 °C'dir.
- 2- Hava nemi: Genellikle mantar sporlarının çimlenmesi için bağlı nem % 90-95'tir.

Bu cansız faktörlerin yanında, örneğin yaprak, kök ve tohumlardan salgılanan organik maddeler gibi konukçu yüzeyindeki olaylarda sporların çimlenmesi için önemli rol oynarlar [15].

Mantarlar, normal şartlarda bitki dokularına çeşitli yollardan (örneğin: Yaprak gözenekleri, çeşitli yaralar, zayıf dokular...) girebilirler. Hastalık sporlarının çimlenmesi ve çim borucuğunun bitkiye girerek stabil bir parazitik ilgi kuruncaya kadar geçen zaman aralığı "enfeksiyon" olarak isimlendirilir. Stabil bir parazitik ilgi sağlandıktan sonra ilk hastalık belirtilerinin görülmesine kadar geçen süre ise "İnkübasyon" olarak isimlendirilir. Stabil bir parazitik ilgi sağlamak amacıyla, hastalık etmeninin konukçuya girmesi zorunludur. Bu, çim borularının bitkinin tabii açıklıklarından (stomalar, lentiseller, hidatodlar) veya işleme hataları, don, rüzgar, dolu veya hayvansal zararlılar tarafından açılan yaralardan içeriye girmesiyle meydana gelir. Fakat bazı parazitler hücre duvarını çözen enzimler yardımı ile yaralanmış kütikuladan direkt bitkiye girme yeteneğine sahiptir (örneğin kara leke etmeni *Venturia inaequalis* ve külleme mantarları) [15]. Ancak, bilinmelidir ki mevcut hastalıklı dokular (meyve, dal, sürgün, çiçek)'daki mantarların değişik biyolojik formları (özellikle Sclerot ve Konidisporlar) hastalığın diğer dokulara yayılması için önemli inoculum (bulaşma) araçlarıdır. Bu hastalıklı organların dikkatli şekilde budanıp, alan dışında yakılmadıkça yapılacak ilaçlamalar bu hastalıkların daha çok yayılmasına ve çoğalmasına sebep olabilir [14].

Çim borucuğunun bitki içine doğal açıklıklar veya yaralar yardımıyla girmesi ve büyümesi herhangi bir zorluk ile karşılaşmaz. Yaralanmamış kütikuladan çim borucuğunun bitki içine girişi ve mekanik yoldan veya kitin parçalayan enzimlerin salgılanması ile olur. Mekanik yoldan bitkiye giriş ise

yaklaşık olarak 7 atmosferlik basınca gereksinme gösterir. Son yıllarda mantarlarda kitin parçalayan enzimlerin (kitinazlar) kanıtlanması üzerine deliller çoğalmaktadır. Buna göre, patojen organizmaların kütikulyayı enzimatik yoldan parçalayarak bitkiye girmeyi yeğledikleri akla daha yakındır. Mantarların hücreler içinde veya hücreler arasında büyümesi orta lamellerin veya hücre duvarının parçalanması ile olasıdır. Bu giriş olayında mantar hifi ucunda geniş bir yapışma oluşumu (appressorium) meydana getirir. Bunun yardımı ile de bulunduğu yüzeye kendini tespit eder. Bu oluşumdan devam ederek sivri uçlu bir kısım hücre içine büyür ve orada torba şeklinde bir oluşum (haustorium) oluşturur [15].

Bitkiyi oluşturan hücrelerin duvarları selülozdan oluşur ve genellikle bunların içinde bol miktarda protein bulunur. Birbirine komşu hücreler ise pektik maddelerden oluşan bir orta lamel ile birbirinden ayrılır [15].

Bitki üst yüzeyini ve hücre duvarlarını parçalayan ve bitki patojen etmenler tarafından en fazla salgılanan enzimler pektinaz ve selülaz grubuna dahildir. Bunların yanında hemiselülaz, ligninaz ve ayrıca kitin, süberin ve mumsu maddeleri parçalayan enzimlere de rastlanır. Ender olarak görülen proteolitik enzimlerin hücre duvarı yıkımındaki rolleri ise henüz tam olarak aydınlanmamıştır [15].

Hastalık etmeni bitkiye girdikten sonra ya enfeksiyonun yapıldığı yerde lokalize olur veya çeşitli yollardan bitki içine yayılır. Böylece enfeksiyon yerinden uzak kısımlarda belirtiler meydana gelebilir. Genellikle aşağıdaki yayılma şekilleri ayırt edilir [15]:

1- Yaşayan hücrelerin bulunmasına bağlı olan yayılma obligat parazitler için geçerlidir (Paslar, külleme ve mildiyö hastalık etmenleri).

İntrasellüler yayılma: Bu şekilde, zararlı, hücreler içine girerek yayılır. *Archimycetes* sınıfına dahil parazitler bunun için tipiktir. Örneğin patates kanseri etmeni *Synchytrium endobioticum*, ayrıca virüs ve bakterilerin yayılmasında da hücreden hücreye geçiş vardır.

İntersellüler yayılma: Mantar hifleri, orta lameli enzimler (Pektinazlar) yardımı ile çözüldükten sonra hücreler arasında büyürler. Bunlar gerekli besin maddelerini komşu hücrelerden emeçler yardımı ile alırlar. Bu örneğin pas mantarları ve mildiyö hastalık etmenleri için tipik bir yayılma şeklidir.

2- Bu yayılma şekli pertofit olan organizmalar için karakteristiktir. Yayılma yaşayan hücrelerin önceden öldürülmesi ile mümkündür. Pertofit olan patojen organizmaları patates mildiyösü (*Phytophthora infestans*) örnek olarak verilebilir.

Enfeksiyondan sonra, parazitlerden, hücreleri öldüren ve bu şekilde mikroorganizmaların konukçu içine daha fazla sokulması için elverişli olanakları hazırlayan maddeler salgılanır.

3- İletken borularda yayılma: *Verticillium albo-atrum* (Pamukta solgunluk) ve *Xanthomonas campestris* (Lahana damar siyahlığı) gibi bazı patojen organizmalar genellikle bitkilerin iletim dokuları içinde yayılırlar. Bunlara genellikle trakeomikozlar veya trako bakteriozlar adı verilir.

Eğer etmenler enfeksiyondan sonra bütün konukçu içinde yayılıyorsa, sistemik hastalıklardan söz edilir. Bunun için hastalık belirtilerinin bütün bitkide ortaya çıkışı beklenmez. Birçok hastalık etmeni bitkiye girdikten sonra latent bir durumda kalır ve kendilerini ancak belirli bir gelişme durumundan sonra belli ederler. Bu tip hastalıkların en tipik örneği buğday sürmesi etmeni *Tilletia tritici* verir [15].

1.6.2.3. Fungal Hastalıkların Genel Kontrolleri

Fungal hastalık etmenlerine karşı sadece ilaçlı mücadele tedbirlerinin alınması dönemi dünyada kapanmıştır. İlaçlı mücadele, hastalık etmenlerine karşı alınabilecek tedbirlerin sadece birisini teşkil etmektedir. Geride kalan çok sayıda tedbir vardır ki, bu tedbirler zincirine tüm savaş (Integre mücadele) denilmektedir [15].

Tüm savaş zincirini oluşturan önlemler (tedbirler) şöyle sıralanmaktadır [15]:

Hastalığa karşı dirençli tohum kullanımı

- Dengeli gübreleme (özellikle aşırı azot kullanımından sakınmak)

- Ekim ve dikimde bitkilerin sıra arası ve sıra üzeri mesafelerini güneşleme ve havalanma yönünden en uygun ölçülere göre ayarlamak

- Mümkün olan ortamlarda (sera şartlarında), ortamın nisbi neminin % 60–75 arasında tutulmasını sağlayacak tedbirlerin alınması (seracılıkta çok önemli

bir konu).

- İlaçlamadan önce, hastalıklı bitki dokularının kesilip uzaklaştırılması ve yakılması veya gömülmesi

- Uygun bir ilacın bitkilerin yaprak alt kısımlarına pulverizasyonu.

Bahçe bitkilerinde hastaliksız fidan, aşı gözü veya kalemi, yukarıdaki konuların ilk maddesini teşkil eder.

Hastalık etmenleri, art arda kullanılan aynı kimyasal yapıdaki ilaç gruplarına karşı belirli bir süre sonra direnç gösterebilirler. Bu risk, farklı ilaç (fungisit) gruplarının ilaçlamada münavebeli (nöbetleşe) kullanımını gündeme getirir [15].

Özellikle tarla ve sera bitkilerinde birim alana veya birim hacime belirli miktar dozun düşürülmesi gerekir. Belirli bir alana veya hacime düşürülmesi gereken su miktarı değil, ilaç miktarıdır. Bu konu, alet kalibrasyonu olayını gündeme getirir [15].

Bilmek gerekir ki, ilaç uygulamalarında su, bir taşıyıcıdır. Birim alana uygulanan su miktarının azlığı, ilaç dozunun azaltılmasını haklı kılan bir sebep değildir [15].

1.7. Cansız Hastalık Etmenleri

Bitkilerin hastalanmasında sorumlu olan faktörler sadece canlı etmenler (bakteriler, mantarlar... vs.) değildir. Değişik iklim faktörleri ile ortamın atmosferik şartları yanında bitki gıda maddelerinin bitki bünyesindeki noksanlıkları da bitkileri hastalandırabilirler.

1.7.1. Hava Kirliliği

Plansız programsız ve hiçbir gerekli tedbir alınmadan kurulan fabrikaların baca gazları yanında, ortama yaydıkları atıklar ve artıklar çevreyi ve atmosferi kirletmekte, bu kirlenmeler sadece insan sağlığını değil, bitki sağlığını da bozmaktadır [16].

Özellikle kükürt, karbon, azot ve klorlu gazların çevreye yayılması yanında, sulara karışması sonucunda sebep oldukları bitkisel arazlar birer hastalık

etmeni olarak kabul edilmektedir. Hava kirlenmesi sonucu oluşan asit yağmurları, ozon yoğunluğundaki değişimler sonucu oluşan iklimsel sapmalar da bu konunun kapsamı içindedir [17].

Bitkisel ürünlerin sağlığını tehdit eden en önemli kimyasal gazlardan birisi Kükürt dioksit'tir (SO₂). Bu gazın en büyük özelliği klorofil zehiri olmasıdır. Bu gaz, solunum yolu ile bitki bünyesine girdiğinde, yapraklardaki Demir (Fe) ile reaksiyona girerek onun klorofil oluşumundaki katalitik etkisini ortadan kaldırır [17].

1.7.2. Toprak ve Su Kirliliği

Gelişen teknolojinin insanlığın kullanımına sunduğu ürünler (deterjanlar, değişik kimyasal çözücüler, tarım ilaçları, tarımsal gübreler ve çeşitli yardımcı maddeler... vs.) yanında, fabrika atık ve artıklarının toprağa, toprağın taban suyuna, çeşitli boyuttaki akarsulara karışmasının yarattığı çevresel sorunlar, bitki sağlığını da direkt olarak ilgilendirmektedir [12].

Sulama suyunun niteliği ve niceliği çok önemli bir konudur. Sulama suyunun içeriğinin kimyasal analizlerle tespit ettirilmesi mutlaka gereklidir. Zira, bitkilerde oluşan hastalık arazları, sulama suyundaki bir kimyasalın aşırı ölçülerde olmasından da kaynaklanabilir. Özellikle su içeriğindeki aşırı Flor, Klor, Sodyum ve hatta Magnezyum, bitkilerin hastalık sebepleri olabilir. Ayrıca bir mikro element fazlalığı da bitkilerde birer hastalık etmeni olarak belirebilir [12].

1.7.3. Sıcaklık Faktörü

Tüm bitkisel kültürlerin optimum gelişmelerini temin eden sıcaklık sınırları bilinmektedir. Başta sera ürünleri olmak üzere hemen hemen her türlü ürünün gelişme ve dölleniş meyve verme sınırları optimum 12–30 °C'ler arasındadır. Bu iki sınırın altında ve üzerinde dölleniş ve meyve bağlama konusunda olduğu kadar, meyve kalitesinde de sorunlar yaşanabilir [18].

Ne var ki, sıcaklık faktörü konusunda asıl ve görünür arazlar donma noktasından itibaren başlar. Bu sınır kültür bitkilerine göre değişmek kaydı ile -1 eksi 5 °C arasında değişkendir [18].

Gereğinden çok yüksek sıcak ortamlarda meydana gelen çiçek atımları ve oluşan meyvelerde görülen renk ve kalite bozuklukları yaygın olarak görülmektedir [18].

1.8. Şeker Pancarı Tarımı ve Şeker Pancarı Hastalıkları

Pancar tarımı; toprakların fiziki yapılarının iyileşmesi ve biyolojik aktivitelerinin artmasına katkı sağlaması, yüksek oranda endüstriyel giderler (gübre, ilaç v.b.) kullanımı gerektirmesi, kendinden sonra ekilecek ürünlerde verim artışı sağlaması, baş, yaprak ve posasının nişasta değeri yüksek bir kaba yem olması, kırsal kesimde ayçiçeğine göre 4,4 kat, buğdaya göre 18 kat fazla istihdam oluşturması, mekanizasyon kullanımı açısından pancar tarımında buğdaydan 1,5 kat, ayçiçeğinden 1,9 kat daha fazla makina kullanımına olanak sağlaması bakımından Ülke tarımı ve sanayisinin gelişmesine önemli katkılar sağlamaktadır [81, 82]. Ülkemizde en fazla tarımı yapılan başlıca endüstri bitkisi; şeker pancarıdır. Türkiyede yetiştirilen endüstri bitkilerinin % 91,9'unu şeker pancarı oluşturmaktadır. Türkiye'de şeker pancarı eken çiftçi sayısı 2003 yılı itibariyle 459.710 adet, ekim 320.568 hektar, üretim 12.575.875 ton ve verim 40.010 kg/hektar'dır [84].

Şeker pancarında, ekiminden fabrikada işlenmesine kadar geçen büyüme, gelişme ve silolama dönemleri içinde, canlı cansız birçok etken değişik ekonomik boyutlarda çeşitli zararlar yapar. Zararlar genel olarak:

- Hastalık
- Büyüme ve gelişme sakatlığı şeklinde ortaya çıkar.

Hastalıklar, doğası parazitik kökenli organizmaların, büyüme ve gelişme sakatlıkları ise, doğası mekanik veya fizyolojik kökenli etkenlerin yol açtığı zararlardır [7].

Şeker pancarında hastalık nedeni veya parazit kökenli organizmalar olarak; virüs, bakteri, mantar ve bitkiler görülür. Şeker pancarı ve kamışının yıllık % 16,5'u zararlılar, % 16,5'u hastalıklar, % 12,2'si yabancı otlar olmak üzere toplam % 45,2 oranında kayba uğramaktadır [1].

Tohumluk şeker pancarında hastalığa neden olan patojenik funguslar genellikle; *Aphanomyces*, *Polymyxa*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Fusarium* ve *Phoma* genusları içerisinde yer alırlar [90].

Şeker pancarı hastalıkları, hastalık belirtilerinin başlangıçta ağırlıklı bitkilerin yapraklarında veya köklerinde bulunmasına göre; yaprak hastalıkları ve kök hastalıkları olmak üzere, iki ayrı grupta toplanabilir. Şeker pancarı ekim alanlarımızda salgınlar yapan en önemli yaprak hastalıkları; Serkospora yaprak lekesi ve külleme, en önemli kök hastalıkları ise; *Phoma betae*, *Pythium ultimum*, *Aphanomyces cochlioides*, *Rhizoctonia solani* ve *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle gibi değişik mantarların etkisi ile meydana gelen “çökerten”, *Fusarium* spp. nedeniyle meydana gelen “foma kök çürüklüğü”, *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle etkisi ile “Fusarium Solgunluğu”, *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Botrytis cinerea*, *Rhizopus nigricans* ve *Sclerotinia sclerotiorum* nedeniyle meydana gelen “silo çürüklükleri” ve ayrıca çeşitli mikroorganizmaların neden oldukları Rhizomania kök sakallanması, kök yanıklığı, beyaz çürüklük, mor çürüklük, kuyruk çürüklüğü ve yaş çürüklük olarak belirlenmiştir [7, 81].

Rhizomania kökün merkezi kısmını etkilerken, *Fusarium* birçok iletim dokusunu etkileyerek renk bozulmasına ve bu alanlarda nekrotik bir durumun oluşmasına neden olabilmektedir [83].

Şeker pancarında ekonomik önemi olan bazı mantar türlerinin sebep oldukları hastalıkların Türkçe isimleri Çizelge 1.8’de verilmiştir.

Çizelge 1.8. Şeker pancarında ekonomik önemi olan bazı mantar türlerinin sebep oldukları hastalıkların Türkçe isimleri [81]

Cins ve Türler	Türkçe İsmi
<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn	Fide kök çürüklüğü hastalığı, Kök Yanıklığı
<i>Fusarium</i> spp.	Solgunluk hastalığı, Kök Yanıklığı, Foma Kök Çürüklüğü, Silo Çürüklükleri
<i>Verticillium</i> spp.	Solgunluk hastalığı
<i>Pythium</i> spp.	Çökerten, Kök Yanıklığı
<i>Cercospora beticola</i>	Serkospora Yaprak Lekesi
<i>Peronospora farinosa</i>	Mildiyö
<i>Ramularia</i> spp.	Ramularia Yaprak Lekesi
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Beyaz Çürüklükler

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. MATERYAL

2.1.1. Kullanılan Test Mikroorganizmaları

Bu çalışmada mikrobiyoloji laboratuvarında daha önce yapılmış çalışma sırasında izole edilmiş olan antagonistik *Trichoderma harzianum*'un T15, T4D, Tm2, Tm4A Tm7, Tm8D, Tm10, Tm11, Tm8B, Tm18, Tm20, Tm22 izolatları ile hastalıklı şeker pancarlarından izole edilen *Fusarium* sp.'nin B2 ve B2-1 izolatları ve bu izolatlarımıza karşılaştırma materyali olarak *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Fusarium moniliforme* J. Sheld. , *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle Anadolu Üniversitesi Mikrobiyoloji bilim dalından sağlanmıştır. Ayrıca, tarla topraklarından izole etmiş olduğumuz *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* ve Aktinomiset türleri kullanılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Test Bitkisi

Test bitkisi olarak,

— Tohumluk şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) fideleri, Pan Tohum ve KWS Türk şirketlerinden sağlanarak kullanılmıştır.

2.1.3. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasal Maddeler

2.1.3.1. Patates Dekstroz Agar (Merck)

Patates infüsyonu	4.0g/l
D (+) glukoz	20.0g/l
Agar	15.0g/l

Patates Dekstroz Agar 39g/l olacak şekilde distile suda eritilerek otoklavda 121°C’de 15 dakika steril edildikten sonra kullanılmıştır [66].

2.1.3.2. Kullanılan Çözgenler

Patates Dekstroz Agar içeren petrielerde geliştirilen fungusların spor ve misellerinin toplanması için % 0.2’lik Tween 80 kullanılmıştır.

Bakteriyal hücre duvarının boyanması için Gram boyama tekniğinde gerekli olan; Kristal viole, Lügol, Alkol ve Safranin kullanılmıştır.

Aerobik mikroorganizmalar tarafından oluşturulan katalaz enzimi için hidrojen peroksit (H₂O₂) kullanılmıştır.

Pseudomonas türlerini diğer mikroorganizmalardan ayırmak için; oksidaz deneyinde kullanılmak üzere tetrametil-p-fenilendiamin kullanılmıştır.

2.1.3.3. Czapek-Dox Agar

Sukroz	30.0 g/l
NaNO ₃	3.0 g/l
K ₂ HPO ₄	1.0 g/l
MgSO ₄	0.5 g/l
KCl	0.5 g/l
Ferrous sülfat	0.01 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözülerek pH 7,3’e ayarlanıp, 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak kullanılmıştır [66].

2.1.3.4. Nutrient Agar (Fluka)

Meat Ekstrat	1.09 g/l
Yeast Ekstrat	2.0 g/l
Pepton	5.0 g/l
Sodyum klorid	5.0 g/l
Agar	15 g/l
Distile su	1000 ml

Nutrient agar 28g/l olacak şekilde distile suda eritilerek otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildikten sonra kullanılmıştır [66].

2.1.3.5. Ashby Besiyeri

Mannitol	15.0 g/l
Dipotasyum fosfat	0.5 g/l
MgSO ₄	0.2 g/l
NaCl	0.1 g/l
CaCO ₃	3.0 g/l
Agar	15.0 g/l
Distile Su	1000 ml

Besiyeri içeriği pH 7-8 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir [67].

2.1.3.6. Yeast Malt Extract Agar

Yeast Extract	4.0 g/l
Glukoz	4.0 g/l
Malt extract	10.0 g/l
Agar	20.0 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği pH 6,8-7 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir [66].

2.1.3.7. Winogradsky's Nitrogen-free Mineral Medium

KH ₂ PO ₄	50 g/l
MgSO ₄ .7 H ₂ O	25 g/l
NaCl	25 g/l
FeSO ₄	1 g/l
Na ₂ MoO ₄ .2 H ₂ O	1 g/l
MnSO ₄ .4 H ₂ O	1 g/l
Glukoz	0,1 g/l
Agar	15 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği pH 7,2 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

2.1.3.8. *Trichoderma* Selective Medium

Glukoz	3.0 g/l
NH ₄ NO ₃	1.0 g/l
K ₂ HPO ₄	0.9 g/l
MgSO ₄	0.2 g/l
KCl	0.15 g/l
FeSO ₄ .7 H ₂ O	20 µg/l
MnSO ₄ . 7 H ₂ O	20 µg/l
ZnSO ₄ . 7 H ₂ O	20 µg/l
Rosebengal	30 µg/l
Agar	20 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği pH 6,8-7 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri içerisine disposable filtre yardımı ile 0.25 g/l Chloramphenicol ve 0.2 g/l PCNP ilave edilmiştir.

2.1.3.9. *Fusarium* Selective Medium

Pepton	7.5 g/l
KH ₂ PO ₄	0.5 g/l
MgSO ₄	0.25 g/l
Penta klor nitro benzol (PCNB)	5 g/l
Agar	10 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği pH 6,8-7 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri içerisine disposable filtre yardımı ile 300 ppm Streptomisin ilave edilmiştir.

2.1.3.10. Plate Count Agar (Fluka)

Tripton	5 g/l
Yeast extract	2,5 g/l
Dekstroz	1 g/l
Agar	9 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği pH 7,0 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir [66].

2.1.3.11. Starch Casein Nitrate Agar

Nişasta	10 g/l
Potasyum nitrat	2 g/l
Potasyum monofosfat	2 g/l
Sodyum klorid	2 g/l
Kazein	0.3 g/l
Magnezyum sülfat	0.05 g/l
Kalsiyum karbonat	0.02 g/l
Demir sülfat	0.01 g/l
Agar	15 g/l
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği pH 6,8-7 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C’de 15 dakika otoklav edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri içerişine disposable filtre yardımı ile 0.05 g/l Cycloheksimid ilave edilmiştir.

2.1.3.12. Cetrimide Agar

Cetrimid	0.3 g/l
Jelatin pepton	20 g/l
Magnezyum klorit	1.4 g/l
Potasyum sülfat	10 g/l
Agar	13 g/l

Besiyeri içeriği pH 7,2 olacak şekilde 1M NaOH veya 1M HCl ile ayarlanıp, 121°C’de 15 dakika otoklav edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri içerişine 10ml/l gliserol steril olarak ilave edilmiştir [67].

2.2. YÖNTEM

2.2.1. Topraktan Mikroorganizmaların İzolasyonu

Eskişehir bölgesi şeker pancarı tarlalarından alınan toprak örnekleri laboratuva getirilerek, dilüsyonları hazırlanmıştır. Daha sonra uygun dilüsyon serilerinden Aktinomiset izolasyonu için Starch Casein Nitrate Agar'a ekilerek 3-4 gün 30°C'de gelişmeleri sağlanmış, ve gelişen kolonilerden Yeast Malt Extract Agar (YMA)'a ekilerek 30°C'de 3-4 gün inkübasyona bırakılmıştır [68].

Bacillus spp. izolasyonu için, toprak örneklerinin seri dilüsyonları hazırlanmış ve daha sonra uygun dilüsyonlardan, Nutrient Agar içeren petrilere ekilerek 30°C'de 1-2 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır [78]. Petrilerde, diğer kolonilere göre etrafında inhibisyon zonu oluşturan koloniler seçilerek ortamdaki izole edilerek saflaştırılmaları yapılmıştır.

Azotobacter spp. izolasyonu için toprak örneklerinin seri dilüsyonları hazırlanmış ve daha sonra uygun dilüsyonlardan, Ashby besiyeri ve Winogradsky's Nitrogen-free Mineral Medium içeren petrilere ekilerek 37°C'de 3-4 gün inkübasyona tabi tutularak gelişmeleri sağlanmıştır [76]. Petrilerde üreme gösteren akıcı-cıvık, değişik morfolojideki koloniler seçilerek alınmış ve kültürler saflaştırılmıştır.

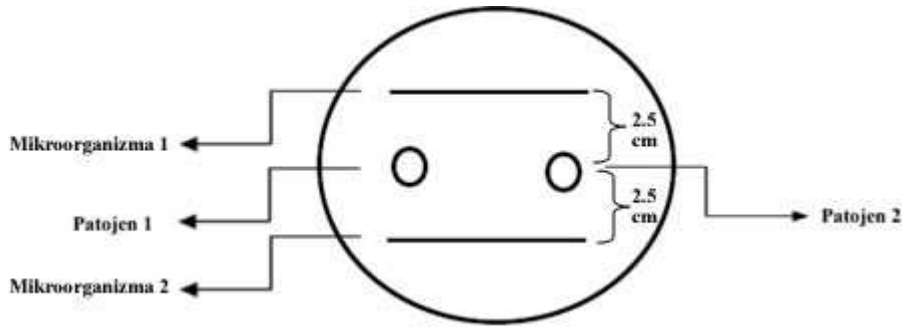
Fluoresan ışımaya veren *Pseudomonas* spp. izolasyonu için toprak örneklerinin seri dilüsyonları hazırlanmış ve daha sonra uygun dilüsyonlardan, Cetrimide Agar içeren petrilere ekilerek 30°C'de 3-4 gün inkübasyona bırakılmışlardır. Ve gelişme sonunda kültürleri kontrol etmek için UV lambası altında floresan renk değişiminin olup olmadığı gözlemlenmiştir [79].

Saf kültürler % 20 gliserol içerisinde -20°C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

2.2.2. Patojenlere Karşı Toprakdan İzole Edilen İzolatların Etkilerinin Belirlenmesi

Bitki patojeni, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Fusarium moniliforme* J. Sheld., *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc., *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle, *Fusarium* B2 ve B2-1 izolatlarına karşı, topraktan izole ettiğimiz Aktinomiset, *Bacillus* spp., *Azotobacter* spp. ve *Pseudomonas* spp. izolatlarının inhibisyon etkilerine bakılmıştır. Etkili olan izolatlar belirlenerek, tanımlanmaları yapılmaya çalışılmıştır.

Test mikroorganizmalarına karşı, topraktan izole ettiğimiz Aktinomiset izolatlarının etkilerinin belirlenmesi için, petrideki patojenler arasında 5cm, mikroorganizmalarla patojenler arasında 2,5cm mesafe olacak şekilde ekilmişlerdir (Şekil 2).



Şekil 2. Petri kutusunda Mikroorganizma – Patojen İnhibisyon Uygulanması

Yeast malt extract agar besiyeri içeren petrilere ilk önce Aktinomiset'ler ekilmiş ve 2-3 gün 30°C'lik etüde beklenerek gelişmeleri sağlanmıştır. Daha sonra ise, önceden bir hafta boyunca oda sıcaklığında geliştirilmiş olan patojenler 6mm çaplı mantar delici ile kesilerek petrilere ekilmişlerdir. 1 hafta boyunca gelişmeleri izlenerek, patojenlere karşı etkili olan Aktinomiset izolatları belirlenmiştir [68].

Azotobacter spp. izolatlarının antifungal etkisini belirlemek için, Ashby besiyeri içeren petrilere ilk önce *Azotobacter* spp.'ler ekilmiş ve 2-3 gün 37°C'lik etüde beklenerek gelişmeleri sağlanmıştır. Daha sonra ise, önceden bir hafta boyunca oda sıcaklığında geliştirilmiş olan patojenler 6mm çaplı mantar delici ile

kesilerek petrilere ekilmişlerdir (Şekil 2). 1 hafta boyunca gelişmeleri izlenerek, patojenlere karşı etkili olan *Azotobacter* türleri belirlenmiştir [77].

Bacillus spp. izolatlarının antifungal etkisini belirlemek için, Nutrient Agar içeren petrilere ilk önce *Bacillus* spp.'ler ekilmiş ve 1 gün 30°C'lik etüvde beklenerek gelişmeleri sağlanmıştır. Daha sonra ise, önceden bir hafta boyunca oda sıcaklığında geliştirilmiş olan patojenler 6 mm çaplı mantar delici ile kesilerek petrilere ekilmişlerdir (Şekil 2). Ve 1 hafta boyunca gelişmeleri izlenerek, patojenlere karşı etkili olan *Bacillus* türleri belirlenmiştir [69].

Fluoresan ışığa veren *Pseudomonas* spp. izolatlarının antifungal etkisini belirlemek için, Cetrimide Agar besiyeri içeren petrilere ilk önce *Pseudomonas* spp.'ler ekilmiş ve 1 gün 30°C'lik etüvde beklenerek gelişmeleri sağlanmıştır. Daha sonra ise, önceden bir hafta boyunca oda sıcaklığında geliştirilmiş olan patojenler 6mm çaplı mantar delici ile kesilerek petrilere ekilmişlerdir (Şekil 2). 1 hafta boyunca gelişmeleri izlenerek, patojenlere karşı etkili olan *Pseudomonas* türleri belirlenmeye çalışılmıştır [70].

Bütün deneyler çift paralel olarak yürütülmüştür. Ayrıca patojenler test mikroorganizmalarının olmadığı besi ortamında geliştirilmişlerdir.

2.2.3. Mikroorganizmaların Tanımlanması

Bacillus spp. petrilерinde görünüşleri saf olan mikroorganizmaların tanımlanmalarında; 18-24 saatlik saf kültürlerin preparatları hazırlanarak Gram boyamaları yapılmış ve karbonhidrat kullanımlarını belirlemek için Vitek Basil kartları kullanılmıştır.

Pseudomonas spp. petrilерinde görünüşleri saf olan mikroorganizmaların tanımlanmalarında; 18-24 saatlik saf kültürlerin preparatları hazırlanarak Gram boyamaları yapılmış, oksidaz testleri yapılmış ve karbonhidrat kullanımlarını belirlemek için Biolog kartları kullanılmıştır.

Azotobacter spp. petrilерinde görünüşleri saf olan mikroorganizmaların tanımlanmalarını yapmak için; 18-24 saatlik saf kültürlerin preparatları hazırlanarak Gram boyamaları yapılmış, katalaz testlerine bakılmış, değişik sıcaklık ortamlarında (9°C, 14°C, 18°C, 32°C ve 37°C) gelişebilme testi yapılmış,

% 1'lik tuz ortamındaki gelişmeye bakılmış ve hareketlilik testleri yapılmıştır [87]. Ashby besiyeri içerisine % 1 oranında tuz ilave edilerek izolatlar ekilmişler ve gelişmelerine bakılmıştır. Hareketlilik testinde ise; yarı katı besiyeri sağlamak için distile suya litreye 5 gr olacak şekilde agar ilave edilerek tüplere dağıtılmış ve steril edilerek izolatlar transfer iğnesiyle dik bir şekilde ekilmişlerdir.

2.2.4. Toprakтан İzole Edilen *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp. İzolatlarının Antibiyotik Dirençlerinin Belirlenmesi

Toprakтан izole edilen etkili *Bacillus* sp., *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp. izolatlarının antibiyotiklere karşı dirençlerini incelemek için; kültürler Nutrient Broth içeren besiyerine ekilmiş, 1 gün 30°C'de bekleyerek gelişmeleri sağlandıktan sonra Nutrient Agar besiyeri içeren petrilere 0,5 McFarland inokulum (aşısı) olacak şekilde ayarlanmış olan dilüsyondan 0,1ml aktarılarak agar üzerine yayılmıştır. Petrilerdeki kültürlerin tamamen kuruması sağlandıktan sonra üzerlerine Oflaxacin, Oxacilin, Rifampicin ve Gentamycin içeren antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 24 saat sonra disk çapları ölçülerek dirençli veya dirençsiz kültürler belirlenmeye çalışılmıştır.

2.2.5. *Trichoderma harzianum* izolatlarının *Fusarium* B2 ve B2-1'e Karşı İnhibisyon Testleri

Daha önce yapılan çalışmalarda bitki patojeni funguslara karşı test edilmiş ve etkili bulunmuş *Trichoderma harzianum* (T15, T4D, Tm2, Tm4A Tm7, Tm8D, Tm10, Tm11, Tm8B, Tm18, Tm20, Tm22) izolatlarının tohumluk şeker pancarından izole edilen patojen *Fusarium* B2 ve B2-1'e karşı etkinliğini belirlemek için 7 gün boyunca petri içerisinde PDA içeren besi ortamında geliştirilmiştir. Daha sonra, her bir *Trichoderma harzianum* izolatının bulunduğu petri kutusundan alınan 6 mm çapında disk farklı bitki patojenlerini içeren petri kutularından alınan 6 mm çapındaki disklerle aralarında 5 cm boşluk olacak şekilde PDA içeren steril petri kutularına ekilmiştir. 25°C'de 7 gün inkübasyon süresince patojen ve antagonistin büyüme miktarları zon çapları ölçülerek (2.2.5),

patojen fungusun büyüme miktarının antagonist tarafından engellenme miktarı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır [24].

$$RI = (R_1 - R_2) \times 100 / R_1 \quad (2.2.5)$$

Burada;

RI : Büyümenin antagonist tarafından engellenme yüzdesi,

R₁ : Antagonistin patojen yönündeki büyüme çapı,

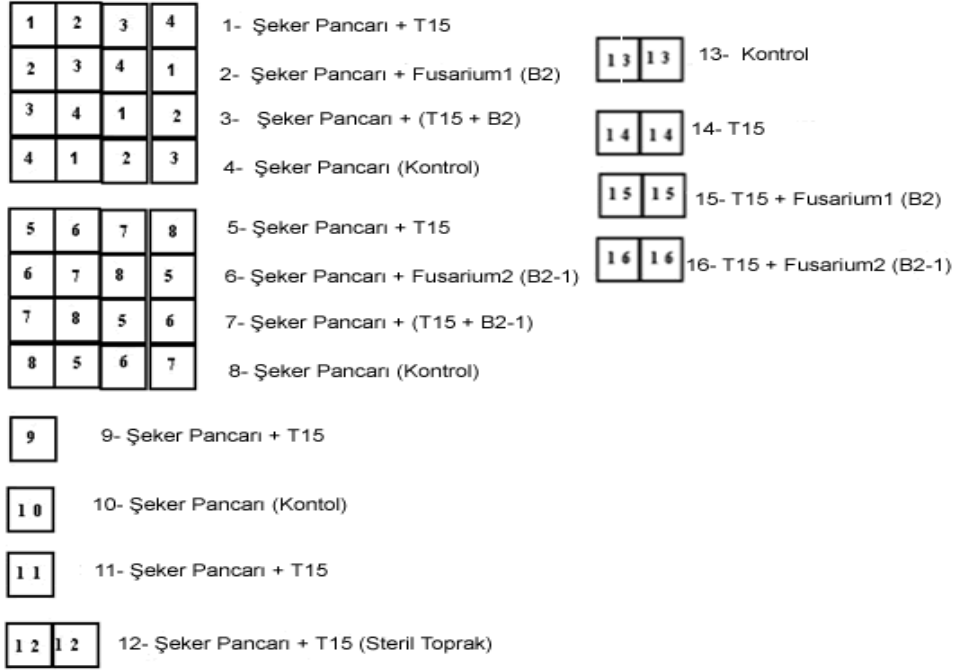
R₂ : Antagonist ile patojenin aşılama durumları arasındaki mesafedir.

2.2.6. *Trichoderma harzianum*'un Seradaki Uygulamaları

Denemede kullanılan tohumluk şeker pancarında hastalık oluşturan *Fusarium* sp.'ye karşı etkili bulunan *Trichoderma harzianum*'un T15 izolatu kullanılmıştır.

Saksıların dip kısımlarındaki deliklere fazla suyun çıkması için küçük çakıl taşları konulup, saksının üst kısmından 3-4 parmak aşağısına kadar toprakla doldurulup, şeker pancarı fideleri saksının tam ortasına gelecek şekilde dikildikten sonra, fidelerin yaprakları dışarıda kalana kadar toprakla doldurulup toprağın sıkışması için üzerinden bir miktar bastırılmıştır.

Trichoderma harzianum T15 izolatının Patates Dekstroz Agar'daki 25°C'de 7 günlük kültürlerinden elde edilen 1x10⁸ spor/ml olan spor süspansiyonları hazırlanmıştır. 45 farklı saksı tesadüf parselleri deneme desenine göre hazırlanarak 12 adet saksıya sadece *Trichoderma harzianum*'un T15 izolatu, 4 adet saksıya *Fusarium* sp.'nin B2 izolatu, 4 adet saksıya *Fusarium* sp.'nin B2-1 izolatu, 6 adet saksıya T15 ve B2, 6 adet saksıya da T15 ve B2-1 izolatlarının karışımı 20'şer ml ilave edilmiş ve bazı saksılarda kontrol grubu olarak hazırlanmıştır [20]. Sera deneme planı Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. Sera Tesadüf Parselleri Deneme Deseni

2.2.7. Fide Aşılamalarının Hazırlanması

Reaksiyon çalışmalarında hastalık etmenlerinin fidelere bulaştırılmasında *Fusarium* sp.'nin B2 ve B2-1 izolatlarının 1×10^8 spor/ml konsantrasyonundaki aşısı kullanılmıştır.

Aşılama hazırlanması için, petrilere PDA içeren besiyeri ortamı hazırlanıp, *Fusarium* sp. izolatları ve *Trichoderma harzianum*'un T15 izolatları ayrı ayrı ekilerek 1 hafta boyunca oda sıcaklığında bırakılarak gelişmeleri sağlanmıştır. Daha sonra gelişen petrilere 50 ml Tween 80 ilave edilerek küflerin sporlarının da alınması sağlanmıştır. Etiketlenmiş saksıların içerisine 1×10^8 spor/ml konsantrasyonunda spor solusyonları 10'ar ml olacak şekilde aktarılmıştır.

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmış ve 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Sera sıcaklığı 25°C olarak ayarlanmıştır. 19,5 cm çaplı ve 17,5 cm yüksekliğinde olan ayrı ayrı saksılara uygun patojen ile aşı edilen şeker pancarı fidelerinin içerisine küflerin girebilmeleri için pancarların uç kısımları düzgün bir şekilde bir miktar kesilmiştir. Fideler öncelikle izolatların bulunduğu sıvıların içerisinde 1 dakika tutulmuş daha sonra ise saksıların orta kısmına gelecek

şekilde yaprakları toprak üstünde kalacak şekilde ekimleri yapılmıştır. Pancar fideleri ekildikten 1 hafta sonra vernalizasyon için + 4°C'de soğuk odaya kaldırılmıştır. Fideler 8 hafta sonra soğuk odadan ortama alışmaları için öncelikle ılık bir ortama alınmış ve 3 gün sonra tekrar sera ortamına nakledilmiştir. Değerlendirmeler ekimden itibaren 50 hafta sonra yapılmıştır.

Deneme tarlası aşlamalarının hazırlanması için, önceden erlenlere 100'er ml PDA içeren besiyeri ortamı hazırlanıp steril edildikten sonra, *Fusarium* sp. izolatları ve *Trichoderma harzianum*'um T15 izolatları ekilerek 1 hafta boyunca oda sıcaklığında bırakılarak gelişmeleri sağlanmıştır. Daha sonra gelişen erlenlerin içerisine Tween 80 ilave edilerek küflerin sporlarının da alınması sağlanmıştır. Fideler ekilmeden önce uç kısımları düzgün bir şekilde kesilerek küflerin pancar içerisine daha kolay girmesi sağlanmıştır. Etiketlenmiş tarla parsellerinin içerisine pancar fideleri bu spor solusyonlarının içerisinde 1 dakika boyunca tutularak; işçiler tarafından sıra arası 70 cm, sıra üzeri 40 cm, her deneme parseli arası 2 m ve parseldeki bitki adedi 200 olacak şekilde ekilmiştir (Şekil 4).

Tesadüf parselleri deneme deseni uygulanarak aynı işlemler Pan Tohum ve KWS Türk şirketlerinin Amasya Suluova Aktarla Köyü, Hamamyolu mevki ve Targi A.Ş. Kazanasmaz Çiftliğinde bulunan deneme tarlalarında da uygulanmıştır. Tarla sonuçları ise 16 hafta sonunda alınmıştır.

2.2.8. Kullanılan Sera ve Tarla Toprağındaki Mikroorganizma Sayısı

Trichoderma harzianum'un T15 izolatının ve *Fusarium* sp.'nin B2 ve B2-1 izolatlarının 1×10^8 spor/ml dozunda verildiği saksılardan ve kontrol saksılarının her birisinden (2.2.8) 1'er gram hava kurusu toprak örneklerinin, dilüsyonları hazırlanmıştır. 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} lik dilüsyonlardan 1'er ml alınıp, farklı besiyeri içeren etiketlenmiş petri kutularına 2 paralel olacak şekilde aktarılmıştır.

Aynı işlemler tarla deneme parsellerinden alınan topraklara da uygulanmıştır.

Toplam bakteri sayımı için, Plate Count Agar etiketli petrilere 15–20 ml erimiş Plate Count Agar dökülerek, petriler 8 hareketi yapılarak homojen karışması sağlanmış ve petriler katılaşmaya bırakılmıştır.

Fusarium sp. sayımı için, işlemlerin aynısı Fusarium Selective Medium etiketli petrilere 15–20 ml erimiş Fusarium Selective Medium dökülerek petriler tekrarlanmıştır.

Trichoderma harzianum'un T15 izolatı için, Trichoderma Selective Medium etiketli petrilere 15–20 ml erimiş Trichoderma Selective Medium dökülerek tekrarlanmıştır.

Tüm petriler ters çevrilerek 30°C 'ye ayarlanmış inkübatöre konulmuştur ve 3–7 gün sonra sayım, aşağıdaki formüle göre yapılmıştır [23].

$$\text{Beher gram Topraktaki Mikroorganizma Adedi} = \frac{(2 \text{ Petrinin Ortalaması}) \times 10 \times \text{Dilüsyon}}{\text{Toprak Ağırlığı (g)}} \quad (2.2.8)$$

3.BULGULAR

3.1. Toprakтан İzole Edilen İzolatların Patojenlerin Gelişimine Olan Etkileri

3.1.1. Toprakтан İzole Edilen Aktinomiset İzolatlarının Patojenlerin Gelişimine Olan Etkileri

Toprak örneklerinden 48 Aktinomiset izolatu elde edilmiş, bunlardan 7 tanesinin test patojenlerine karşı etkili olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.1.1). Akt 27 izolatu *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme* ve *Fusarium culmorum*'a etkili olmuştur. Akt 13-1 izolatu *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani*'ye etkili olurken, Akt 16-2 izolatu *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme* karşı etkili bulunmuştur (Şekil 5, 6). Akt 36 izolatu *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani* ve *Fusarium culmorum*'a etkili olmuştur. Akt 24 izolatu *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani*, *Fusarium moniliforme*'ye etkili olmuştur. Akt 12-2 izolatu *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium culmorum*'a etkili olmuştur. Tüm aktinomiset izolatları *Fusarium* B2 ve B2-1'e karşı etkili bulunmuştur.

Çizelge 3.1.1. Toprakтан İzole Edilen Aktinomiset İzolatlarının Patojen Fungusların Gelişimlerine Olan Etkilerinin Belirlenmesi

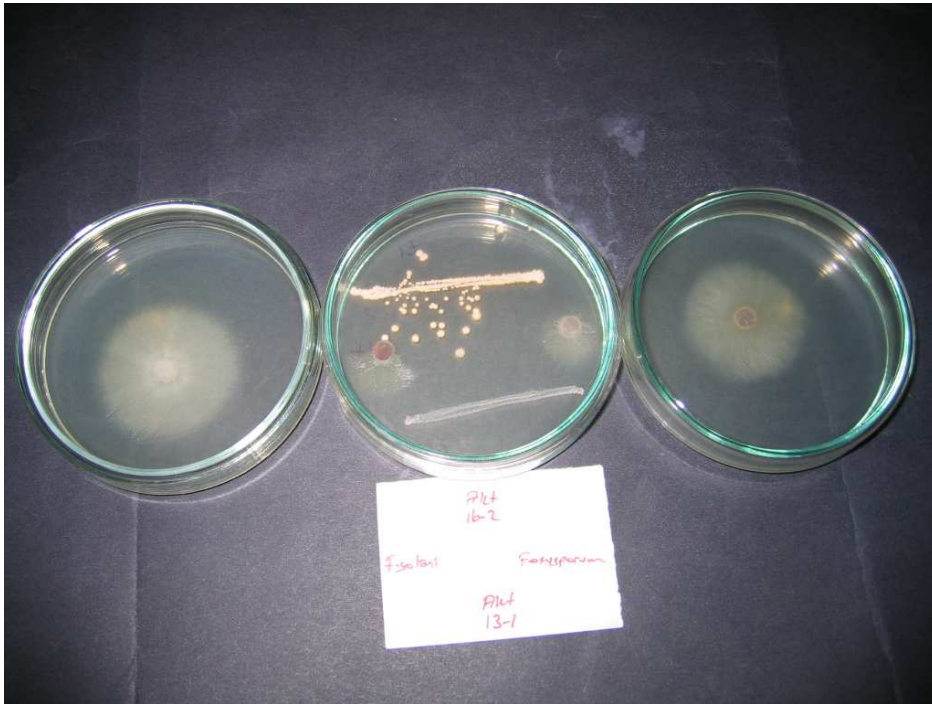
Patojen Funguslar	Koloni çapı (cm)					
	<i>Fusarium oxysporum</i> E.F. Sm. & Swingle	<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	<i>Fusarium moniliforme</i> J. Sheld.	<i>Fusarium culmorum</i> (W.G. Sm.) Sacc.	<i>Fusarium</i> B2 İzolatu	<i>Fusarium</i> B2-1 İzolatu
Aktinomisetler						
Akt 27	2,6	3,0	3,3	3,1	0,4	0,7
Akt 13-1	2,3	2,7			0,6	0,8
Akt 36	2,3	2,7		2,5	0,8	0,6
Akt 16-2	1,6	2,0	2,4		0,5	0,5
Akt 24	1,7	2,5	2,5		0,4	0,6
Akt 47					0,5	0,7
Akt 12-2	1,7	2,0		2,0	0,7	0,6
Kontrol Grupları	4,9	5,4	5,5	6,1	7,5	7,3



Patojenler tarafından tamamen kaplanan petriler -- Gelişme olmayan petriler



Şekil 5. Akt 16-2,12-2 İzolatlarının *Fusarium culmorum*'a Karşı İnhibisyonları




Şekil 6. Akt 16-2 İzolatının *Fusarium solani* ve *Fusarium oxysporum*'a Karşı İnhibisyonları

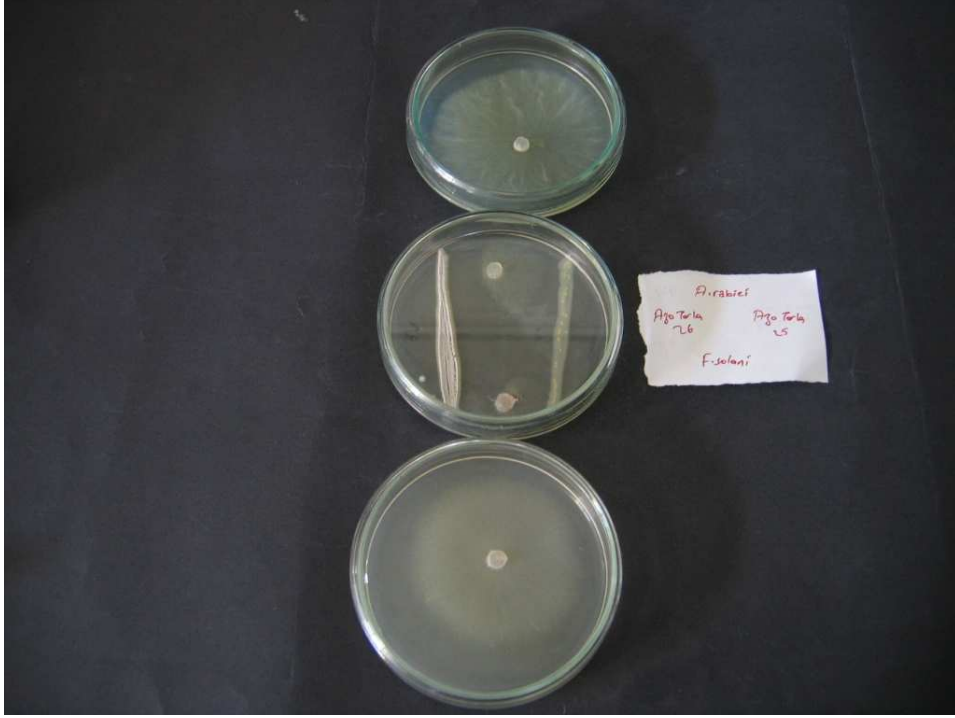
3.1.2. Toprakтан İzole Edilen *Azotobacter* spp. İzolatlarının Patojenlerin Gelişimine Olan Etkileri

Toprak örneklerinden 16 *Azotobacter* izolatu elde edilmiş, bunlardan 9 izolatu test patojenlerine karşı etkili olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.1.2). Azo Tarla 25 *Fusarium oxysporum*'a etkili olurken, Azo Tarla 26 izolatu *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*'ye etkili olmuştur (Şekil 7). Azo Tarla 31 ve Azo Tarla 4 izolatları *Fusarium oxysporum*'a etkili olmuştur. Azo Tarla 3 ve Azo Tarla 1 izolatları *Fusarium culmorum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*'ye etkili olmuşlardır. Azo Tarla 11 *Fusarium culmorum* ve *Fusarium moniliforme*'ye etkili olmuştur (Şekil 8). Azo Tarla 5 *Fusarium solani*'ye etkili olmuştur. Tüm *Azotobacter* izolatları *Fusarium* B2 ve B2-1'e karşı etkili bulunmuştur.

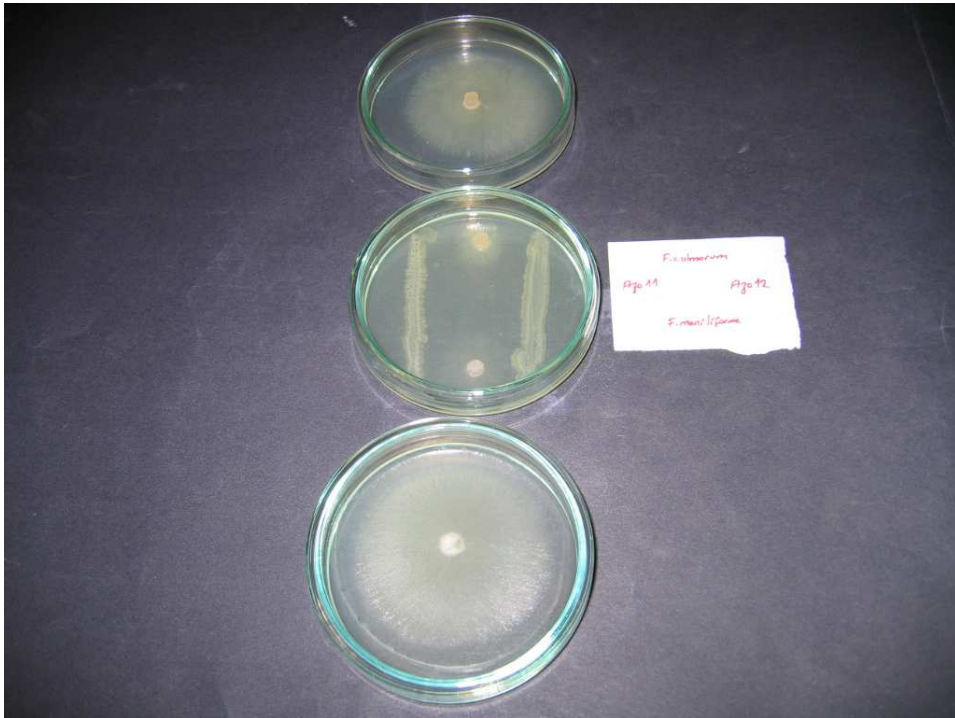
Çizelge 3.1.2. Toprakтан İzole Edilen *Azotobacter* spp. İzolatlarının Patojen Fungusların Gelişimlerine Olan Etkilerinin Belirlenmesi

Patojen Funguslar	Koloni çapı (cm)					
	<i>Fusarium oxysporum</i> E.F. Sm. & Swingle	<i>Fusarium culmorum</i> (W.G. Sm.) Sacc.	<i>Fusarium moniliforme</i> J. Sheld.	<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	<i>Fusarium</i> B2 İzolatu	<i>Fusarium</i> B2-1 İzolatu
<i>Azotobacter</i>ler						
Azo Tarla 25	2,4				1,3	1,6
Azo Tarla 26	2,5			3,5	2,0	2,3
Azo Tarla 48					1,8	1,5
Azo Tarla 31	3,2				1,5	1,2
Azo Tarla 4	3,1				1,9	1,6
Azo Tarla 3		3,0	4,0	4,2	2,3	2,6
Azo Tarla 1		3,1	3,5	4,3	2,5	2,2
Azo Tarla 11		2,3	3,1		1,7	1,5
Azo Tarla 5				4,1	1,8	1,7
Kontrol Grubu	5,8	6,5	6,0	6,5	7,8	7,9

 Patojenler tarafından tamamen kaplanan petripler



Şekil 7. Azo Tarla 26 İzolatının *Fusarium solani*'ye Karşı İnhibisyonları




Şekil 8. Azo Tarla 11 İzolatının *Fusarium culmorum* ve *Fusarium moniliforme*'ye Karşı İnhibisyonları

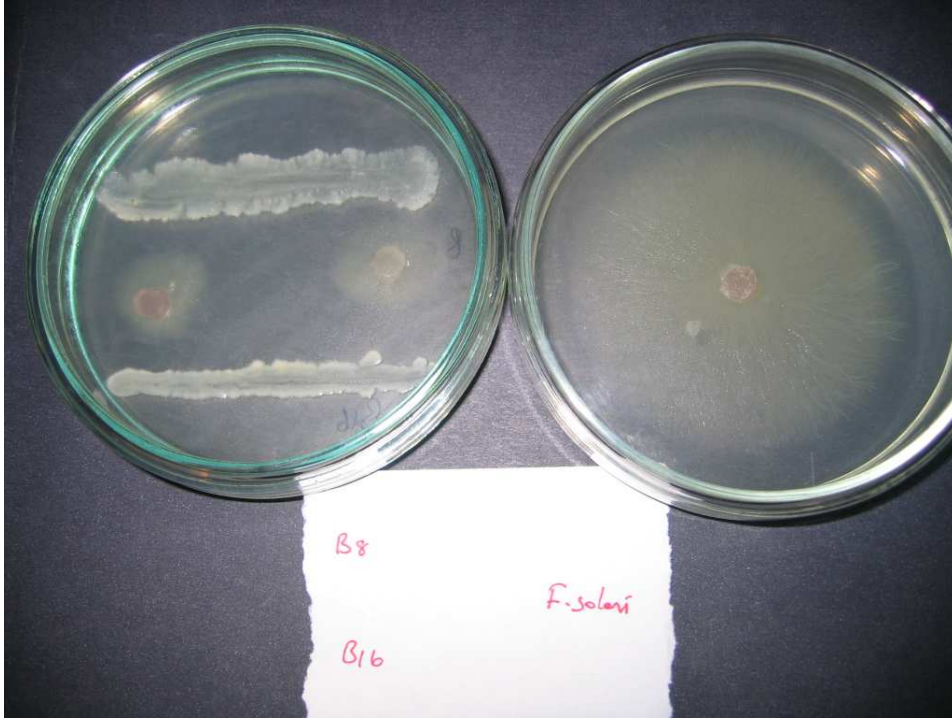
3.1.3. Toprakтан İzole Edilen *Bacillus* spp. İzolatlarının Patojenlerin Gelişimine Olan Etkileri

Toprak örneklerinden 16 *Bacillus* izolatu elde edilmiş, bunlardan 6 izolatu test patojenlerine karşı etkili olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.1.3). B3 izolatu *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani*'ye etkili olurken, B9 izolatu *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium moniliforme*'ye etkili olmuştur. B16 izolatu *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum* ve *Fusarium moniliforme*'ye etkili olmuştur (Şekil 9). B6 izolatu *Fusarium moniliforme*'ye etkili olmuştur. B8 izolatu *Fusarium solani*'ye etkili olmuştur. Tüm *Bacillus* izolatları *Fusarium* B2 ve B2-1'e karşı etkili bulunmuştur.

Çizelge 3.1.3. Toprakтан İzole Edilen *Bacillus* spp. İzolatlarının Patojen Fungusların Gelişimlerine Olan Etkilerinin Belirlenmesi

Patojen Funguslar	Koloni çapı (cm)					
	<i>Fusarium oxysporum</i> E.F. Sm. & Swingle	<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	<i>Fusarium culmorum</i> (W.G. Sm.) Sacc.	<i>Fusarium moniliforme</i> J. Sheld.	<i>Fusarium</i> B2 İzolatu	<i>Fusarium</i> B2-1 İzolatu
Bacilluslar						
B3	2,5	3,5			2,2	1,8
B9	3,3	2,4		4,2	2,4	1,5
B1					3,2	2,9
B16		2,0	3,3	2,2	1,8	2,7
B6				4,2	1,5	1,9
B8		3,0			2,7	2,8
Kontrol Grupları	5,0	7,0	6,9	6,4	7,3	7,6

 Patojenler tarafından tamamen kaplanan petriyeler



Şekil 9. B16 İzolatının *Fusarium solani*'ye Karşı İnhibisyonu

3.1.4. Toprakтан İzole Edilen *Pseudomonas* spp. İzolatlarının Patojenlerin Gelişimine Olan Etkileri

Toprak örneklerinden 8 *Pseudomonas* izolatu elde edilmiş, ancak bunların hiçbirisi test patojenlerimize karşı etkili olmamıştır.

3.1.5. *T. harzianum* İzolatlarının Bitki Patojenlerinin Gelişimine Olan Etkileri

Mikrobiyoloji laboratuvarında daha önce izole edilmiş ve patojen küflere karşı etkili olduğu belirlenen *Trichoderma harzianum*'un 12 farklı izolatının (T15, T4D, Tm2, Tm4A, Tm7, Tm8D, Tm10, Tm11, Tm8B, Tm18, Tm20, Tm22) *Fusarium* sp.'nin B2 ve B2-1 izolatlarının koloni gelişimleri üzerine etkilerini belirlemek için % RI (İnhibisyon değeri) saptanmıştır (Çizelge 3.1.5).

Fusarium B2 izolatına karşı en yüksek % RI değeri 31,5 ile T15 ile elde edilmiştir. En düşük % RI değeri ise Tm8B izolatında belirlenmiştir (Şekil 10, 11).

Fusarium B2-1 izolatına karşı ise en etkili izolat Tm20 ve T15 olmuştur. Tm20 izolatı % RI değeri 28,5, T15 izolatı ile 28 olarak belirlenmiştir (Şekil 12, 13).

Çizelge 3.1.5. *T.harzianum* izolatlarının % RI (inhibisyon) değerleri

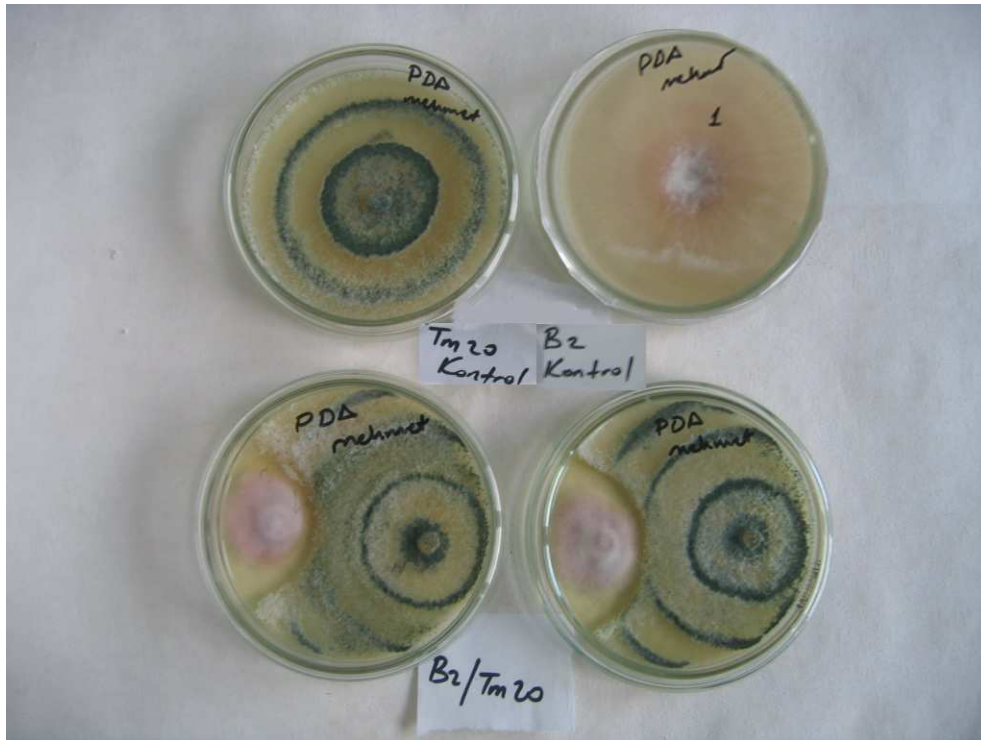
<i>T.harzianum</i> izolatları	RI değeri (%)	
	<i>Fusarium</i> sp. B2	<i>Fusarium</i> sp. B2-1
Tm2	1,2	1,3
Tm7	21,8	24,2
Tm8D	1,9	13,0
Tm11	1,4	5,6
Tm8B	1,1	1,2
Tm18	20,0	21,8
T4D	1,2	1,2
Tm4A	16,6	26,4
Tm22	1,9	9,0
Tm20	18,6	28,5
Tm10	4,7	4,7
T15	31,5	28,0



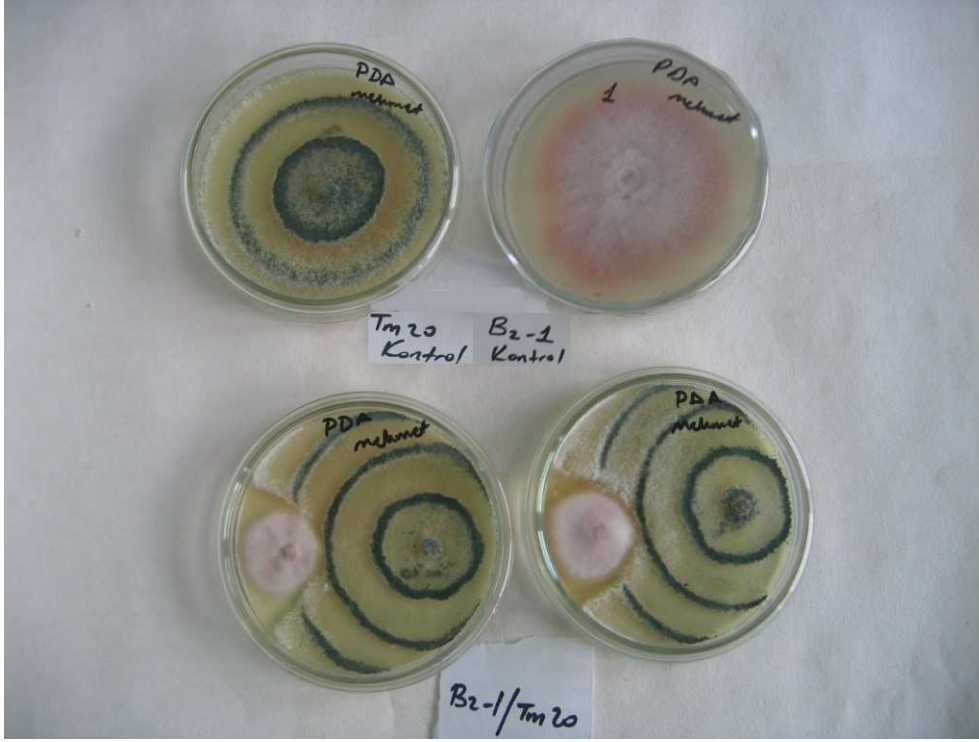
Şekil 10. *Trichoderma harzianum*'un T15 İzolatının *Fusarium* B2'yi İnhibisyonu



Şekil 11. *Trichoderma harzianum*'un T15 İzolatının *Fusarium B2-1*'i İnhibisyonu



Şekil 12. *Trichoderma harzianum*'un Tm20 İzolatının *Fusarium B2*'yi İnhibisyonu



Şekil 13. *Trichoderma harzianum*'un Tm20 İzolatının *Fusarium B2-1*'i İnhibisyonu

3.2. İzolatların Tanımlanması

Aktinomisetlerin tanımlanması yapılamamıştır, sadece morfolojik olarak kuru, sert görünümlü, renkli ya da renkli olmayan, besiyerine sıkı bir şekilde tutunmuş olan kolonilerin aktinomiset olduğu belirlenmiştir. Ancak ilave çalışmalara gerek duyulmaktadır.

Pseudomonas türlerinin Gram boyamalarına ve oksidazlarına bakılarak Biolog cihazında identifikasyonları yapılmaya çalışılmıştır. İzole etmiş olduğumuz 8 izolattan 3 tanesi tanımlanabilmiştir. Pse 7 *Pseudomonas fluorescens* biotype G, Pse 9 *Pseudomonas fluorescens* biotype G, Pse 14 *Pseudomonas fluorescens* biotype G olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2a).

Etkili olduğu saptanan *Azotobacter* türleri Gram negatif kok şeklinde, 5 izolat katalaz (+) iken 4 izolat katalaz (-) çıkmıştır. 9°C, 14°C, 18°C, 32°C ve 37°C'deki gelişimleri incelenmiştir. 37°C'deki sıcaklıkta gelişim 3 gün içerisinde olurken, düşük sıcaklıklara doğru gidildikçe gelişimin yavaşladığı ve 9°C'de ise gelişimin olmadığı gözlenmiştir. % 1'lik tuz ortamında gelişim ise; iki gün

içerisinde sadece 2 izolatta gelişme olmazken diğer izolatlar gelişmişlerdir. Hareketlilik testinde bir gün sonra 4 izolatta hareket görülmesine rağmen diğerlerinde hareket görülmemiştir (Çizelge 3.2b).

Etkili basil izolatları Vitek basil kartları ile biyokimyasal testleri yapılmış (Çizelge 3.2c) ve bunun sonunda izolatlarımızdan B1 *Bacillus licheniformis*, B3 *Bacillus subtilis*, B6 *Paercibacillus (Bacillus)alvei*, B8 *Bacillus licheniformis*, B9 *Bacillus licheniformis*, B16 *Bacillus sphaericus* olarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.2a. *Pseudomonas* izolatlarının test sonuçları

İzolatlar Testler	Pse 7 <i>Pseudomonas fluorescens biotype G</i>	Pse 9 <i>Pseudomonas fluorescens biotype G</i>	Pse 14 <i>Pseudomonas fluorescens biotype G</i>
Gram boyama	-	-	-
Oksidaz	+	+	+

Çizelge 3.2b. Etkili Olan *Azotobacter* izolatlarının test sonuçları

İzolatlar Testler	Azo Tarla 25	Azo Tarla 26	Azo Tarla 48	Azo Tarla 31	Azo Tarla 4	Azo Tarla 3	Azo Tarla 1	Azo Tarla 11	Azo Tarla 5
Gram boyama	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Katalaz	-	+	+	-	+	+	+	-	-
Hareketlilik	+	+	+	-	+	-	-	-	-
Sıcaklık 37°C de 3 gün	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sıcaklık 32°C de 3 gün	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sıcaklık 18°C de 10 gün	-	-	-	+	-	-	+	-	-
Sıcaklık 14°C de 10 gün	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Sıcaklık 9°C de 10 gün	-	-	-	-	-	-	-	-	-
% 1'lik Tuz Ortamı 2 gün	+	+	+	-	-	+	+	+	+

Çizelge 3.2c. Etkili Olan *Bacillus* izolatlarının Vitek test sonuçları

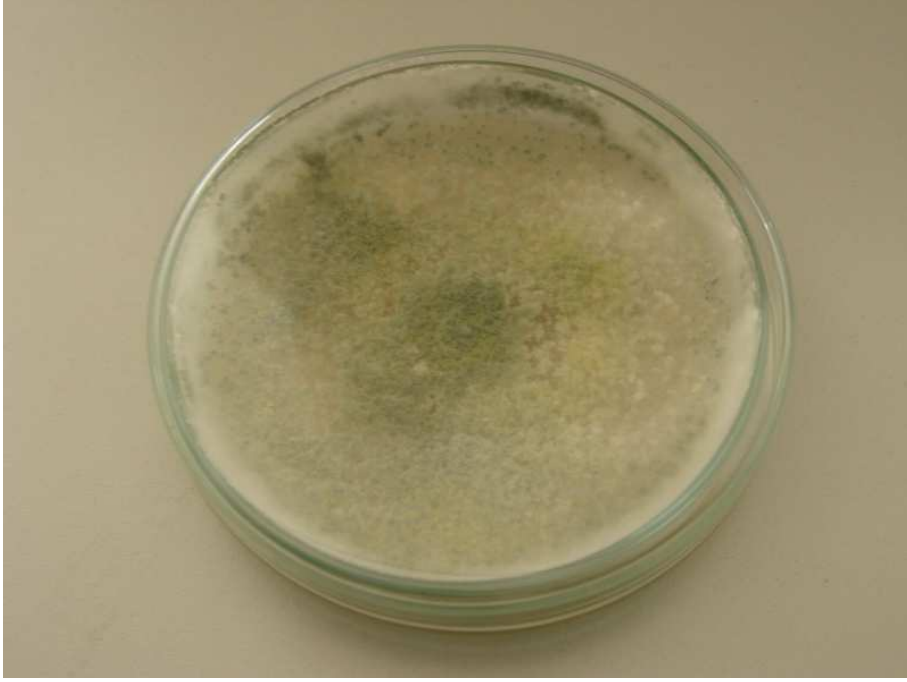
İzolatlar Testler	B1 <i>Bacillus licheniformis</i>	B3 <i>Bacillus subtilis</i>	B6 <i>Paercibacillus (Bacillus) alvei</i>	B8 <i>Bacillus licheniformis</i>	B9 <i>Bacillus licheniformis</i>	B16 <i>Bacillus sphaericus</i>
Gram boyama	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+
Karbonhidratlar						
Tagatoz	+	-	-	+	+	-
Sükroz	+	+	-	+	+	-
Glukoz	+	+	+	+	+	-
İnositol	+	+	-	+	+	-
Galaktoz	-	-	+	-	-	-
Arabinoz	+	+	-	+	+	-
Ksiloz	-	-	-	-	-	-
Mannitol	+	+	-	+	+	-
Rafinoz	-	-	-	-	-	-
Salisin	+	+	-	+	+	-
Amigdalın	+	-	-	+	+	-
İnulin	+	+	-	+	-	-
Riboz	-	+	-	-	-	-
Maltoz	+	+	-	+	+	-
Trehaloz	+	+	+	+	+	-
Palatinoz	+	+	-	+	+	-
Sorbitol	-	+	-	+	-	-
N-Asetil-D- Glukozamin	+	-	+	+	+	-
Amilopektin	-	+	-	-	-	-
Arabitol	-	-	-	-	-	-
Negatif Kontrol	-	-	-	-	-	-
Tetrazolyum Kırmızısı	-	-	+	-	-	-
Potasyum Thiosiyanat	+	+	-	+	+	-
Sodyum Klorid (% 7 Sodyum klorid)	+	+	-	+	+	-
Mandelik asit	+	+	-	+	+	-
Oleandomisin	+	-	-	+	+	-
Sodyum asetat Amonyum sülfat	-	+	-	-	-	+
Poliamidohigrostrep tin	+	+	+	+	+	-
Nalidiksik asit Ethidyum bromit	-	-	-	-	-	-
Eskulin Ferrik amonyum sitrat	+	+	+	+	+	-

3.3. Sera koşullarında *T.harzianum* uygulamaları

T.harzianum'un T15 (Şekil 14) izolatının uygulandığı tohumluk şeker pancarı fidelerinde hastalık oluşturan toprak kökenli bitki patojenleri olan *Fusarium* sp.'nin B2 (Şekil 15) ve B2-1 (Şekil 16) izolatlarına olan etkilerini belirlemek için kurulan denemede, *Trichoderma harzianum* izolatının patojenleri engelleme oranlarına bakılmıştır. Bazı saksılar sadece T15 (Şekil 17) ile, bazı saksılar B2 (Şekil 18) veya B2-1 (Şekil 19) ile ve bazı saksılar da hem T15 ve B2 ile (Şekil 20) veya T15 ve B2-1 ile (Şekil 21) aşılansınlar ve bir grupta içerisinde hiçbir antagonist ve patojenin olmadığı kontrol grubu eklenmiştir (Şekil 22). Denemeler dört paralel olacak şekilde yürütülmüş ve haftalık olarak antagonist ve patojenin sayımları yapılmıştır. Değerlendirme sonuçları Çizelge 3.3a'da verilmiştir. Saksılarda kullandığımız toprağın pH'ı 8,43 olarak bulunmuştur. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Eskişehir Orman Toprak ve Ekoloji Araştırmaları Enstitüsü Müdürlüğünün toprak analiz laboratuvarında, kullanılan saksı topraklarının analizleri yapılmış ve saksılardaki toprağın kimyasal özellikleri Çizelge 3.3b'de verilmiştir.

Sadece *Fusarium* sp. izolatları ile aşılansınmış saksılardan alınan fidelerin herhangi bir yerinden alınıp ekilen parçalarda *Fusarium* izolatlarına rastlanılmasına karşılık hastalık oluşması beklenirken herhangi bir hastalık belirtisine rastlanılmamış olup, T15 ile aşılansınmış saksılardan alınan fidelerin herhangi bir yerinden alınıp ekilen parçalarda da T15 izolatlarına rastlanılmış ve hem T15 ve B2 ile hemde T15 ve B2-1 ile aşılansınmış saksılarla, kontrol grubu saksılarında da bir hastalık belirtisine rastlanılmamıştır.

Çizelge 3.3a'da 7 hafta boyunca izlenen sayımlar verilmiştir, toprakta 7 hafta süresince *Trichoderma harzianum* T15 izolatının bütün saksılarda bulunduğu saptanmıştır. 7. hafta *Trichoderma* ve *Fusarium* B2 ve B2-1 izolatlarının bir arada bulunduğu saksılarda *Fusarium* saptanmamıştır.



Şekil 14. *Trichoderma harzianum* T15 izolatu



Şekil 15. *Fusarium* sp. B2 izolatu



Şekil 16. *Fusarium* sp. B2-1 izolatu

Çizelge 3.3a. Sera koşullarında tohumluk şeker pancarı fidelerine uygulanan T15 izolatu ile patojenlerin etkileşimleri

	1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta	5. Hafta	6. Hafta	7. Hafta
T15	$1,5 \times 10^{10}$	$2,0 \times 10^{10}$	$1,5 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$	$7,0 \times 10^9$	$1,3 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$
B2	$7,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$	$7,0 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$
B2-1	$6,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	$3,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$
T15	$1,0 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{10}$	$1,2 \times 10^{10}$	$1,8 \times 10^{10}$	$9,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^{10}$	$8,0 \times 10^9$
B2	$2,0 \times 10^9$	$3,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$6,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	-
T15	$2,0 \times 10^9$	$1,4 \times 10^{10}$	$8,0 \times 10^9$	$4,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	$4,0 \times 10^9$	$1,3 \times 10^{10}$
B2-1	-	$3,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$	$6,0 \times 10^9$	$3,0 \times 10^9$	$5,0 \times 10^9$	-
Kontrol	$1,0 \times 10^9$	$6,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^8$	$5,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$
	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>
T15 (Steril Toprak)	$4,0 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$	$8,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^3$	$6,0 \times 10^3$	$8,0 \times 10^3$

Çizelge 3.3b. Sera koşullarında kullanılan toprakların analiz sonuçları

FİZİKSEL ANALİZLER				KİMYASAL ANALİZLER						ALINDIĞI YER	
Kum %	Toz %	Kil %	TOPRAK TÜRÜ (Uluslararası Toprak Üçgenine Göre)	pH 1/2,5	Kireç		Organik Madde %	Total Azot % (Hesapla)	P ₂ O ₅ ppm	Tuzluluk EC10 ³ 25°C mS/cm	
					Total %	Aktif %					
12,37	26,00	61,63	Kil	8,43	17,27		1,86	0,09	45	1,44	Saksı Toprağı



Şekil 17. T15 aşlanmış saksılar



Şekil 18. B2 ile aşlanmış saksılar



Şekil 19. B2-1 ile aşlanmış saksılar



Şekil 20. T15 ve B2 ile aşlanmış saksılar



Şekil 21. T15 ve B2-1 ile aşılanmış saksılar



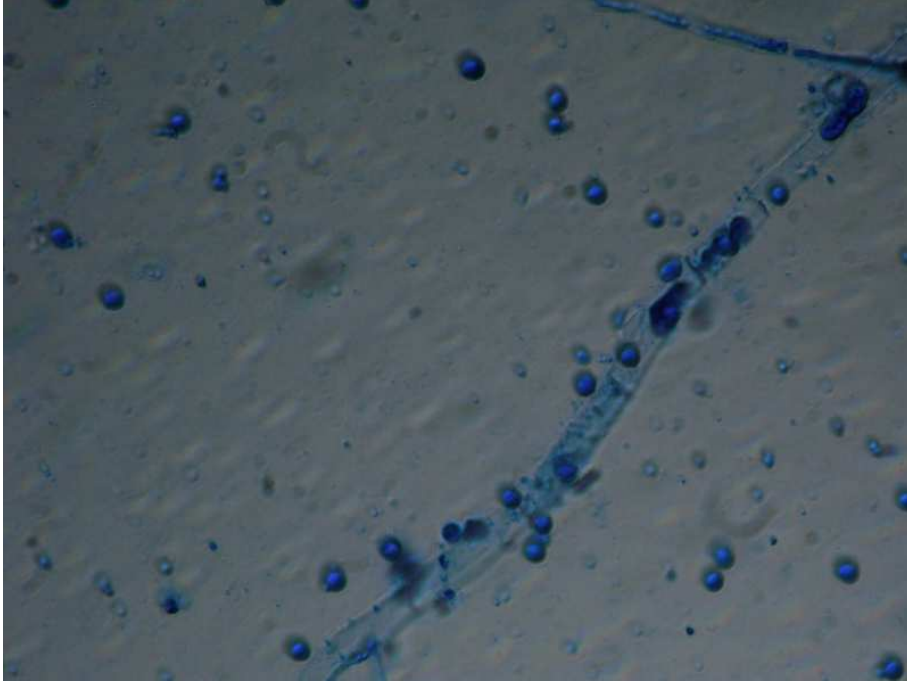
Şekil 22. Kontrol grubu olan saksılar

3.4. Tarla koşullarında *T.harzianum* uygulamaları

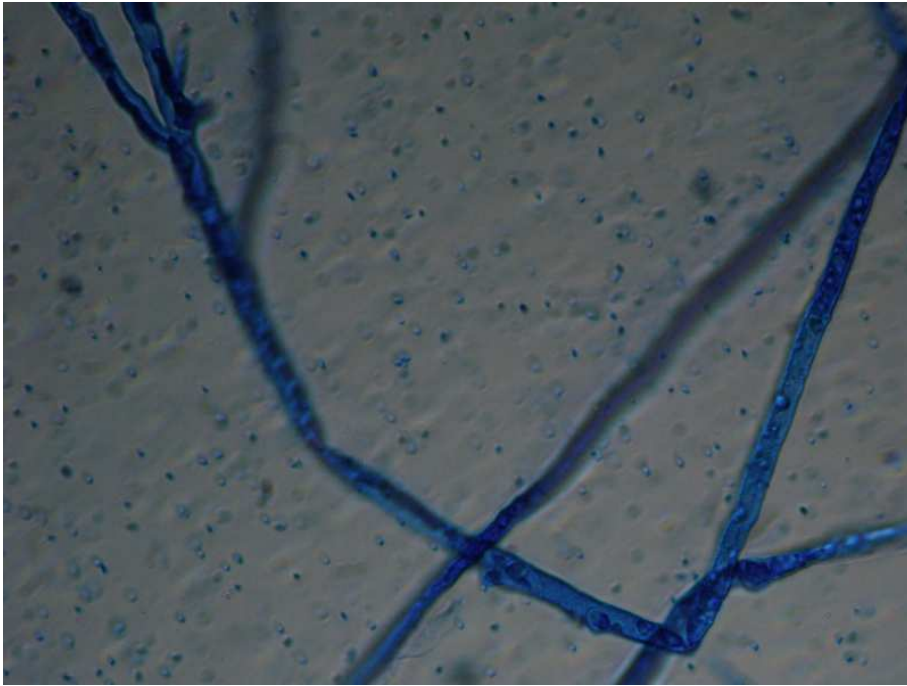
Tesadüf parselleri deneme desenine göre hazırlanan tarla çalışmasında, *T.harzianum*'un T15 (Şekil 23) izolatının uygulandığı tohumluk şeker pancarı fidelerinde hastalık oluşturan toprak kökenli bitki patojenleri olan *Fusarium* sp.'nin B2 (Şekil 24) ve B2-1 (Şekil 25) izolatlarına olan etkilerini saptamak için kurulan denemelerde her parsel etiketlenmiş olup (Şekil 26, 27, 28, 29), *Trichoderma harzianum* izolatının patojenleri engelleme oranlarına bakılmıştır. Bazı parseller sadece T15 (Şekil 30) ile, bazı parseller B2 (Şekil 31) veya B2-1 (Şekil 32) ile ve bazı parseller de hem T15 ve B2 ile (Şekil 33) veya T15 ve B2-1 ile (Şekil 34) aşılınmışlar ve bir grupta içerisine hiçbir antagonist ve patojenin olmadığı kontrol grubu eklenmiş (Şekil 35) ve 15 günde bir antagonist ve patojenin sayımları yapılmıştır. Değerlendirme sonuçları Çizelge 3.4a ve 3.4b'de verilmiştir. Tarla topraklarının pH'ları ise; Suluova deneme tarlası pH:8,82, Targi deneme tarlası pH:7,9 olarak bulunmuştur.

Sadece *Fusarium* sp. izolatları ile aşılınmış parsellerden alınan numunelerde *Fusarium* sp.'ye rastlanmış ve hastalık oluşturma beklenirken, herhangi bir hastalık belirtisine rastlanılmamıştır. T15 ile aşılınmış parseller ve hem T15 ve B2 ile hemde T15 ve B2-1 ile aşılınmış parseller ve kontrol grubu parsellerinde de herhangi bir hastalık belirtisine rastlanılmamıştır.

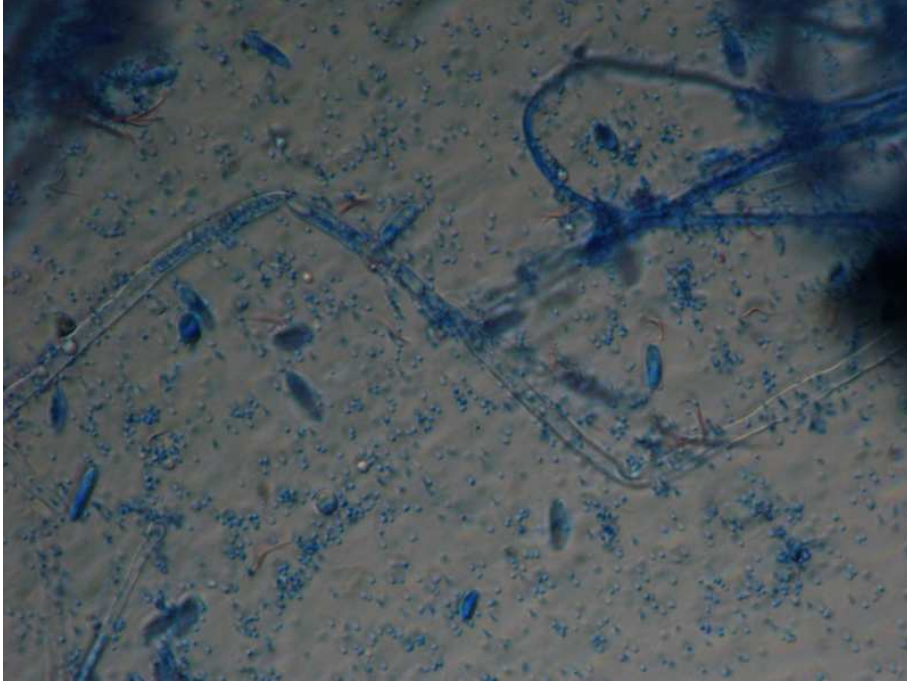
T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı Eskişehir Orman Toprak ve Ekoloji Araştırmaları Enstitüsü Müdürlüğünün toprak analiz laboratuvarında, kullanılan tarla topraklarının analizleri yapılmış ve Çizelge 3.4c'deki sonuçlar alınmıştır.



Şekil 23. *Trichoderma harzianum* T15 izolatının mikroskop görüntüsü



Şekil 24. *Fusarium* sp. B2 izolatının mikroskop görüntüsü



Şekil 25. *Fusarium* sp. B2-1 izolatının mikroskop görüntüsü

Çizelge 3.4a. Suluova deneme tarlasında tohumluk şeker pancarı fidelerine uygulanan T15 izolatu ile patojenlerin etkileşimleri

	15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	75. Gün
T15	$2,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$3,0 \times 10^8$	$9,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^9$
B2	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$	$1,5 \times 10^9$	$2,0 \times 10^8$	$6,0 \times 10^9$
B2-1	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$	$3,0 \times 10^9$
T15	-	-	-	-	$2,5 \times 10^9$
B2	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^9$	$6,0 \times 10^9$
T15	-	-	$1,0 \times 10^8$	-	$1,0 \times 10^9$
B2-1	$1,0 \times 10^9$	$2,0 \times 10^9$	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$7,0 \times 10^9$
Kontrol	$1,0 \times 10^9$ <i>Fusarium</i> , $1,0 \times 10^8$ <i>Trichoderma</i>	$2,0 \times 10^9$ <i>Fusarium</i> , - <i>Trichoderma</i>	$1,0 \times 10^8$ <i>Fusarium</i> , - <i>Trichoderma</i>	$1,0 \times 10^9$ <i>Fusarium</i> , - <i>Trichoderma</i>	$4,0 \times 10^9$ <i>Fusarium</i> , $2,0 \times 10^9$ <i>Trichoderma</i>

Çizelge 3.4b. Targi deneme tarlasında tohumluk şeker pancarı fidelerine uygulanan T15 izolatu ile patojenlerin etkileşimleri

	15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	75. Gün
T15	4,0x 10 ⁹	1,0x10 ⁹	5,0x10 ⁸	4,0x10 ⁸	1,0x10 ⁸
B2	1,0x10 ⁹	2,0x10 ⁸	1,0x10 ⁸	2,0x10 ⁸	1,0x10 ⁸
B2-1	2,0x10 ⁹	3,0x10 ⁸	1,0x10 ⁹	2,0x10 ⁸	1,0x10 ⁹
T15	3,0x10 ⁸	-	1,0x10 ⁸	-	1,0x10 ⁸
B2	1,0x10 ⁹	2,0x10 ⁸	2,0x10 ⁹	1,0x10 ⁹	1,0x10 ⁹
T15	-	-	1,0x10 ⁸	-	1,0x10 ⁹
B2-1	1,0x10 ⁹	1,0x10 ⁸	2,0x10 ⁹	2,0x10 ⁹	2,0x10 ⁸
Kontrol	1,0x10 ⁹ <i>Fusarium</i> , 1,0x10 ⁹ <i>Trichoderma</i>	1,0x10 ⁹ <i>Fusarium</i> , - <i>Trichoderma</i>	1,0x10 ⁸ <i>Fusarium</i> , - <i>Trichoderma</i>	1,0x10 ⁹ <i>Fusarium</i> , - <i>Trichoderma</i>	1,0x10 ⁸ <i>Fusarium</i> , 2,0x10 ⁹ <i>Trichoderma</i>

Çizelge 3.4c. Tarla koşullarında kullanılan toprakların analiz sonuçları

FİZİKSEL ANALİZLER				KİMYASAL ANALİZLER						ALINDIĞI YER	
Kum %	Toz %	Kil %	TOPRAK TÜRÜ (Uluslararası Toprak Üçgenine Göre)	pH 1/2,5	Kireç		Organik Madde %	Total Azot % (Hesapla)	P ₂ O ₅ ppm	Tuzluluk EC10 ³ 25°C mS/cm	
					Total %	Aktif %					
32,25	23,15	42,29	Kil	8,82	15,21		1,45	0,08	32	1,23	Suluova Aktarla Köyü - Amasya
42,33	21,81	35,86	Balçıklı Kil	7,90	14,22		1,39	0,07	22	0,98	Targi A.Ş. Kazanasmaz Çiftliği - Amasya



Şekil 26. Suluova deneme tarlası ekimden önce genel görünüm



Şekil 27. Targi deneme tarlası ekimden önce genel görünüm



Şekil 28. Suluova deneme tarlası aşılannış fide ekim alışmaları



Şekil 29. Targi deneme tarlası aşılannış fide ekim alışmaları



Şekil 30. T15 ile aşılannış fideler



Şekil 31. B2 ile aşılannış fideler



Şekil 32. B2-1 ile aşlanmış fideler



Şekil 33. T15 ve B2 ile aşlanmış fideler



Şekil 34. T15 ve B2-1 ile aşılannmış fideler



Şekil 35. Kontrol grubu olan fideler

3.5. Topraktan İzole Edilmiş Olan İzolatların Antibiyotik Dirençleri

Topraktan izole edilmiş olan *Bacillus* sp. (Çizelge 3.5a), *Pseudomonas* sp. (Çizelge 3.5b), *Azotobacter* sp. (Çizelge 3.5c), izolatlarının antibiyotiklere karşı hiçbir izolatın direnci olmayıp, kullanılan antibiyotiklere karşı gelişim gösterememişlerdir. Antibiyotik disklerinin etrafında gelişim olmayıp zonlar meydana gelmiştir.

Çizelge 3.5a. Antibiyotik disklerinin *Bacillus* sp. izolatlarına etkileri

İzolatlar	İnhibisyon çapı (cm)			
	Oflaxacin (5µg)	Oxacilin (5µg)	Rifampicin (5µg)	Gentamycin (30µg)
B16	3	1,6	1,5	3,5
B19	4	1	1,6	3
B12	3,5	1,5	1,5	3
B11	2	1,8	1,7	2
B5	3	1,6	4	4
B2	2,5	2	3	3,5
B20	3,5	1,7	1,6	4
B4	2,2	1,8	1,5	3,5
B17	5	3	3	3,5
B3	2,5	2	3	3
B1	3	1,5	1,8	3

Çizelge 3.5b. Antibiyotik disklerinin *Pseudomonas* sp. izolatlarına etkileri

İzolatlar	İnhibisyon çapı (cm)			
	Oflaxacin (5µg)	Oxacilin (5µg)	Rifampicin (5µg)	Gentamycin (30µg)
Pse 5	2	1,5	2,8	3,8
Pse 7	2,5	1,8	2,5	3,5
Pse 9	2,1	1,6	2,6	3,6
Pse 14	2,2	1,5	2,3	4

Çizelge 3.5c. Antibiyotik disklerinin *Azotobacter* sp. izolatlarına etkileri

İzolatlar	İnhibisyon çapı (cm)			
	Oflaxacin (5µg)	Oxacilin (5µg)	Rifampicin (5µg)	Gentamycin (30µg)
Azo Tarla 12-2	3	1	2,5	3,8
Azo Tarla 11-2	2	1	3	4
Azo Tarla 6	3,5	1	3,5	3,5
Azo Tarla 5	2	2,5	3	3
Azo Tarla 10	3,5	1,2	2,3	4,5
Azo Tarla 1	4	0,8	2,5	4
Azo Tarla 25	3,5	3,5	2,5	3,5
Azo Tarla 16	4	1,5	3	4,5

Bacillus sp. izolatları Oflaxacin ve Gentamycin'e karşı hassas olduklarından dolayı, diğer antibiyotiklere nazaran daha geniş inhibisyon çapları meydana gelmiştir. Benzer çalışmalarda da Oflaxacin'e karşı *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin hassas oldukları bulunmuştur [85].

Gentamycin Gram pozitif ve Gram negatif birçok mikroorganizmaya karşı bakterisidal etkiye sahiptir [86]. Çalışmamızda da, *Pseudomonas* spp. izolatları ve *Azotobacter* spp. izolatları Gentamycin'e karşı diğer antibiyotiklerden daha hassas oldukları için geniş inhibisyon çapları meydana gelmiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

4.1. Patojenlere Karşı İzole Edilmiş Olan İzolatların Biyokontrol Ajamı Olarak Kullanılması

Bitki hastalıklarına karşı koruma sağlamak için son yıllarda pestisidlerin yerine biyolojik mücadelenin kullanımı önerilmektedir [110-112]. Bu amaçla da mikroorganizmalar üzerine araştırmalar yoğunlaşmış durumdadır.

Mikroorganizmalar arasında aktinomisetler en çok çalışılan gruptur. Çalışmalar özellikle *Streptomyces*'e ait türlerin antimikrobiyal etkileri üzerine yoğunlaşmıştır [96] ve bu izolatların çoğu toprak orijinlidir [97].

Şeker pancarı topraklarından izole ettiğimiz 48 aktinomiset izolatının 7 tanesi bitki patojeni funguslara karşı etkili olarak bulunmuştur. Benzer olarak yapılan çalışmalarda da aktinomisetlerin Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin yanı sıra, funguslara karşı da antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [88]. İtalyada yabani bitkilerden ve kültür bitkilerinden [91], Güney Avustralya buğday köklerinden [92] ve Güney Çin'deki [93] domates bitkisi köklerinden izole edilen aktinomisetlerin de bitki patojeni funguslara karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalarda antagonistik etki gösteren izolatların *Streptomyces*'lere ait izolatlar olduğu bildirilmiştir.

Cao ve ark. [68] yüzeyi steril edilmiş muz köklerinden 131 endofitik aktinomiset izolatı yapmışlardır. Araştırmacılar bu izolatların % 18,3'ünün muz ekstraktı içeren ortamda patojenik *F. oxysporum* f. sp. *cubense*'nin büyümesi üzerine etkili olduğunu bildirmişlerdir. *Streptomyces griseorubiginosus* olarak tanımlanan izolatların % 37,5'u *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*'ye karşı antagonistik etki gösterdiği belirlenmiştir [68].

Fourati ve ark. [88] Tunus çöl topraklarından izole edilmiş yeni bir aktinomiset izolatının *Verticillium dahliae*, *Fusarium* sp. ve *Candida tropicalis* R2 CIP203'e karşı etkili olduğunu belirlemişlerdir.

İlaç formuna getirilen *Streptomyces griseoviridis*'in *Fusarium* spp., *Alternaria brassicicola*, *Phomopsis* spp., *Botrytis* spp., *Phytium* spp. ve *Phytophthora* spp.'nin kontrolünde kullanılabileceğini bildirilmiştir [94].

Boudjella ve ark. [95] Cezayir topraklarından izole edilen aktinomiset Sg 10 izolatının Gram pozitif bakterilere ve *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Geotrichum candidum*, *Mucor ramannianus* NRRL 1829, *Penicillium* sp., *Pythium irregulare* ve *Sclerotium sclerotiorum*'a karşı etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar Gram pozitif bakterilere karşı bu aktinomisetin inhibisyon etkisi yüksek iken, funguslara karşı bu etkinin daha az olduğunu bildirmişlerdir. *Fusarium culmorum* için inhibisyon mesafesi 1mm, *Mucor ramannianus* NRRL 1829 izolatu için ise bu değer 12mm olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda, en yüksek inhibisyon aktivitesi Akt 16-2 izolatu ile elde edilmiştir. Test patojenlerin kontrol besi ortamındaki gelişmeleri ise 4,9cm-6,1cm arasında değişmektedir (Bkz. Çizelge 3.1.1). Test patojenlerinin gelişimleri *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle 1,6cm, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. 2,0cm, *Fusarium moniliforme* J. Sheld 2,4cm iken, Akt 16-2 izolatu *Fusarium* spp. B2 ve B2-1 izolatlarımıza karşı daha yüksek inhibitör aktivite göstermiştir. *Fusarium* B2 izolatu 0,5cm, *Fusarium* B2-1 izolatu 0,5cm gelişme gösterebilmiştir. Halbuki aynı izolatlar kontrol besi ortamında sırasıyla 7,5cm ve 7,3cm gelişme göstermişlerdir.

Son yıllarda *Bacillus* türleri ile ilgili antifungal çalışmalar da hız kazanmıştır [69, 98-100]. Cavaglieri ve ark. [98] potansiyel biyokontrol ajanı olarak *Bacillus* izolatlarını bildirmişlerdir. Yine benzer olarak yapılan çalışmalarda *Bacillus* türlerinin antibiyotik özellik göstermeleri ve patojenik bitki funguslarına karşı antifungal etkiye sahip olmaları nedeniyle biyolojik kontrolde potansiyel bir etkiye sahip olabileceği bildirilmiştir [101-103]. Bevivino ve ark. [104] *B. subtilis* CE1'in mısır tohumlarında bulunan *F. verticillioides*'e karşı yapılan sera denemelerinde önemli antagonizma ilişkisi gösterdiğini bulmuşlardır.

Çalışmamızda şeker pancarı topraklarından izole edilen 16 *Bacillus* izolatu içinde en yüksek inhibisyon aktivitesi B3 izolatu ile elde edilmiştir. Bu izolat Vitek sisteminde *Bacillus subtilis* olarak tanımlanmıştır. Benzer olarak yapılan çalışmada *B. subtilis*'in mısır kök bölgesindeki *Fusarium verticillioides*'i engellediği bulunmuştur [69].

Test patojenlerin kontrol besi ortamındaki gelişmeleri 5,0cm-7,0cm arasında değişmektedir (Bkz. Çizelge 3.1.3). Test patojenlerinin gelişimleri

Fusarium oxysporum E.F. Sm. & Swingle 2,5cm, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. 3,5cm iken, B3 izolatu *Fusarium* B2 ve B2-1 izolatlarımıza daha etkili olarak gelişimlerini engelleyebilmiştir. *Fusarium* B2 izolatu 2,2cm, *Fusarium* B2-1 izolatu 1,8cm gelişme gösterebilmiştir. Halbuki aynı izolatların besi ortamında sırasıyla 7,3cm ve 7,6cm gelişme çapı ölçülmüştür. Cavaglieri ve ark. [98] mısır bitkisinden izole ettikleri *Fusarium verticillioides*'in biyokontrolü amaçlı olarak *Bacillus* spp. ve *Arthrobacter* spp. türlerini test etmişlerdir.

Cavaglieri ve ark. [69] *Bacillus* türlerinin geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahip olması ve endospor yapıları nedeniyle kök patojenlerine karşı etkili olduklarını bildirmişlerdir. Dal-Soo ve ark. [99] bu nedenle *Bacillus* türlerinin, bitki patojenlerini kontrol altına almada kullanılabileceğini söylemişlerdir. Yine rhizosfer kolonizasyonu ve kök hastalıklarını kontrol için *Bacillus* türlerinin kullanılabileceği ve tohum uygulamalarının başarıyla yapılabileceği bildirilmiştir [100].

Duitman ve ark. [46] tarafından, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 izolatının, antifungal peptid antibiyotik potansiyeli içeren, mycosubtilin üreticisi olarak teşhis etmişlerdir.

B.subtilis'in özellikle bitki hastalıklarına neden olan *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle'nin büyümesini engelleyici Surfactin ve İturin A gibi antimikrobiyallar ürettiği bildirilmiştir [47-49].

Bacillus subtilis (Kodiak), *Trichoderma virens* (SoilGard) ve *T. harzianum* (RootShield)'un ticari ürünleri yapılarak, bunların farklı formülasyonları ve oranları kullanılarak çeşitli fungal izolatlarla karşı antagonistik etki göstermektedirler [105].

Çalışmamızda şeker pancarı topraklarından izole edilen 16 *Azotobacter* izolatu içinde en yüksek inhibisyon aktivitesi Azo Tarla 25 izolatu ile elde edilmiştir. Test patojenlerin kontrol besi ortamındaki gelişmeleri ise 5,8cm–6,5cm arasında değişmektedir (Bkz. Çizelge 3.1.2).Test patojenlerinin gelişimleri *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle 2,4cm iken, *Fusarium* spp. izolatlarımız olan *Fusarium* B2 izolatu 1,3cm, *Fusarium* B2-1 izolatu 1,6cm gelişme gösterebilmiştir. Aynı izolatların besi ortamında sırasıyla 7,8cm ve 7,9cm gelişme çapı ölçülmüştür. Benzer olarak yapılan çalışmalarda da azotobakterilerin

fitopatogenik funguslardan olan *Alternaria alternata*, *Fusarium graminearum*, *Sclerotinia sclerotium*, *Macrophomina phaseoline*, *Rhizoctonia solani* ve *Pythium* sp.'ye karşı antagonistik aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [113]. Cavaglieri ve ark. [98] mısır bitkisinden izole ettikleri *Fusarium verticillioides*'in biyokontrolü amaçlı olarak *Azotobacter* spp. ve *Arthrobacter* spp. türlerini test etmişlerdir. *F. verticillioides*'e karşı *Azotobacter armeniacus* RC2'nin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Duijff ve ark. [70] *Azotobacter* spp. mısır bitkisinde hastalık oluşturmeyen *F.verticillioides* ile rizosferde bulunan patojenlere karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılmıştır ve biyokontrolün bazı formların etkileşim içerisinde olmalarını sağlayabildikleri bulunmuştur. Yaptığımız biyokimyasal testlerde izolatların azotobakter olduğu ortaya çıkmıştır ancak isimlendirilememişlerdir, ilerdeki çalışmalarda daha detaylı çalışmalar yapılarak daha etkili sonuçlar alınabilir.

Çalışmalarımızda *Pseudomonas* spp. izolatlarının test patojenlerine karşı herhangi bir engelleyici etkisinin bulunmamasına rağmen, benzer çalışmalarda, bazı *Pseudomonas* izolatlarının bitki patojenlerine karşı ürettikleri siderofor ve pseudobactin ile baskılayıcı etki gösterdikleri bildirilmiştir [71, 72]. Bakteriyel sideroforların bilinen bir fonksiyonları da bitki büyümesini demir ile sağlayan iron-chelating adıyla anılan PGPR (Bitki Büyümesini Teşvik Eden Rhizobakteri) etkinin, çürüme oluşumunu azaltma eğilimi gösterdiği bildirilmiştir [73-75].

Shoda [89] tarafından yapılan çalışmada da, *Pseudomonas* izolatlarının birçoğu rizosferde yoğun bir şekilde bulunarak, aktif ve dominant bir şekilde biyokontrol ajanları olarak çalışan bakteriler olduğunu bildirmiştir.

Cavaglieri ve ark. [98] mısır bitkisinden izole ettikleri *Fusarium verticillioides*'in biyokontrolü amaçlı olarak *Pseudomonas* spp. ve *Arthrobacter* spp. türlerini test etmişlerdir.

4.2. Fungal İnhibisyon

Eskişehir bölgesi topraklarından izole edilmiş olan *Trichoderma harzianum* izolatları, bitki patojenlerinden olan *Fusarium* sp.'nin iki farklı izolatu olan B2 ve B2-1'e karşı denendiğinde farklı etkiler göstermişlerdir. İnhibisyon deneylerinde B2-1'e karşı; % 28,5 RI (inhibisyon değeri) değeri ile Tm20, % 28

RI değeri ile T15, % 24,2 RI değeri ile Tm7, % 13 RI değeri ile Tm8D, % 21,8 RI değeri ile Tm18, % 26,4 RI değeri ile Tm4A etkili olurken, B2'ye karşı; % 31,5 RI değeri ile T15, % 21,8 RI değeri ile Tm7, % 20 RI değeri ile Tm18, % 16,6 RI değeri ile Tm4A, % 18,6 RI değeri ile Tm20 etkili olarak bulunmuşlardır (Bkz. Çizelge 3.1.5). *T. harzianum* izolatlarında ortaya çıkan bu farklılıklar, patojenlerin farklı dirence sahip olmalarından ileri gelebileceği gibi, *T.harzianum* izolatlarının farklı kimyasal üretimlerinden de kaynaklanmış olabilir [22]. Yapılan benzer çalışmalarda bitki patojenlerine karşı *T.harzianum*'un etkili olduğu belirlenmiştir [19, 21, 25-29].

Wells ve ark. [30] tarafından; kumlu killi topraklardan izole edilen *Trichoderma harzianum*'un T35 ve T203 izolatlarının *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle ve *Sclerotium rolfsii*'ye etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmaya göre; T35 izolatının *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle'nin gelişimini sınırladığı, T203 izolatının ise *Sclerotium rolfsii*'ye karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda *Fusarium* sp. izolatlarına karşı en etkili *Trichoderma harzianum* izolatının T15 olduğu bulunmuştur.

Hadar ve ark. [31] tarafından yapılan bir çalışmada *Trichoderma harzianum* izolatının *Rhizoctonia solani* ve *Pythium aphanidermatum*'un gelişmesini engellediği, fakat *S. sclerotium* ve *Fusarium oxysporum* E.F. Sm. & Swingle'nin gelişmesine etkili olmadığı gösterilmiştir. *Trichoderma harzianum* izolatlarının bitki patojenlerine karşı gösterdikleri farklı inhibisyon oranlarının, izolatların patojenlere karşı seçici olduğu ve farklı patojenlere farklı etki göstermelerinden kaynaklandığı bildirilmiştir [31].

Bizim çalışmamıza dahil ettiğimiz patojenlerin hepsine etkili olan tek bir *Trichoderma harzianum* izolatı bulunmamakla birlikte, *Trichoderma harzianum*'un T15 ve Tm20 izolatları diğerlerine göre daha fazla etkili olmuştur, bunları Tm4A, Tm7, Tm18 izlemiştir. Chet ve Inbar [28] tarafından yapılan çalışmada da, seçilen bitki patojenlerine karşı etkili olan tek bir *Trichoderma harzianum* izolatı bulunamamıştır. Bizim çalışmamızda da, *Trichoderma harzianum*'un Tm2, Tm8B ve T4D izolatlarının patojenlere karşı etkisi, diğer izolatlara göre daha az olmuştur.

Çalışmamızda *Trichoderma harzianum*'un Tm2, Tm8B ve T4D izolatlarının *Fusarium* spp. izolatlarına karşı gösterdikleri düşük RI değerleri nedeniyle, biyolojik kontrolde kullanılmasının pratik bir fayda sağlamayacağı ortaya çıkmıştır. Benzer olarak yapılan bir çalışmada, RI değeri düşük olan izolatların, diğer izolatlara göre düşük düzeyde litik enzimatik aktivite gösterdiği ve eksik protein sağladığı bildirilmiştir [32].

Bridge ve ark. [33] yaptıkları benzer çalışmada düşük ekstrasellüler aktivite gösteren izolatların biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılamayacağını belirlemişlerdir.

Çalışmamızda bitki patojenlerinden *Fusarium* sp. izolatlarının diğer bitki patojenlerine göre *T.harzianum* izolatlarına daha dirençli olarak bulunmuştur. Yapılan benzer çalışmada da, *Fusarium* türlerinin *Trichoderma* spp.'ye karşı dirençli olduğu bildirilmiştir [34].

Yapılan bir çalışmada, sera şartları altında toprak kökenli hastalıkların kontrolünün *T.harzianum* izolatları ile olabileceği ileri sürülmüştür [28]. Çalışmamızda, *T.harzianum* T15'in *Fusarium* sp.'ye karşı etkili olduğu belirlenerek sera denemelerinde kullanılabilmesi belirlenmiştir.

4.3. *Trichoderma harzianum* ile Sera ve Tarla Denemeleri

Tarım ürünlerindeki kök hastalıklarına, yabancı otlar ile birçok iklimsel ve biyolojik faktörlerin neden olduğu ve bunların ürünlerin gelişme ve yetiştirme devrelerinde etki yaptıkları saptanmıştır [35]. Kök hastalıklarının oluşturan toprak kökenli patojenlerin, ülkeden ülkeye sayısal olarak değişebildiği gibi, bir bölgedeki ve hatta bitkilere göre de değiştiği bildirilmiştir [3].

Çalışmamızda Orta Anadolu koşullarında; seçilen test bitkilerine etkili olduğu bilinen patojenler kullanılmıştır. Bu patojenlere karşı en yüksek RI değeri veren *T.harzianum* izolatları biyolojik preparat olarak kullanılmıştır.

Antagonizma toprak mikroorganizmaları arasında genellikle kendiliğinden meydana gelmektedir. Birçok yayında bununla ve antagonizma mekanizmasıyla ilgili önemli bilgiler sunulmuştur [37-43]. Bitki patojeni funguslara karşı *Trichoderma harzianum* izolatları bu konuda ümit vaat etmektedir [35].

Trichoderma spp.'nin çeşitli bitki türlerinin büyümelerini teşvik edici yararlı etkileri olduğu kanıtlanmıştır [27, 60-64]. *T. harzianum*'un çeşitli izolatları bitki büyümesi üzerine, fide ve kök ağırlığının artışı, kök uzunluğunun artışı ve yan köklerin artışı vb. etkiler yapmaktadır [64].

Domateste hastalık oluşumuna neden olan *F.oxysporum*'a karşı *Trichoderma* spp. ile biyolojik mücadelenin yapılabileceği ve hastalığın, *Trichoderma harzianum*'un hazırlanan süspansiyonu ile % 80 oranında düşürülebileceği bildirilmiştir [6, 44].

Sivan ve Chet [45] tarafından *F.oxysporum*'un kavunda oluşturduğu hastalığa karşı *Trichoderma harzianum*'un etkili olduğu bildirilmiştir. *Trichoderma harzianum* ile muamele edilmemiş kontrol ekimlerinde 20. gün sonunda kavunda solgunluk oluşmuştur. *Trichoderma harzianum* süspansiyonu uygulanan kavunda *F.oxysporum*'un neden olduğu solgunluğun geciktiği ve hastalığın % 30 azaldığı saptanmıştır [45].

Trichoderma harzianum ile muameleli patlıcan tohumlarının *R.solani*'nin neden olduğu çökerten hastalığına (damping-off) karşı dayanıklı olduğu ve hastalık şiddetinin *Trichoderma harzianum* ile % 80 oranında düşürüldüğü Hadar ve ark. [31] tarafından bildirilmiştir.

Birçok *Trichoderma* türünün 8 cm'lik kök derinliğinde bulunduğu, toprakta 5,2-6'dan daha düşük pH düzeylerinde fazla miktarda spor ürettiği saptanmıştır [6, 65]. Kullandığımız tarla topraklarının pH'ları, Suluova deneme tarlası pH:8,82, Targi deneme tarlası pH:7,9 olarak bulunmasına rağmen, bu pH'da da *Trichoderma harzianum* izolatlarının gelişebildiği gözlenmiştir.

B3, Azo Tarla 25 ve T15 izolatlarının ayrıntılı olarak çalışmalarının yapılarak etkili olan metabolitlerinin ortaya çıkarılması ve bunların tanımlanmasına yönelik çalışmaların yapılması gelecekte bu izolatlardan çok iyi sonuçların alınması için bir yol gösterici olacaktır.

Sera ve tarla denemelerinde mikrobiyal türlerin etkileşimlerinde çevre şartları, su aktivitesindeki büyük değişim, sıcaklık, toprak yapısı ve besin durumu [80,106-109] her an değişebileceği için bu durumdan *Trichoderma harzianum* ve *Fusarium* sp. izolatları etkilenmiş olabilirler. Bu güçlüklerde biyolojik mücadelenin zorluğunu ortaya koymaktadır. *Fusarium* izolatlarının, virülanslığını

koruyup korumadığını kontrol etmek için bir sera denemesi daha yapılmıştır. Ancak yapılan deneme sonucunda *Fusarium* izolatları ve kontrol gruplarının hiçbirisinde hastalık belirtisine rastlanılmamıştır. Bu da bize belli bir çoğaltmadan sonra *Fusarium*'ların virulanslığını kaybettiği sonucuna götürmüştür. Jain ve ark. [114] *F. oxysporum* f.sp. cucumerin'in, özellikleri değişerek çalışmayan mutant Δ fgb1 geni sayesinde, salatalık bitkilerinde virulansın önemli derecede azaldığını göstermişlerdir. Bitki patojeni fungusların virulanslığının korunabilmesi için laboratuvardaki saklama işleminde bitki materyalinde stoklama daha yararlı olabilir. Rogers ve ark. [115], sağlam bezelye bitkisi yüzeyinde *Fusarium solani* f.sp. *pisi*'nin cut1 geni kesilerek virulensliğinin önemli derecede azaltıldığını bildirmişlerdir.

Sonuç olarak; laboratuvar denemelerinde *T.harzianum* izolatlarının fungal bitki patojenlerine karşı etkili olmasına rağmen, çalışmamızda sera ve tarla denemelerinde patojen-antagonist beraber verilen denemelerde ve sadece *Fusarium* sp. izolatları ile aşılanmış denemelerde herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmadığı için *Trichoderma harzianum* izolatlarının pancarda görülen bu patojene etkili olup olmadığını söylemek güçtür.

Tek yıllık tarla çalışmaları bu çalışmalar için yetersiz kalmakta, iyi sonuç alınabilmesi için 3-4 senelik çalışma yapılması gerekmektedir. Kesin sonuca varabilmek için sera ve tarla denemelerinin birkaç yıl üst üste yapılarak sonuçların karşılaştırılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Yiğit, F., *Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaşta biyokontrol ajanlarının uygulama yöntemleri ve zamanı*, Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, **2(1)**, s. 27-36, 2001.
- [2] Oğurlu, İ., *Biyolojik mücadele*, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No:8 Orman Fakültesi Yayın No:1, Isparta, 2000.
- [3] Cook, J.R., ve Baker, K.F., *The nature and practise of biological control of plant pathogens*, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp. 297-299, 1983.
- [4] Baker, K. F., “*Evolving concepts of biological control of plant pathogens*”, Ann. Rev. Phytopathology, **25**, pp.67-85, 1987.
- [5] Weller, D.M., “*Biological control of soilborne pathogens with fungal antagonists in combination with bacteria*”, Phytopathology, **26**, pp.37-407, 1988.
- [6] Baker, R., Elad, Y., ve Chet, I., “*The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control*”, Phytopathology, **74**, pp.1019-1021, 1984.
- [7] Özgör, O., *Türkiye şeker pancarı hastalıkları*, Türkiye Şeker Fabrikaları Genel Müdürlüğü, Yayın No:218, s.7, 1995.
- [8] Öncüler, C., *Tarımsal zararlılarla biyolojik savaş*, Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No: 1, s. 3-14-22-23, Aydın, 1997.
- [9] Yeğen, O., *Fitopatoloji*, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 1, s.1-2-114, Antalya, 1983.
- [10] Bora, T. ve Özaktan, H., *Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş*, İzmir, Prizma Matbaası, s. 205, 1998.
- [11] Bosh, R., Messenger, P. S., ve Gutierrez., “*An introduction to biological Control*”, Plenum Pres, California-New York-London, pp.247, 1973.
- [12] Kaygısız, H., *Bitkisel üretimde hastalıklar*, Hasad Dergisi, s.175-183, 2002.
- [13] Kaygısız, H., *Memleketimizde kültür bitkilerinde bakteriyel hastalıklar*, Hasad Dergisi, 1995.

- [14] Karaca, İ., *Sistemik bitki hastalıkları (Ascomycetes)*, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Cilt III, No:143, Ege Üniversitesi Matbaası, 1968.
- [15] Çınar, A., *Genel fitopatoloji*, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notu Yayınları No:56, Adana, 1981.
- [16] Şaylan, L., *Hava kirliliğinin bitkiler üzerindeki etkisi*, Hasad Dergisi, Ağustos, 1994 .
- [17] Kasap, Y. ve Dilbirliği, M., *Çevre kirliliğinin bitkiler üzerine etkileri*, Hasad Dergisi, Şubat-Mart, 1995.
- [18] Kaygısız, H., *Tohum çimlenmesinde ısı faktörü*, Hasad Dergisi, Haziran, 1995.
- [19] Wilson, M., “*Biocontrol of aerial plant diseases in agriculture and horticulture*”, J.Ind. Microbiol. Biotechnol. **19**, pp.188–191, 1997.
- [20] Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F., *Araştırma ve deneme metodları*, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, s.33, Ankara, 1987.
- [21] Handelsman, J. ve Stabb, E.V., “*Biocontrol of soilborne plant pathogens*”, Plant Cell, **8**, pp.1855–1869, 1996.
- [22] Backman, P.A. ve Rodriguez-Kabana- R., “*A sytem for the growth and delivery of biological control agents to the soil*”, Phytopathology, **65**, 819-821, 1975.
- [23] Haktanır, K., *Toprak biyolojisi ders notları*, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Teksir No: 132, s.5, Ankara, 1986.
- [24] Küçük, Ç., *Trichoderma harzianum ile toprak kökenli bazı bitki patojenlerinin kontrolü*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir, 2000.
- [25] Harman, G.E. ve Kubicek, C.P., “*Trichoderma and Gliocladium: enzymes, biological control and commercial applications*”, Taylor & Francis, Bristol, PA, pp. 185–204, 1998.
- [26] Harman, G.E. ve Björkman, T., “*Potential and existing uses of Trichoderma and Gliocladium for plant disease control and plant growth enhancement*”, Taylor & Francis, Bristol, PA, pp. 131–151, 1998.

- [27] Harman, G.E., “*Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on Trichoderma harzianum T-22*”, Plant Dis. **84**, 377–393, 2000.
- [28] Chet, I. ve Inbar, J., “*Biological control of fungal pathogens*”, Applied Biochemistry and Biotechnology, **48**, pp.37-43, 1994.
- [29] Whipps, J.M., “*Effect of media on growth and interactions between a range of soilborne glasshouse pathogens and antagonistic fungi*”, Phytopathology, **62**, pp.442-447, 1971.
- [30] Wells, H.D., Bell, D.K. ve Ajaworski, C., “*Efficacy of T.harzianum a biocontrol agent for Sclerotium rolfsii*”. Phytopathology, **62**, 442-447, 1972.
- [31] Hadar, Y., Chet, I. ve Katan, I., “*Trichoderma harzianum a biocontrol agent effective against S. rolfsii and R. solani damping-off with wheatbran culture of T.harzianum*”. Phytopathology, **9**, 64-68, 1979.
- [32] Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M.D., Mateos, P.F., Bridge, P.D., Monte, E. ve Garcia-Acha, I., “*Physiological and biochemical characterization of Trichoderma harzianum a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens*”, Applied and Environmental Microbiology, **63**, 3189-3198, 1997.
- [33] Bridge, P.D., “*An evaluation of some physiological and biochemical methods as an aid to the characterization of species of Penicillium subsection fasciculata*”, Journal of General Microbiology, **131**, pp.1887-1895, 1985.
- [34] Kınacı, E., *Buğday hastalıkları 1*, Orta Anadolu Bölge Zir. Arşt. Enst., Bitki Hastalıkları ve Dayanıklılık Islahı Bölümü Teknik Yayınları, No.5, Genel Yayın No.45 s.19-21, 1983.
- [35] Anke, T., *Fungal biotechnology*, Chapman and Hall, London, pp.65-76, 1997.
- [36] Whitney, E.D. ve Duffus J.E., “*Compendium of beet diseases and insects*”, Amr. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN., pp: 76, 1986.
- [37] Schroth, M.N. ve Hancock J.G., “*Selected topics in biological control*”, Ann. Rev. Microbiol., **35**, 453-476, 1981.

- [38] Turhan, G., “A new role of *Streptomyces ochracies-cleroticus* in the biological control of some soil-born plant pathogens. I: In vivo studies on the possibilities of using C –a against some important diseases”, Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz, **88**, 422-434, 1981.
- [39] Hayashida, S., Choi M.Y., Nanri N.Y., Yokoyama M. ve Uematsu I., “Control of potato common scab with an antibiotic biofertilizer produced from swine faeces containing *Streptomyces albidoflavus* CH-3”, Agri. Biol. Chem., **53**, 349-354, 1989.
- [40] El-Abyad, M.S., El-Sayed M.A., El-Shanshoury A.R. ve EL- Sabbagh S.A., “Towards the biological control of fungal and bacterial disease of tomato using antagonistic *Streptomyces* spp.”, Plant and Soil, **149**, 185-195, 1993.
- [41] El-Shanshoury, A.R., “*Azotobacter chroococcum* and *Streptomyces atroolivaceus* as biocontrol agents of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*”, Acta Microbiol. Pol., **43**, 779-87, 1994.
- [42] Moussa, T.A.A., “Towards the biological control of some root-rot fungal pathogens of sugar beet in Egypt”, Ph.D. Thesis, Department of Botany, Faculty of Science, University of Cairo, Egypt, 1999.
- [43] Moussa, T.A.A. ve Rizk M.A., “Biocontrol of sugar beet pathogen *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. by *Streptomyces aureofaciens*”, Pak. J. Biol. Sci., **5**, 556-559, 2002.
- [44] Chang, Y., Baker, R., Kleifeld, O. ve Chet, I., “Increased growth of plants in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*”, Plant Disease, **70**, pp.145-148, 1986.
- [45] Sivan, A. ve Chet, I., “Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*”, Phytopathology, **116**, pp.39-47, 1986.
- [46] Duitman, E. H., Hamoen, L., Rembold, M. ve Venema, G., “The mycosubtilin synthetase of *Bacillus subtilis* ATCC6633: A multifunctional hybrid between a peptide synthetase, an aminotransferase, and a fatty acid synthase”, Genetics, **96(23)**, 13294-13299, 1999.

- [47] Hiraoka, H., Asaka, O., Ano, T. ve Shoda, M., “*Characterization of Bacillus subtilis RB14, coproducer of peptide antibiotics iturin a and surfactin*”, J. Gen. Appl. Microbiol., **38**, 635-640, 1992.
- [48] Stabb, E. V., Jacobson, Lynn, M. ve Handelsman, J., “*Zwittermicin a-producing strains of Bacillus cereus from diverse soils*”, Applied and Environmental Microbiology, **60(122)**, 4404-4412, 1994.
- [49] Ohno, A., Ano, T. ve Shoda, M., “*Use of soybean curd residue, okara, for the solid state substrate in the production of a lipopeptide antibiotic, iturin A, by Bacillus subtilis NB22*”, Process Biochemistry, **31(8)**, 801-806, 1996.
- [50] Milner, J. L., Raffel, S.J., Lethbridge, B. J. ve Handelsman, J., “*Culture conditions that influence accumulation of zwittermicin a by Bacillus cereus UW85*”, Applied Microbiology and Biotechnology, **43(4)**, 685-691, 1995.
- [51] Leifert, C., Li, H., Chidburee, S., Hampson, S., Workman, S., Sigee, D., Epton, H. A. S. ve Harbour A., “*Antibiotic production and biocontrol activity by Bacillus subtilis CL27 and Bacillus pumilus CL45*”, Journal of Applied Microbiology, **78(2)**, 97-108, 1995.
- [52] Lebbadi, M., Galvez, A., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M. ve Valdivia, E., “*Fungicin M4: a narrow spectrum peptide antibiotic from Bacillus licheniformis M-4*”, Journal of Applied Microbiology, **77(1)**, 49-53, 1994b.
- [53] Kajimura, Y., Sugiyama, M. ve Kaneda, M., “*Bacillopeptins, new cyclic lipopeptide antibiotics from Bacillus subtilis FR-2*”, Journal of Antibiotics, **48(10)**, 1095-1103, 1995.
- [54] Vollenbroich, D., Özel, M., Vater, J., Kamp, R. M. ve Pault, G., “*Mechanism of inactivation of enveloped viruses by the biosurfactant surfactin from Bacillus subtilis*”, Biologicals, **25**, 289-297, 1997.
- [55] Steller, S., Vollenbroich, D., Leenders, F., Stein, T., Conrad, B., Hofemeisterr, J., Jaques, P., Thonart, P. ve Vater, J., “*Structural and functional organization of the fengycin synthase multianzyme system from Bacillus subtilis b213 and A1/3*”, Chemistry & Biology, **6(1)**, 31-41, 1998.

- [56] Galvez, A., Maqueda, M., Cordovilla, P., Martinez-Bueno, M., Lebbadi, M. ve Valdivia, E., “*Characterization and biological activity against Naegleria fowleri of amonebicins produced by Bacillus licheniformis D-13*”, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **38(6)**, 1314-1319, 1994.
- [57] Galvez, A., Valdivia, E., Gonzalez-Segura, A., Lebbadi, M., Martinez-Bueno, M. ve Maqueda, M., “*Purification, characterization and lytic activity against Naegleria fowleri of two amonebicins produced by Bacillus licheniformis A-12*”, *Applied and Environmental Microbiology*, **59(5)**, 1480-1486, 1993a.
- [58] Lebbadi, M., Galvez, A., Valdivia, E., Martinez-Bueno, M. ve Maqueda, M., “*Purification of amoebolytic substances from Bacillus licheniformis M-4*”, *Arch. Microbiol.*, **162**, 98-102, 1994a.
- [59] Peypoux, F., Bonmatin, J. M. ve Wallach, J., “*Recent trends in the biochemistry of surfactin*”, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **51(5)**, 553-563, 1999.
- [60] Windham, G.L., Windham, M.T. ve Williams, W.P., “*Effects of Trichoderma spp. on maize growth and meloidogyne arenia reproduction*”, *Plant Dis.* **73**, 493–495, 1989.
- [61] Bailey, B.A. ve Lumsden, R.D., “*Direct effects of Trichoderma and Gliocladium on plant growth and resistance to pathogens*. In: Harman, G.E., Kubicek, C.P. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium: enzymes, biological control and commercial applications*”, Taylor & Francis, Bristol, PA, pp. 185–204, 1998.
- [62] Björkman, T., Blanchard, L.M. ve Harman, G.E., “*Growth enhancement of shrunken-2 (sh2) sweet corn by Trichoderma harzianum 1295-22: effect of environmental stress*”, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **123**, 35–40, 1998.
- [63] Yedidia, I., Benhamou, N. ve Chet, I., “*Induction of defense responses in cucumber plants (Cucumis sativus L.) by the biocontrol agent Trichoderma harzianum*”, *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 1061–1070, 1999.

- [64] Naseby, D.C., Pascual, J.A. ve Lynch, J.M., “*Effect of biocontrol strains of Trichoderma on plant growth, Pythium ultimum populations, soil microbial communities and soil enzyme activities*”, J. Appl. Microbiol. **88**, 161–169, 2000.
- [65] Papavizas, G. C., “*Survival of Trichoderma harzianum in soil and pea and bean rhizospheres*”, Phytopathology, **74**, pp.1019-1021, 1984.
- [66] Tamer, A., Uçar, F., Ünver, E., Karaboz, İ., Bursalıoğlu, M. ve Oğultekin, R., *3. ve 4. sınıf mikrobiyoloji laboratuvar kılavuzu*, Anadolu Üniversitesi Eğitim, Sağlık ve Bilimsel Araştırma Çalışmaları Vakfı Yayınları, No.74, Eskişehir, 1989.
- [67] Sigma, Product No: A1840, C1346, 2001.
- [68] Cao, L., Qiu, Z., You, J., Tan, H. ve Zhou, S., “*Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana root*”, FEMS Microbiology Letters, **247**, 147-152, 2005.
- [69] Cavaglieri, L., Orlando, J., Rodriguez M. I., Chulze, S. ve Etcheverry, M., “*Biocontrol of Bacillus subtilis against Fusarium verticillioides in vitro and at the maize root level*”, Research in Microbiology **156**, 748-754, 2005.
- [70] Duijff, B. J., Recorbet, G., Bakker, P. A. M., Loper, J. E. ve Lemanceau, P., “*Microbial antagonism at the root level is involved in the suppression of Fusarium wilt by the combination of nonpathogenic Fusarium oxysporum Fo47 and Pseudomonas putida WCS358*”, Biol. Control **89(11)**, 1073–1079, 1999.
- [71] Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M. ve Scroth, M. N., “*Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria*”, Nature, **286**, 885-886, 1980.
- [72] Kloepper, J. M., Lavery, R. ve Lozano, J. C., “*Observation on the effect of inoculating cassava plants with Pseudomonas fluorescens*”, J. Phytopathol., **117**, 17-25, 1986.

- [73] Crowley, D. E., Wang, Y. C., Reid, C. P. P. ve Szaniszlo, P. J., “*Mechanisms of iron acquisition from siderophores by microorganisms and plants*”, Plant Soil, **130**, 179-198, 1991.
- [74] Leong, J., “*Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogen*”, Ann. Rev. Phytopathol., **24**, 187-209, 1986.
- [75] Loper, J. E., “*Role of fluorescent siderophore production in biological control of Pythium ultimum by a Pseudomonas fluorescens strain*”, Phytopathology, **78**, 166-172, 1988.
- [76] Becking, J.H., “*The family Azotobacteraceae in the prokaryotes*”, Second Edition Volume IV, (Eds-Balauş Truper, Dworking, Harder, Schlerfer), Springer-Verlag, 1992.
- [77] Türkmen, E., *İzmir’deki çeşitli sera topraklarından Azotobacter chroococcum izolasyonu, tanımlanması ve bazı fitopatojen funguslara karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi*, Ege Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 64s, 2001.
- [78] Chilcott, C.N. ve Wigley, P.J., “*Isolation and toxicity of Bacillus thuringiensis from soil and insect habitats in New Zealand*”, J. Invert. Pathol. **61**, 244–247, 1993.
- [79] Andersen, S.M., Johnsen, K., Sorensen, J., Nielsen, P. ve Jacobsen, C.S., “*Pseudomonas frederiksbergensis sp. nov., isolated from soil at a coal gasification site,*” Int. J. Syst. Evol. Microbiol. **50**, 1957–1964, 2000.
- [80] Marin, S., Sanchis, V., Ramos, A.J., Vinas, I. ve Magan, N., “*Environmental factors, in vitro interactions, niche overlap between Fusarium moniliforme, Fusarium proliferatum and Fusarium graminearum, Aspergillus and Penicillium species from maize grain*”, Mycol. Res. **102(7)**, 831–837, 1998a.
- [81] Anonim, Pancar tarımının ülke ekonomisine dolaylı katkıları.
<http://www.geocities.com/afsinpancarbolge/pancartarimininekonomiyekatkilari.html>
- [82] Anonim, Şeker pancarının ülke ekonomisindeki yeri.
<http://www.pankobirlik.com/modules.php?op=modload&name=Sections&file=index&req=viewarticle&artid=41>

- [83] Putz, C., Merdinoğlu, O., Lemaire, O., Stocky, G.,Valentin, P. ve Wiedemann, S., “*Beet necrotic yellow vein virus, causal agent of sugar beet Rhizomania*”, R. P. P., **69(5)**, 247-254, 1990.
- [84] Anonim, *Pancar ve mısırın ülke ekonomisindeki yeri*, Araştırma Özeti II, T.C. Şeker Kurumu, Nisan 2004.
- [85] Dığrak, M., İlçim, A., Alma, M.H. ve Şen S., “*Antimicrobial activites of the extracts of various plants (valex, mimosa bark, gallnut powders, Salvia sp. and Phlomis sp.)*”, Tr. J. of Biology, **23**, 241-248, 1999.
- [86] Arda, M., *Genel bakteriyoloji*, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, 342, Ankara, 1978.
- [87] Murray, R.G.E., Brenner, D.J., Bryant, M.P., Holt, J.G., Krieg, N.R., Moulder, J.W., Pfennig, N., Sneath, P.H.A. ve Staley, J.T., *Bergey’s manual of systematic bacteriology*, Lippincott Williams and Wilkins, Volume 1, USA, 1984.
- [88] Fourati, L., Fguira, B., Fotso, S., Ameer Mehdi R. B., Mellouli L. ve Laatsch H., “*Purification and structure elucidation of antifungal and antibacterial activities of newly isolated Streptomyces sp. strain US80*”, Research in Microbiology, **156**, 341–347, 2005.
- [89] Shoda, M., “*Bacterial control of plant diseases*”, Journal of Bioscience And Bioengineering, Vol. **89(6)**, 515-521, 2000.
- [90] Moussa, T.A.A, “*Studies on Biological Control of Sugarbeet Pathogen Rhizoctonia solani Kühn*”, OnLine Journal of Biological Sciences, **2(12)**: 800-804, 2002.
- [91] Sardi, P., Saracchi, M., Quaroni, S., Petrolini, B., Borgonovi, G.E. ve Merli, S., “*Isolation of endophytic Streptomyces strains from surface-sterilized roots*”, Appl. Environ. Microbiol. **58**, 2691-2693, 1992.
- [92] Coombs, J.T. ve Franco, C.M.M., “*Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots*”, Appl. Environ. Microbol. **69**, 5603-5608, 2003.

- [93] Cao, L., Qui, Z., You, J., Tan, H. ve Zhou, S., “*Isolation and characterization of endophytic Streptomyces strains from surface-sterilized tomato (Lycopersicon esculentum) roots*”, Lett. Appl. Microbiol. **39**, 425-430, 2004.
- [94] Burges, H.D., *Formulation of microbial biopesticides beneficial microorganisms, Nematodes and seed treatment*, Kluwer academic publishers Dordecht/Boston/London, 1998.
- [95] Boudjella, H., Bouti, K., Zitouni, A., Mathieu, F., Lebrihi, A. ve Sabaou N., “*Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of Streptosporangium Sg 10 isolated from a Saharan soil*”, Soil Biology & Biochemistry, Microbiological Research, Article in Press.
- [96] Okami, B. ve Hotta, A.K., *Search and discovery of new antibiotics. In: Goodfellow, M., Williams, S.T., Mordarski, M. (Eds.), Actinomycetes in Biotechnology*. Pergamon Press, Oxford, pp. 33–67, 1988.
- [97] Davies, F.L. ve Williams, S.T., “*Studies on the ecology of actinomycetes in soil. I. The occurrence and distribution of actinomycetes in a pine forest soil*”, Soil Biol. Biochem. **2**, 239–246, 1970.
- [98] Cavaglieri, L.R., Passone, A. ve Etcheverry M.G., “*Correlation between screening procedures to select root endophytes for biological control of Fusarium verticillioides in Zea mays L*”, Biological Control **31** 259–267, 2004.
- [99] Dal-Soo, K., Cook, R.J. ve Weller, D.M., “*Bacillus sp. L324-92 for biological control of three root diseases of wheat grown with reduced tillage*”, Biol. Control **87(5)**, 551–558, 1997.
- [100] Mahaffe, W.F. ve Backman, P.A., “*Effects of seeds factors on spermosphere and rhizosphere colonization of cotton by Bacillus subtilis GBO3*”, Phytopathology **83**, 1120–1125, 1993.
- [101] Motomura, M., Lourenço, C.E., Venturini, D., Ueno, Y. ve Hirooka, E.Y., “*Screening and isolation of anti-Fusarium moniliforme compounds producing microorganisms from soil and corn*”, Rev. Microbiol. **27**, 213–217, 1996.

- [102] Munimbazi, C. ve Bullerman, L.B., “*Isolation and partial characterization of antifungal metabolites of Bacillus pumilus*”, J. Appl. Microbiology, **84**, 959–968, 1998.
- [103] Podile, A.R., “*Seed bacterization with Bacillus subtilis AF1 enhances nodulation in pigeonpea*”, Indian J. Microbiol. **35**, 199–204, 1995.
- [104] Bevivino, A., Sarrocco, S., Dalmastrì, C., Tabacchioni, S., Cantale, C. ve Chiarini, L., “*Characterization of a free-living maize-rhizosphere population of Burkholderia cepacia: Effect of seed treatment on disease suppression and growth promotion of maize*”, FEMS Microbiol. Ecol. **27**, 225–237, 1998.
- [105] Brewer, M.T. ve Larkin, R.P., “*Efficacy of several potential biocontrol organisms against Rhizoctonia solani on potato*”, Crop Protection, Elsevier, Article in Press.
- [106] Cuero, R., Smith, J.E. ve Lacey, J., “*Mycotoxin formation by Aspergillus flavus and Fusarium graminearum in irradiated maize grains in the presence of other fungi*”, J. Food Prot. **6**, 452–456, 1988.
- [107] Lee, H.B. ve Magan, N., “*Environmental factors and nutritional utilization patterns affect niche overlap indices between Aspergillus ochraceus and other spoilage fungi*”, Lett. Appl. Microbiol. **28**, 300–304, 1999.
- [108] Magan, N. ve Lacey, L., “*Effects of temperature and pH on water relations of field and storage fungi*”, Trans. Br. Mycol. Soc. **82**, 71–81, 1984b.
- [109] Magan, N. ve Lacey, J., “*Interactions between field and storage fungi on wheat grain*”, Trans. Br. Mycol. Soc. **85**, 29–37, 1985.
- [110] Ahmad, J.S. ve Baker, R., “*Rhizosphere competence of Trichoderma harzianum*”, Phytopathology **77**, 182–189, 1987.
- [111] Elson, M.K., Schisler, D.A. ve Bothast, R.J., “*Selection of microorganisms for biological control of silver scurf (Helminthosporium solani) of potato tubers*”, Plant Dis. **81**, 647–652, 1997.
- [112] Harman, G.E., “*Development and benefits of rhizosphere competent fungi for biological control of plant pathogens*”, J. Plant Nutr. **15**, 835–843, 1992.

- [113] Karaboz, İ. ve Türkmen,E., “İzmir’deki çeşitli sera topraklarından *Azotobacter chroococcum* izolasyonu, tanımlanması ve bazı fitopatojenik funguslara karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi,” XVI. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiriler Kitabı, İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Malatya, 53, 2002.
- [114] Jain, S., Akiyama, K., Kan, T., Ohguchi, T. ve Takata, R., “*The Gprotein beta subunit FGB1 regulates development and pathogenicity in Fusarium oxysporum*”, Curr. Genet. **43**, 79–86, 2003.
- [115] Rogers, L.M., Flaishman, M.A. ve Kolattukudy, P.E., “*Cutinase gene disruption in Fusarium solani f sp pisi decreases its virulence on pea*”, Plant Cell, **6**, 935–945, 1994.