



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OSMANİYE'DE YETİŞTİRİLEN YER FISTIĞI BİTKİLERİNDE (*Arachis hypogaea* L.) GÖRÜLEN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL HASTALIKLAR
ve BAKTERİYEL MİKROBİYOMLARLA BİYOLOJİK MÜCADELESİ

SENEM ÖZKAYA

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HATAY
TEMMUZ - 2024



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**OSMANİYE'DE YETİŞTİRİLEN YER FISTIĞI BİTKİLERİNDE (*Arachis hypogaea* L.) GÖRÜLEN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL HASTALIKLAR
ve BAKTERİYEL MİKROBİYOMLARLA BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

SENEM ÖZKAYA
ORCID:0000-0001-6703-481X

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Soner SOYLU
ORCID: 0000-0003-1002-8958

HATAY
TEMMUZ - 2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OSMANİYE'DE YETİŞTİRİLEN YER FISTIĞI BİTKİLERİNDE (*Arachis hypogaea* L.) GÖRÜLEN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL HASTALIKLAR ve BAKTERİYEL MİKROBİYOMLARLA BİYOLOJİK MÜCADELESİ

SENEM ÖZKAYA
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Soner SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez **04/07/2024** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Soner SOYLU
Başkan

Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Üye

Prof. Dr. Kazım MAVİ
Üye

Doç. Dr. Adem BOZKURT
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Cengiz KARACA
Enstitü Müdürü

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 21.D.003

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

04/07/2024

TEZ BİLDİRİMİ

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

Senem ÖZKAYA

ÖZET

OSMANİYE'DE YETİŞTİRİLEN YER FISTIĞI BİTKİLERİNDE (*Arachis hypogaea* L.) GÖRÜLEN TOPRAK KÖKENLİ FUNGAL HASTALIKLAR ve BAKTERİYEL MİKROBİYOMLAR ile BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Yer fıstığı içerdiği yağ, protein, karbonhidrat, vitaminler ve mineral maddeler ile insanlar ve hayvanlar için değerli bir besin kaynağıdır. Toprak kökenli fungal hastalıklar yer fıstığı bitkisinin farklı gelişme dönemlerinde verim ve kalitede önemli kayıplara sebep olur. Bu çalışmada, (i) Osmaniye ili yer fıstığı ekim alanlarında görülen toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinin morfolojik ve moleküler tanımlanması, yaygınlıklarının belirlenmesi, (ii) antagonist/bitki gelişimini teşvik eden (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB) bakteri türlerinin izolasyonu, tanımlanması, bölgede yaygın görülen toprak kökenli hastalık etmenine karşı *in vitro* ve *in vivo* biyokontrol etkinlikleri, (iii) bakteri izolatlarının antagonistik ve PGPB etki mekanizmaları araştırılmıştır.

Osmaniye Merkez, Toprakkale, Kadirli, Sumbas, Düziçi ve Bahçe ilçelerinde 95 farklı tarlada yetişen yer fıstığı bitkilerinin farklı fenolojik dönemlerinde hastalık sürveyleri yapılmıştır. Sürveyler sırasında alınan hastalık belirtisi gösteren 144 yer fıstığı bitki örneğinden yapılan izolasyonlar sonucunda 180 adet temsili fungal izolat elde edilmiştir. Yapılan morfolojik, MALDI-TOF ve moleküler tanımlama çalışmaları sonucunda *Aspergillus niger* (64 izolat), *Rhizopus stolonifer* (44 izolat), *Sclerotium rolfsii* (21 izolat), *Lasioidiplodia theobromae* (6 izolat), *Lasioidiplodia pseudotheobromae* (24 izolat), *Fusarium solani* (5 izolat), *Fusarium equiseti* (4 izolat), *Fusarium verticillioides* (3 izolat), *Fusarium brachygibbosum* (3 izolat), *Macrophomina phaseolina* (3 izolat), *Rhizoctonia solani* (2 izolat), ve *Sclerotinia sclerotiorum* (1 izolat) yaygın fungal hastalık etmenleri olarak belirlenmiştir. *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae*, *F. verticillioides*, *F. brachygibbosum* ve *S. sclerotiorum* gibi fungal hastalık etmenlerinin ülkemizde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinde hastalık etmeni olduğu ilk kez bu çalışmayla ortaya konulmuştur.

Sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden toplam 43 adet epifit ve endofit antagonist/bitki gelişimini teşvik eden aday bakteri izolatı elde edilmiş ve MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır. Bakteri izolatların bölgede yaygın görülen fungal hastalık etmenleri olan *S. rolfsii*, *A. niger* ve *L. pseudotheobromae*'nin misel gelişimini engelleme (antagonistik) potansiyelleri öncelikle *in vitro* koşullarda ikili kültür testleri ile belirlenmiştir. Yapılan *in vitro* ikili kültür testleri sonucunda 4 farklı bakteri izolatı 3 farklı hastalık etmeninin misel gelişimini güçlü düzeyde (>%60) engellemiştir. Yapılan *in vitro* ve *in vivo* biyoetkinlik çalışmalarında *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. cereus* ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatları güçlü antagonistik etkinlik gösteren türler olarak kaydedilmiştir.

Temsili olarak seçilen 15 farklı bakteri izolatı antagonistik ve PGPB etki mekanizmalarından siderofor, proteaz, hidrojen siyanür (HCN), amonyak (NH₃), Indol Asetik Asit (IAA) üretiminin yanı sıra fosforu çözme etkinlikleri bakımından istatistiksel olarak farklılıklar göstermiştir. Test edilen 15 bakteri izolatın, 10 tanesi siderofor, 13 tanesi proteaz, 15 tanesi amonyak, 4 tanesi ise hidrojen siyanür üretimi açısından pozitif olarak kaydedilmiştir. *B. amyloliquefaciens* SÇ9ep, *B. cereus* SÇ14en, *B. subtilis* SÇ19en ve *P. aeruginosa* SÇ36en gibi *in vitro* ve *in vivo* antagonistik etkinliği yüksek bakteri izolatlarının siderofor, proteaz, HCN ve amonyak üretimi gibi antagonistik mekanizmalardan bir veya birkaçını kullandığı belirlenmiştir. Test edilen 15 bakteri izolatın tamamı 1.68-55.30 µg/ml konsantrasyon aralığında değişen miktarda IAA üretmiş olup, 7 izolatın fosforu çözebilme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. İzolatlar arasında en yüksek IAA üretimi *B. megaterium* SÇ2en, en yüksek şiddette fosfor çözen bakteri izolatı ise *P. aeruginosa* SÇ36en olarak belirlenmiştir.

Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda güçlü antagonistik (siderofor, proteaz, amonyak üretimi) ve bitki gelişimini teşvik edici (IAA ve fosfor çözme) etkinlikler gösteren *B. amyloliquefaciens* SÇ9ep, *B. cereus* SÇ14en, *B. subtilis* SÇ19en ve *P. aeruginosa* SÇ36en gibi bakteri izolatlarının toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı fungusitlere alternatif olarak değerlendirilebileceği kanaatine varılmıştır.

2024, 143 sayfa

Anahtar Kelimeler: Antagonist, bitki gelişimini teşvik eden bakteriler, MALDI-TOF, yer fıstığı, yaygınlık

ABSTRACT

SOIL-BORNE FUNGAL DISEASES and BIOLOGICAL CONTROL with BACTERIAL MICROBIOMES on GROUNDNUT PLANTS (*Arachis hypogaea* L.) GROWN in OSMANIYE

Peanut (*Arachis hypogaea* L.) is a valuable source of nutrition for both humans and animals due to its oil, protein, carbohydrate, vitamin, and mineral content. Soil-borne fungal diseases cause significant yield and quality losses at various growth stages of peanut plants. This study aimed to (i) morphologically and molecularly identify soil-borne fungal pathogens in peanut cultivation areas of Osmaniye province, determine their prevalence, (ii) to isolate and characterize antagonist/plant growth-promoting bacteria (PGPB) bacterial species, evaluate their *in vitro* and *in vivo* biocontrol efficacy against prevalent soil-borne pathogens, and (iii) to investigate antagonistic and PGPB mechanisms of bacterial isolates.

Disease surveys were conducted on peanut plants in 95 different fields across Osmaniye province and the districts of Merkez, Toprakkale, Kadirli, Sumbas, Düziçi, and Bahçe, during various phenological stages. Isolations from 144 peanut plant samples showing disease symptoms yielded 180 representative fungal isolates. Morphological, MALDI-TOF, and molecular identification studies identified *Aspergillus niger* (64 isolates), *Rhizopus stolonifer* (44 isolates), *Sclerotium rolfsii* (21 isolates), *Lasiodiplodia theobromae* (6 isolates), *Lasiodiplodia pseudotheobromae* (24 isolates), *Fusarium solani* (5 isolates), *Fusarium equiseti* (4 isolates), *Fusarium verticillioides* (3 isolates), *Fusarium brachygibbosum* (3 isolates), *Macrophomina phaseolina* (3 isolates), *Rhizoctonia solani* (2 isolates) ve *Sclerotinia sclerotiorum* (1 isolate) as prevalent fungal disease agents. In this study, it was revealed for the first time that fungal disease agents such as *L. pseudotheobromae*, *L. theobromae*, *F. verticillioides*, *F. brachygibbosum* and *S. sclerotiorum* are disease agents in peanut plants grown in Turkey.

A total of 43 putative epiphytic and endophytic antagonist/plant growth-promoting bacterial isolates were obtained from healthy peanut plants and identified using MALDI-TOF MS. Antagonistic potentials of bacterial isolates against prevalent fungal pathogens, such as *S. rolfsii*, *A. niger*, and *L. pseudotheobromae*, were primarily determined through *in vitro* dual culture tests. Four different bacterial isolates exhibited strong inhibition (>60%) of mycelial growth of three different pathogens in *in vitro* dual culture tests. *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. cereus*, and *Pseudomonas aeruginosa* isolates demonstrated strong antagonistic efficacy in *in vitro* and *in vivo* bioassays.

Statistically significant differences were observed among the tested bacterial isolates in terms of siderophore, protease, hydrogen cyanide (HCN), ammonia (NH₃), and indole-3-acetic acid (IAA) production, as well as phosphorus solubilization. Of the tested isolates, 10 isolates were positive for siderophore production, 13 isolates for protease production, 15 isolates for ammonia production, and 4 isolates for HCN production. *B. amyloliquefaciens* SÇ9ep, *B. cereus* SÇ14en, *B. subtilis* SÇ19en, and *P. aeruginosa* SÇ36en isolates were identified to utilize one or more of these antagonistic mechanisms. All tested bacterial isolates produced varying amounts of IAA within the range of 1.68-55.30 µg/ml, and 7 isolates demonstrated phosphorus solubilization ability. *B. megaterium* SÇ2en exhibited the highest IAA production, while *P. aeruginosa* SÇ36en showed the highest phosphorus solubilization capacity.

The results suggest that bacterial isolates such as *B. amyloliquefaciens* SÇ9ep, *B. cereus* SÇ14en, *B. subtilis* SÇ19en, and *P. aeruginosa* SÇ36en, which exhibit strong antagonistic (siderophore, protease, ammonia production) and plant growth-promoting (IAA and phosphorus solubilization) activities in both *in vitro* and *in vivo* studies, could be considered as alternatives to fungicides against soil-borne pathogens.

2024, 143 pages

Key Words: Antagonist, plant growth promoting bacteria, MALDI-TOF, groundnut, prevalence

TEŞEKKÜR

Akademik kariyerim ve çalışma hayatımın her aşamasında her zaman yanımda olan, gerek doktora tez konumun belirlenmesinde gerek araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve deneyimleri ile çalışmalarına ışık tutan ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Soner SOYLU'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez konusunun belirlenmesinde TAGEM Doktora Tez Önerisi Yönlendirme Komisyonu (DOKYÖN)'na ve yine tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların takibinde profesyonel yaklaşımları ve öngörülleri ile doktora çalışmalarımı zenginleştiren ve yardımlarını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Kazım MAVİ ve Doç. Dr. Adem BOZKURT'a, tez çalışmalarım sırasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi (HMKÜ) Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na, doktora tez çalışmamı HMKÜ 21.D.003 nolu proje kapsamında destekleyen HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığına, Moleküler ve MALDI-TOF MS analiz çalışmalarımın yürütülmesindeki katkılarından dolayı HMKÜ Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'ne, HMKÜ FEN Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince, tüm laboratuvar çalışmalarımda yapmış oldukları katkı ve yardımlarından dolayı Dr.Öğr. Üyesi Merve KARA OĞUZ, Arş. Gör. Yusuf GÜMÜŞ ve Öğr. Gör. Dr. Aysun UYSAL'a, isimlerini burada zikredemediğim ama yardımlarını esirgememiş kıymetli meslektaşlarıma ve herkese çok teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen çok değerli aileme, başarabileceğime hep inanan, güveni, sabrı ve sevgisiyle her zaman yanımda olan çok değerli eşim Zir. Yük. Müh. İmadettin ÖZKAYA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Bu doktora tez çalışmasını rahmetli annem Nimet ÇAKIRBEY ve rahmetli abim Volkan ÇAKIRBEY'in anısına ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	X
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	18
2.1. Dünya’da ve Ülkemizde Yer fıstığı Üretim Alanlarında Sorun Olan Toprak Kökenli Fungal Hastalıklar.....	18
2.2. Yer fıstığında Sorun Olan Toprak Kökenli Fungal Hastalıklara Karşı Biyolojik Mücadele Etmeni Bakterilerin Kullanımı Üzerine Yapılmış Çalışmalar	24
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	41
3.1. Materyal.....	41
3.2. Yöntem	41
3.2.1. Yer fıstığı Tarlalarında Toprak Kökenli Fungal Hastalıkların Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi.....	41
3.2.2. Yer fıstığı Bitkilerinden Toprak Kökenli Fungal Hastalık Etmenlerin İzolasyonu	43
3.2.3. Yer fıstığı Bitkilerinden Toprak Kökenli Fungal Etmenlerinden Tek Spor İzolatların Elde Edilmesi	43
3.2.4. Toprak Kökenli Fungal Hastalık Etmenlerin Morfolojik Tanılanmaları	44
3.2.5. Patojenite Çalışmaları.....	45
3.2.6. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Teşhisi	49
3.2.7. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Moleküler Tanılanması.....	49
3.2.8. Biyolojik Mücadele Etmeni Bakteri İzolatların Biyolojik Mücadele ve Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi Çalışmalarında Kullanılan Besi Yerleri.....	51
3.2.9. Bakteri İzolatlarının İzolasyonu, Seçimi ve Tanılanması.....	52
3.2.9.1 Bakteri İzolatlarının Sağlıklı Bitkilerden İzolasyonları	52
3.2.9.2 Bakteri İzolatlarının Seçimi	53
3.2.9.3 Bakteri İzolatlarının Teşhisi.....	55
3.2.10. Bakteri İzolatlarının Fungal Hastalık Etmeninin <i>in vitro</i> Koşullarda Misel Gelişimini Engellenmesinde Gösterdiği Antagonistik Etkinliklerinin Belirlenmesi	56
3.2.11. Bakteri İzolatlarının Hastalık Etmenlerini Engellemede Kullandıkları Antagonistik ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmaların Belirlenmesi.....	57
3.2.11.1 Bakteri İzolatlarının Siderofor ve Proteaz Üretme, Fosforu Çözme Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	58
3.2.11.2 Bakteri İzolatlarının Amonyak (NH ₃) ve Hidrojen Siyanür (HCN) Üretim Etkinliklerinin Belirlenmesi	59
3.2.11.3 Bakteri İzolatlarının Indol Asetik Asit (IAA) Üretme Etkinliklerinin Belirlenmesi	60
3.2.12. Bakteri İzolatlarının <i>in vivo</i> Hastalık Çıkışı Üzerine Olan Etkinliklerinin Belirlenmesi	61
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	66

4.1. Hastalık Sörveyi	66
4.2. Hastalık Belirtilerine Sahip Yer fıstığı Bitkilerinden Fungal İzolatların Elde Edilmesi	69
4.3. Fungal Hastalık Etmenlerin Tanımlamaları	74
4.4. Patojenite Çalışmaları.....	80
4.5. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Teşhisi	80
4.6. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Moleküler Tanılanması.....	81
4.7. Bakterilerin İzolasyonu ve Seçimi.....	84
4.8. Bakteri İzolatlarının Tanılanması	84
4.9. Bakteri İzolatlarının Bölgede Yaygın Görülen Fungal Hastalık Etmenine Karşı <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinliğinin İkili Kültür Testleri ile Belirlenmesi	87
4.9.1. Bakteri İzolatlarının <i>S. rolfsii</i> Etmenine Karşı <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi	87
4.9.2. Bakteri İzolatlarının <i>A. niger</i> Etmenine Karşı <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi	91
4.9.3. Bakteri İzolatlarının <i>L. pseudotheobromae</i> Etmenine Karşı <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi.....	95
4.10. Bakteri İzolatlarının Hastalık Etmenlerini Engellemede Kullandıkları Biyokontrol ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Belirlenmesi	103
4.11. Bakteriyel İzolatların <i>in vivo</i> Koşullarda Hastalık Çıkışı Üzerine Olan Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	111
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	116
KAYNAKLAR	121
ÖZGEÇMİŞ	142
EKLER.....	143

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya genelinde 2021 yılında gerçekleşen yer fıstığı üretim alanı, verim ve üretim miktarları (FAO, 2021)	2
Çizelge 1.2. Türkiye’de 2021 yılında gerçekleşen yer fıstığı üretim alanı, verim ve üretim miktarları (TÜİK, 2021)	3
Çizelge 1.3. Osmaniye İli ve ilçelerinde 2021 yılında gerçekleşen yer fıstığı üretim alanı, verim ve üretim miktarları (TÜİK, 2021)	4
Çizelge 3.1. Fungal etmenlerin moleküler tanımlanmalarında kullanılan primerler ve gen dizilimleri	51
Çizelge 4.1. Osmaniye ilinin farklı ilçelerinde 2021 yetiştirme sezonunda yer fıstığı bitkilerinde kaydedilen fungal hastalıkların yaygınlık durumları (%)	68
Çizelge 4.2. Yer fıstığı bitkilerinden izole edilen fungal izolatların farklı gen bölgelerine ait dizi analizlerine bağlı tanılama sonuçları	83
Çizelge 4.3. MALDI-TOF ile tanısı yapılan bakteri izolatlarına ait tür tanı sonuçları ...	85
Çizelge 4.4. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen antagonist bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>S. rolfsii</i> etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri	88
Çizelge 4.5. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>A. niger</i> etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri	93
Çizelge 4.6. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>pseudotheobromae</i> etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri	96
Çizelge 4.7. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde test edilen hastalık etmenlerinin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri	101
Çizelge 4.8. Farklı antagonist bakteri izolatların hastalık etmenlerini engellemede kullandıkları olası biyokontrol mekanizmaları ^a	105
Çizelge 4.9. Farklı bakteri izolatların bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası mekanizmaları ^a	108
Çizelge 4.10. Bakteri izolatların <i>in vivo</i> koşullarda hastalık çıkışı ve gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri	113

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 3.1. Osmaniye'nin farklı ilçelerinde yetiştirilen yer fıstığı tarlalarında yapılan sürveylerde tespit edilen tipik hastalık belirtileri (ok) 42
- Şekil 3.2. Fungal etmenlerin patojenite test inokulumları. *S. rolfsii* (A), *A. niger* (B), *R. solani* (C), *M. phaseolina* (D), *L. theobromae* (E), *L. pseudotheobromae* (F), *F. solani* (G), *S. sclerotiorum* (H), *Fusarium* spp. (I) 46
- Şekil 3.3. (A-C) Patojenisite testinde viyollerde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinin kök boğazı bölgelerine kürdan ve misel disk koyma yöntemleriyle inokulasyonları (ok). (D) İnokule edilen bitkilerin yetiştirme odalarında bekletilmesi. (E-F) İnokule edilen bitkilerde gözlenen tipik hastalık belirtileri (ok). (G) Patojenite testi yapılan bitkilerden hastalık etmenlerinin izolasyonu (ok) 47
- Şekil 3.4. Farklı fungal hastalık etmenleri tarafından patojenite test sonucu oluşan tipik belirtiler. (A-B) *L. theobromae* K26, (C-D) *A. niger* Sum8, (E-F) *L. pseudotheobromae* B1, (G-H) *L. theobromae* K20, (I-J) *F. brachygibbosum* M19, (K-L) *F. equiseti* K1-1 (M-N) *M. phaseolina* M5, (O-P) *R. solani* T5-2, (R-S) *F. solani* K18, (T-U) *S. sclerotiorum* K3-3 izolatları tarafından oluşturulan tipik belirtiler (ok).....48
- Şekil 3.5. (A-B) Survey alanlarından temin edilen sağlıklı yer fıstığı bitkileri, kök, gövde ve baklaları. (C-E) Sağlıklı bitkilerin kök, gövde, bakla ve tohumlarından izole edilen farklı morfolojik yapıdaki bakteri izolatlarının besi yeri üzerinde genel görünüşleri 53
- Şekil 3.6. Sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden izole edilen bakteri izolatlarının tütün yaprağında HR (A) ve patates dilimi üzerinde yumuşak çürüklük testi (B). Bitki patojeni bakteriler (ok) tütün yaprağında ve patates dilimi üzerinde tipik belirtilere neden olurken, antagonist/PGPB bakteri izolatları inokulasyon noktalarında (*) belirti oluşmamıştır 54
- Şekil 3.7. Antagonist bakteri izolatının (*) ikili kültür testlerinde (A) *S. rolfsii*, (B) *A. niger*, (C) *L. pseudotheobromae* izolatlarının misel gelişimini engelleme (ok) potansiyellerinin belirlenmesi 57
- Şekil 3.8. Bakteri izolatların CAS Agar ortamında siderofor (A), SMLBA ortamında proteaz (B), PVK ortamında fosforu çözme (C) etkinliklerinin belirlenmesi. Etkinlik gösteren izolatların etrafında oluşturulan temizleme bölgeleri (clear zone) (ok) olarak gözlenmiştir. Etkinlik göstermeyen bakteri izolatlarının etrafında temizleme bölgesi oluşmamıştır (*). 58
- Şekil 3.9. Bakteri izolatların amonyak (A), HCN (B) ve IAA (C) üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Besi yerinde tespit edilen renk değişiklikleri (ok) bakterinin söz konusu etkinlik açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir 61
- Şekil 3.10. *İn vitro* antagonistik etki gösteren bakteri izolatları arasında yüksek etkili izolatlarla yapılan *in vivo* biyoetkinlik çalışmaları. Haşlanmış buğday tohumlarına *S. rolfsii* fungal izolatının misellerinin sardırılarak kolonize ettirilmesi.....62
- Şekil 3.11. *İn vitro* antagonistik etki gösteren bakteri izolatları arasında yüksek etkili izolatlarla yapılan *in vivo* biyoetkinlik çalışmaları.(A-D) yer fıstığı tohumları, %0.05 lik karboksimetil selüloz (CMC) içerisinde hazırlanmış konsantrasyonu 10⁸ cfu/ml olan bakteri süspansiyonu içinde 2 saat çalkalayıcıda bekletilerek yüzeyleri antagonist bakteri izolatları ile

bulaştırılmıştır. (E-F) Sağlıklı yer fıstığı tohumlarının etrafına tohum başına 5 adet 6 mm çapında misel içeren taze fungus agar diskleri (ok) yerleştirilmesi	63
Şekil 4.1. Osmaniye ilinin farklı ilçelerinde yapılan sörveylerde hastalık belirtisi gösteren yer fıstığı bitkilerinin kök, kök boğazı ve gövdelerinde tespit edilen tipik hastalık belirtileri (ok). (A-C) <i>A. niger</i> , (D-F) <i>S. rolfsii</i> , (G-I) <i>R. solani</i> tarafından neden olunan hastalık belirtileri (ok)	70
Şekil 4.2. Osmaniye ilinin farklı ilçelerinde yapılan sörveylerde hastalık belirtisi gösteren yer fıstığı bitkilerinin kök, kök boğazı ve gövdelerinde tespit edilen tipik hastalık belirtileri (ok)	71
Şekil 4.3. Sörvey yapılan tarlalardan her bir farklı hastalık belirtisi gösteren şüpheli/hasta bitkilerin ayrı ayrı kese kağıtlarına konulması ve laboratuvarda izolasyonlarının yapılması	72
Şekil 4.4. Hastalıklı bitki örneklerinden elde edilen hastalık etmenlerin tek spor izolatlarına ait saf fungus kültürleri. (A) <i>Aspergillus niger</i> , (B) <i>Sclerotium rolfsii</i> , (C) <i>Rhizopus stolonifer</i> , (D) <i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> , (E) <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (F) <i>Fusarium oxysporum</i> , (G) <i>Rhizoctonia solani</i> , (H) <i>Macrophomina phaseolina</i> , (I) <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	73
Şekil 4.5. Hastalıklı bitki örneklerinden gelişen hastalık etmenlerine ait (A-C) karışık ve (D-F) saf fungal türleri	74
Şekil 4.6. Petrilerde gelişen bazı fungusların türlerine özgü yapılar (ok). (A) <i>A. niger</i> sporangiofor, (B) <i>R. solani</i> hifi, (C) <i>M. phaseolina</i> sklerotları, (D-F) <i>Lasiodiplodia</i> sp. konidomata ve konidileri (G) <i>Fusarium</i> spp makrokonidiler	75
Şekil 4.7. Hastalıklı bitkilerden elde edilen <i>A. niger</i> , <i>R. stolonifer</i> , <i>F. oxysporum</i> ve <i>Lasiodiplodia</i> spp ait izolatların MALDI-TOF tanı raporu	81
Şekil 4.8. Fungal etmenlerin genomik DNA larının ITS1-4, primerleri ile çoğaltılması sonucunda oluşan bandların genel görünümleri. Elde edilen gen bölgeleri sekans dizilimleri belirlenmek amacıyla firmaya gönderilmiştir.	82
Şekil 4.9. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni <i>S. rolfsii</i> 'nin misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine antagonistik etkinlikleri.	88
Şekil 4.10. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni <i>A. niger</i> 'in misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine antagonistik etkinlikleri.	92
Şekil 4.11. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni <i>L. pseudotheobromae</i> 'nin misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine antagonistik etkinlikleri.	96
Şekil 4.12. Bakteri izolatlarının özel besi yerleri üzerinde (A) siderofor, (B) proteaz ve (C) fosfor çözme etkinliklerinin belirlenmesi. Besi yerlerinde temizleme bölgeleri (ok) oluşturmak suretiyle etkinlik gösteren izolatlar ile etkinlik göstermeyen (*) izolatlar (A) CAS Agar, (B) SMLB Agar ve (C) Pikavskaya Agar üzerindeki etkinlikleri.	104
Şekil 4.13. Farklı bakteri izolatlarının amonyak üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Bakteri antagonist izolatlarınca besi yeri içerisinde oluşturulan amonyak üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan koyu sarı-kahverengine (ok) dönüşmesiyle belirginleşmiştir.	104

- Şekil 4.14. Bakterilerin glycine içeren TSA besisi yerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri. Bakteri izolatı tarafından artan şiddette üretilen HCN sonucu petri kapağındaki filtre kâğıdı kırmızı-turuncu renge (ok) dönüşmüştür...105
- Şekil 4.15. Bakteri izolatlarının LB besisi ortamı içinde IAA üretim durumları ve üretilen IAA oranlarına göre kırmızıdan pembeye doğru renk değişimi (ok).....107
- Şekil 4.16. Bakteri izolatlarının *S. rolfsii* (A-B) ve *A. niger* (C-D) ile bulaşık topraklarda hastalık çıkışı üzerine *in vivo* etkinliği. Pozitif kontrol uygulamalarında hastalık etmeni kurumlara (ok) veya bitki çıkışı engellenirken (*), bakteri uygulanmış tohumlardan değişen sayıda sağlıklı fide gelişimleri gözlenmiştir. 113



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: derece Celsius
cm	: santimetre
da	: dekar
dk	: dakika
g	: gram
ha	: hektar
kg	: kilogram
kDa	: Kilo Dalton
mg	: miligram
ml	: mililitre
Mm	: milimetre
µg	: mikrogram
µl	: mikrolitre
µm	: mikrometre
Ppm	: part per million (milyon birimde bir birim)
rpm	: rotation per minute (dakikadaki dönme sayısı)

KISALTMALAR

BCA	: B iological C ontrol A gent
Bç	: Bakteri koloni çapı
BLAST	: B asic L ocal A lignment S earch T ool
BNF	: B iyolojik A zot F iksasyonu
CAS	: krom azurol S (C hrome A zurol S) Agar Besi yeri
CLA	: C arnation L eaf- P iece A gar- Besi Yeri (Karanfil Yaprak Parçası Agar besi yeri)
CMC	: Karboksimetil selüloz
CWDE	: Hücre duvarı parçalayıcı enzimler
Cx	: Selülaz
DAPG	: 2,4- d iacetylphloroglucinol
DNA	: D eoksiriboz N ükleik A sit
FAO	: F ood and A griculture O rganisation (Dünya Gıda ve Tarım
HCCA	: α-Cyano-4-hydroxycinnamic asid (Matriks solüsyonu)
HCN	: Hidrojen Siyanür (H ydrogen c yanade)
HMKÜ	: H atay M ustafa K emal Ü niversitesi
HR	: H ypersensitive R eaction (Aşırı Duyarlık Tepkimesi)
IAA	: I ndol 3 A setik A sit

ISR	: I nduced S ystemic R esistance (Teşvik edilmiş sistemik Dayanıklılık)
ITS	: I nternal T ranscribed S pacers gen bölgesi
KB	: K ing' s B - Besi Yeri
LB	: L uria B ertani- Besi Yeri
MALDI-TOF MS	: M atrix A sisted L aser D esorption I onization- T ime o f F light M ass S pectroscopy
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
MGE	: M isel G elişimini E ngelleme
MGk	: Kontrol petrideki Misel Gelişimi
MGu	: Bakteri Uygulanmış petrideki Misel Gelişimi
MLST	: Çok odaklı dizi tipi
MS	: M ass S pectrometry
N	: A zot
NA	: N utrient A gar- Besi Yeri
Na₂CO₃	: Sodium Carbonate
NaOCl	: Sodium Hypochlorite (Sodyum Hipoklorit)
NH₃	: Amonyak
PA	: P icric a cid
PAL	: P henylalanine a mmonia- l yase
PCR	: P olimeraz C hain R eaction
PG	: Poligalakturonaz
PGPB	: P lant G rowth P romoting B acteria (Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakteri)
PGPR	: P lant G rowth P romoting R hizobacteria (Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kökbakterisi)
PMG	: Polimetil galakturonaz
POD	: P eroxidase
PPO	: P olyphenol o xidase
PSA	: P otato S ukroz A gar- Besi Yeri
PSB	: P otato S ukroz B roth- Besi Yeri
PVK	: P ikovskaya A gar
SAR	: S ystemic A cquired R esistance (Sistemik Kazanılmış)
SMLBA	: S kimmed M ilk L uria B roth A gar Besi yeri
TSA	: T ryptic S oybean A gar- Besi Yeri
TÜİK	: T ürkiye İ statistik K urumu
UV	: U ltraviyole
WA	: W ater A gar (Su Agarı)

1. GİRİŞ

Fabaceae (baklagiller) familyasının bir üyesi olan yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.), gıda, yağ ve ticari ürün olarak dünya çapında büyük öneme sahip endüstri bitkisidir (Sobolev ve ark., 2013). Tropik, subtropik bölgelerde tek yıllık ve yazlık ürün olarak yetiştirilmektedir. Kökeni Güney Amerika olan bu bitkinin tohumları %44-55 oranında yağ içermesi nedeniyle “yağlı tohum”lu bitkiler grubunda yer alır. Yer fıstığı yağı yüksek oranda (%45-60) oleik asit içermesinden dolayı kızartma yağı olarak da kullanılmaktadır. Gıda sanayisinde rafine edilmiş yer fıstığı yağı; margarin, mayonez, sos, bisküvi, pasta, gevrek, şekerleme yapımında ve balık konserveçiliğinde kullanılmaktadır (Kadiroğlu, 2023). Yer fıstığı tohumları %20-25 oranında protein, yaklaşık olarak %18 oranında karbonhidrat ve bol miktarda Ca, Mg, K, P, S, Fe ve Zn gibi mineraller içermektedir. Vitamin A, B, K ve E açısından da zengin olan yer fıstığı tohumları çerez olarak da tüketilmektedir. Başta Amerika Birleşik Devletleri (ABD) olmak üzere birçok ülkede fıstık ezmesi olarak tüketilmektedir.

Küspesi endüstriyel açıdan önemli olan yer fıstığı bitkisinin yaprak ve sapları da oldukça değerli olup hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir (Le ve ark., 2018). Baklagil familyasına dahil olan bu bitki havanın serbest azotundan köklerinde yumru oluşturan bakteriler sayesinde faydalanmaktadır. Bu nedenle yer fıstığından sonra ekimi yapılacak bitkinin toprağı azot ve organik maddece zengindir. Yer fıstığı bir çapa bitkisidir. Yetiştiriciliğı yapıldığı sezon içerisinde çapalama işlemine devam edilmesi sebebiyle yabancı otlar bakımından temiz ve iyi havalanmış toprak bırakır. Bu sebeple iyi bir münavebe bitkisidir (Arioğlu, 2014).

FAO verilerine göre 2021 yılında dünyada yaklaşık olarak 33 milyon ha alanda ekimi yapılmış olup ortalama 164 kg/da verim ile toplamda yaklaşık 54 milyon ton yer fıstığı üretilmiştir (FAO, 2021). Dünyada en fazla yer fıstığı üretim miktarına sahip olan ülke 18 milyon ton (%33.3) ile Çin’dir. Çin’i sırasıyla 10 milyon ton ile Hindistan (% 18.5), 5.3 milyon ton alan ile ABD (% 9.8), 4.6 milyon ton ile Nijerya (% 8.5), 2.35 milyon ton ile Sudan (% 4.35), 1.6 milyon ton ile Senegal ve Myanmar (% 2.96), 1.2 milyon ton ile Arjantin (% 2.22), 907 bin ton ile Gine (%1.67) ve 235 bin ton ile Türkiye (% 0.44) takip etmektedir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Dünya genelinde 2021 yılında gerçekleşen yer fıstığı üretim alanı, verim ve üretim miktarları (FAO, 2021)

Ülke	Ekiliş Alanı (ha)	Verim (kg/da)	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Oranı %
Çin	4 748 050	386.63	18 357 437	33.3
Hindistan	5 969 029	171.62	10 244 000	18.5
ABD	1 454 970	370.59	5 391 979	9.8
Nijerya	4 271 859	107.86	4 607 669	8.5
Sudan	3 936 000	59.83	2 355 000	4.35
Senegal	1 214 316	138.17	1 677 803	2.96
Myanmar	1 153 945	138.75	1 601 143	2.96
Arjantin	401 756	315.43	1 267 242	2.22
Gine	788 815	115.00	907 137	1.67
Türkiye	57 919	404.30	234 167	0.44
Diğerleri	8 724 301	120	7 283 317	15.3
Toplam	32 720 960	164	53 926 894	100.0

Yer fıstığının Türkiye'deki yetiştiriciliği daha çok Akdeniz iklimi etkisi altındaki bölgelerde yapılmakta olup, sulanabilen ve hafif, kumlu-tınlı yapıya sahip topraklarda başarılı bir şekilde gerçekleşmektedir. Türkiye'de yetiştirilen yer fıstıklarının yaklaşık olarak %80'ni Çukurova bölgesindedir. Türkiye İstatistik Kurumunun (TÜİK) 2021 yılı bitkisel üretim istatistik verilerine göre Türkiye'deki yer fıstığı ekim alanlarının yaklaşık %48'i Adana'da, %25'i Osmaniye'de, %13'ü Şırnak'ta, %4.08'i Hatay'da, %3'ü Antalya'da, %2.04'ü Kahramanmaraş'ta, %1.72'si Mersin'de, %1.71'i Aydın'da, %1.07'si Gaziantep'te geri kalan miktarı ise diğer illerde yapılmaktadır (TÜİK, 2021). Yer fıstığı ekim alanlarında Adana ili birinci sırada yer almasına rağmen Türkiye'de üretilen yer fıstığının yaklaşık %90'ı ekim alanı açısından ikinci sırada yer alan Osmaniye ilinde işlenip ve pazarlanmaktadır. TÜİK bitkisel üretim istatistik verilerine göre, Türkiye yer fıstığı üretim miktarlarında; Adana yaklaşık olarak 117 bin ton (% 49.9) ile birinci sırada yer alırken, Osmaniye 55 bin ton (% 23.5) ile ikinci ve Şırnak yaklaşık 30 bin ton (% 12.6) ile üçüncü sırada yer almaktadır (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2. Türkiye’de 2021 yılında gerçekleşen yer fıstığı üretim alanı, verim ve üretim miktarları (TÜİK, 2021)

Şehir	Ekiliş Alanı (da)	Verim (kg/da)	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Oranı (%)
Adana	274 914	425	116 917	49.92
Osmaniye	144 613	381	55 146	23.54
Şırnak	75 575	393	29 696	12.68
Hatay	23 672	429	10 160	4.33
Antalya	16 872	389	6 555	2.79
Kahramanmaraş	11 855	362	4 296	1.83
Mersin	9 969	352	3 505	1.49
Aydın	9 910	369	3 661	1.56
Gaziantep	6 221	393	2 445	1.04
Diğerleri	5 591	319	1 786	0.82
Toplam	579 192	404	234 167	100.00

Çizelge 1.2’den de anlaşıldığı gibi Hatay ili 429 (kg/da) dekara verim ortalaması ile birinci sırada yer alırken bunu 425 kg/da Adana ili ve 393 kg/da Şırnak ve Gaziantep illeri takip etmiştir. Dekara verim ortalaması 381 (kg/da) olan Osmaniye ilinin hemen hemen tüm ilçelerinde yer fıstığı yetiştiriciliği yapılmaktadır. TÜİK’in 2021 yılı Osmaniye İli yer fıstığı üretim istatistik verilerine göre;

Osmaniye yer fıstığı üretim miktarlarında; Kadirli ilçesi 25.3 bin ton (% 45.93) ile birinci sırada yer alırken, Merkez ilçesi 13.2 bin ton (% 23.99) ile ikinci ve Düziçi ilçesi 12.2 bin ton (% 22.26) ile üçüncü sırada yer almaktadır. Osmaniye yer fıstığı ekim alanlarında; Kadirli ilçesi 57.405 bin da (%39.7) ile birinci sırada yer alırken, Düziçi ilçesi yaklaşık 40 bin da (%27.4) ile ikinci, Merkez ilçe ise 36 bin da (%24.9) ile üçüncü sırada yer almaktadır. Osmaniye ili yer fıstığı verim ortalaması 381 kg/da’dır. Yer fıstığı veriminin en yüksek olduğu ilçe 441 kg/da ile Kadirli ilçesi olup Türkiye ve il ortalamasının oldukça üzerindedir, Toprakkale ilçesi 375 kg/da verim ile ikinci sırada yer alırken, Merkez ve Sumbas ilçeleri 368 kg/da verim ile üçüncü sırayı paylaşmaktadır. (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Osmaniye İli ve ilçelerinde 2021 yılında gerçekleşen yer fıstığı üretim alanı, verim ve üretim miktarları (TÜİK, 2021)

İlçe	Ekiliş Alanı (da)	Verim (kg/da)	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Oranı (%)
Kadirli	57 405	441	25 332	45.93
Düziçi	39 578	310	12 281	22.26
Merkez	36 000	368	13 230	23.99
Sumbas	7 290	368	2 684	4.86
Toprakkale	4 000	375	1 500	2.72
Bahçe	340	350	119	0.21

Dünyada ve ülkemizde yer fıstığı üretimini sınırlayan en önemli faktörlerden birisi toprak kökenli fungal hastalık etmenleridir. Yer fıstığı üretiminde farklı türlere ait toprak kökenli fungal etmenlerin neden olduğu hastalıkların oluşturduğu belirtiler birbirlerine benzerlik göstermesinden dolayı hangi tür veya türlerin tehdit oluşturduğu bazen tahmin edilememektedir. Ayrıca yer fıstığı tohumlarının toprak içerisinde yetişmesinden dolayı “toprak kökenli” hastalık etmenlerine karşı oldukça duyarlıdır. Dünya genelinde yer fıstığı bitkilerinde sorun olan en yaygın ve önemli toprak kökenli fungal hastalık etmenleri *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*, *Pythium* spp., *Aspergillus niger* ve *Verticillium dahliae*'dir (Thiessen ve Woodward, 2012).

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de yer fıstığı yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlarda verim ve kalitede önemli kayıplara neden olan birçok toprak kökenli fungal hastalıklar mevcuttur. Bu hastalık etmenleri ciddi zararlar meydana getirmekte olup mücadelesi oldukça zordur. Fungisitlerin yer fıstığı gölgesinden toprak profiline yayılmasının zorluğu nedeniyle toprak kökenli hastalıkları idare etmek özellikle karmaşıktır (Thiessen ve Woodward, 2012). Yer fıstığında aynı tarlaya iki yıldan fazla üst üste ekimlerin yapılması toprak kökenli hastalık etmenlerinin görülmesinin en önemli nedenleri arasındadır. Toprak kökenli bu hastalık etmenleri toprakta, bitki veya hasat artıklarında uzun süre canlı kalabilmekte ve olumsuz koşullara karşı dayanıklı yapılar geliştirebilmektedirler.

Toprak kökenli fungal hastalık etmenleri tarla koşullarında önemli verim kayıplarına neden olmalarının yanında hasat sırasında, hasat sonrasında, işleme ve

pazarlamada da ekonomik kayıplara sebebiyet vermektedir. Bu etmenler yer fıstığı bitkilerinde kök çürüklüğü, sap çürüklüğü ve kurumalar meydana getirmektedir.

Yer fıstığı kökboğazı çürüklüğü olarak bilinen hastalığın etmeni *Aspergillus niger* Tiegh.'dir. Sıcaklık 30-35 °C olduğunda iyi gelişmektedir. Bitki artıklarıyla taşınabilen bu fungus tohumla da taşınmaktadır. Bitkinin tümü veya bir bölümünde görülen ani solmalar hastalığın ilk belirtilerindendir. En tipik belirtisi ise kotiledon nodu ve buna bitişik hipokotil dokusunun çürümesidir. Enfekteli doku önceleri kahverengileşmekte, zamanla açık renk almaktadır. Kotiledonlar en fazla görülebilen enfeksiyon yerleridir. Siyah spor kitleleri ve konidioforlar enfekteli kısımlar üzerinde görülebilmektedir. Konidiospor gelişimi genellikle bitkinin çöktüğü zamanda oluşmaktadır. Bu belirtiler daha çok fide döneminde görülmekte ve enfekteli bitkiler 50 gün içerisinde ölmektedir. Etmen, fide döneminde çıkış öncesi çürüklük meydana getirebileceği gibi vejetasyonun herhangi bir döneminde de bitkiyi öldürebilmekte bu sebeple enfekteli tarlalarda ocak ocak boşluklar meydana getirmektedir (Kurt, 2013).

Güney yanıklığı, gövde çürüklüğü veya *Sclerotium* çürüklüğü olarak bilinen bir diğer önemli hastalık toprak kökenli fungal etmen *Sclerotium rolfsii* Sacc. tarafından neden olunur. Fungus dünya yer fıstığı yetiştiriciliği yapılan ülkelerin hemen hemen tamamında bulunmaktadır. *Sclerotium rolfsii* 200'den fazla bitki türüne sahip bir konukçu aralığına sahiptir ve canlı veya ölü bitki dokularını kolonize edebilmektedir (Punja, 1985; Backman ve Brenneman, 1997). Hastalık yaygın olarak %25'ten az kayıplara neden olurken, ekstrem koşullarda %80'e kadar verim kayıplarına sebep olabilir (Backman ve Brenneman, 1997). Nemli koşullar, sık ekim, yüksek sıcaklık ve sık sulamalar hastalık gelişimi için uygun koşullar olarak kabul edilmektedir (Punja 1985; Aycock 1966). Hastalığın ilk belirtileri arasında ana gövdede, yan dallarda veya tüm bitkide solgunluk ve sararma şeklinde başlamaktadır. Daha sonra ilerleyen aşamada bitkinin toprağa yakın taban kısımlarının yüzeylerinde beyaz miseller görülebilmektedir. Uygun koşullar altında, büyüme mevsimi boyunca miseller hızla diğer dallara geçerek yer fıstığı bitkilerine yayılır. Patojen toprakta, bitki kalıntılarıyla veya toprak yüzeyinin yakınında bulunan, duyarlı bir konukçunun yokluğunda uzun süre canlı kalabilen ve hastalık için birincil inokulum görevi gören sklerot adı verilen dirençli yapılar halinde hayatta kalır (Aycock 1966; Backman ve Brenneman 1997). Bu sklerotlar başlangıçta küresel şekilli olup ve beyaz renklidir, ancak daha sonra açık kahverenginden koyu kahverengine döner

ve ilk inokulum kaynağı olarak görev yapar (Backman ve Breneman, 1997). Meyvede ise, patojen baklaları enfekte ettiğinde baklalar su ile ıslanmış ve peltemsi görünüme sahip kahverengi bir çürüklük sergilerler (Punja, 1985). Bu durum, bitkinin toprak üstü aksamında hiçbir belirti görülmediği durumda da ortaya çıkabilmektedir. Genellikle enfekte baklalar topraktan çıkarıldığında, miselyum kaplı baklarda fungus hiflerine yapışmış toprak görülmektedir (Thiessen ve Woodward, 2012).

Lasiodiplodia theobromae ve *L. pseudotheobromae*'nin neden olduğu kökboğazı (yaka) çürüklüğü hastalığı ilk olarak 1932 yılında Miller ve Harvey tarafından tanımlanmıştır. Hastalık belirtileri nekrotik lekeler olarak ortaya çıktıktan sonra özellikle yer fıstığı bitkisinin saplarının (yaka) tabanında renksiz nekrotik lezyonlara dönüşür. *Botryosphaeriales* takımına ait mantar türleri, geniş bir konukçu yelpazesine ve yaygın dağılıma sahip toprak kaynaklı nekrotik bitki patojenleri olarak bilinmektedir (Slippers ve Wingfield, 2007; Phillips ve ark., 2013). *Botryosphaeriaceae* familyası üyeleri genellikle fırsatçı patojenler olarak tanınsa da, olumsuz koşullar altında ciddi hastalık belirtilerine neden olabilirler (Slippers ve Wingfield 2007; Sakalidis ve ark. 2011; Castillo, 2023; Wang ve ark., 2023b). *L. pseudotheobromae* yer fıstığı üreticisi ülkelerde önemli ekonomik kayıplara neden olan önemli bir fungal patojen olarak rapor edilmemiştir. Bunun yerine çeşitli konukçu bitkilerde saprofit, yara paraziti veya fırsatçı olarak görülmektedir (Phipps ve Porter, 1998; Phillips ve ark., 2013; Wang ve ark., 2023b). *L. pseudotheobromae*, geniş bir konukçu aralığına sahip tropik ve subtropik ülkelerde yaygın olarak bildirilmiştir (Adeniyi ve Asogwa, 2023). Yer fıstığında yaka çürüklüğüne neden olan *L. pseudotheobromae*'nin varlığı daha önce Çin (Zhang ve ark. 2022a) ve Nijerya'da (Ataga ve ark. 2019) bildirilmiştir. Hastalık etmeninin ayrıca Pakistan (Alam ve ark. 2021), Çin (Chen ve ark. 2021) ve Tayland'da (Pipattanapuckdee ve ark. 2019) mango, turuncgil ve longan meyvelerinde çürüklüğe, *Ormosia pinnata* (Li ve ark. 2020) ve mango ağaçlarında (Ismail ve ark. 2012) yaprak dökülmesine ve Çin'de *Sacha inchi*'de kanser hastalıklarına neden olduğu bildirilmiştir (Wang and Song, 2021). *L. pseudotheobromae*'nin yanı sıra, yakın akraba fungus türleri *L. theobromae* ve *L. iranensis*'in de yer fıstığında tohum ve yaka çürüklüğü hastalığına neden olduğu bildirilmiştir (Phipps ve Porter, 1998; Ataga ve ark., 2019, Isalar ve ark., 2021; Wang ve ark., 2023). Türkiye'de limon (Awan ve ark., 2016), nektarin (Endes ve ark., 2016) ve erik (Endes ve Kayım, 2021) meyvelerinde *L. pseudotheobromae* varlığı bildirilmiştir.

Fusarium'un bazı türleri fidelerde çökerten ve olgun bitkilerde kök çürümesi, solgunluk gibi hastalıklara sebep olmaktadır. Enfekteli bitkilerin yapraklarında sararma ve solgunluk, kök ve gövdede renk değişimleri meydana gelmektedir. *Fusarium* ile bulaşık bir tarlada patojenin sporları yıllarca toprakta kalmakta, bu sebeple rotasyon uygulamaları patojen popülasyonlarının toprakta oluşum hızını azaltmaya yardımcı olabilmektedir. Fungisit uygulamalarının *Fusarium*'un neden olduğu olgun bitki hastalıklarını yönetmede etkili olmadığını, bu sebeple yer fıstığı ekimi yapılacak tarlaların iyi drene edilmiş olması, ekim esnasında köklerin zarar görmemesi ve doğru sulama uygulamalarının hastalığı azaltmaya yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Puppala ve ark.,2018). *Fusarium* türleri, dünyadaki ekonomik ve bilimsel açıdan önemli bitki patojeni funguslar arasında ilk onda yer almaktadır (Dean ve ark., 2012). *Fusarium* cinsindeki mantarlar filamentli askomisetlerdir, tarımsal ve doğal ekosistemlerde çok sayıda tarla, bahçe, süs ve orman türünün solgunlukları, yanıklıkları ve nekrozları dahil olmak üzere çeşitli hastalıklarla ilişkilidir (Ma ve ark., 2013). *Fusarium* türleri tarafından yer fıstığı bitkilerinde neden olunan hastalıkları arasında *Fusarium* kök çürüklüğü (*Fusarium* spp.), *Fusarium* solgunluğu (*Fusarium oxysporum* Schlecht.), bakla çürüklüğü veya bakla dökülmesi [*Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. = *F. scirpi* Lambotte & Fautrey ve *F. solani* (Mart.) Sacc.] yer almaktadır (Thirumalaisamy ve ark., 2019).

Toprak kökenli fungus *Macrophomina phaseolina*'nın neden olduğu kömür çürüklüğü, çoğu yer fıstığı üreticisi ülkede yaygın olarak görülmektedir. Fungus dünyada çok çeşitli ürünlerde hastalıklara neden olmaktadır. Yer fıstığında tohum ve fide çürüklükleri, solgunluk, kök ve gövde çürüklükleri, yaprak lekesi, gelişmekte olan bakla ve tohumların çürümesi ve gizli hasarlardan sorumludur. "Kömür çürüklüğü" terimi, fidelerin ve yaşlı bitkilerin köklerine ve gövdelerine verilen zararı tanımlamak için kullanılır. Toprak yüzeyine yakın hipokotil üzerinde su ile ıslanmış lezyonların oluşması bu hastalığın karakteristik bir işaretidir. Büyümenin tüm aşamalarındaki tüm bitki kısımları duyarlı olmasına rağmen, toprak hattındaki yaşlı bitkilerde de benzer belirtiler görülür. Gövde ve kök lezyonları ilk başta su ile ıslanmış gibi görünür, ancak enfekte olmuş dokular daha sonra donuk açık kahverengi bir renk alır. Enfeksiyon ana kökten aşağıya, gövde ve dallara doğru uzanır. Lezyonlar gövdeyi sardığında, bitki solgunlaşır ve fungus hızla kahverengiye dönüşen ve ölen dalları kolonize eder. Ölü dokular çürür ve fungusun sklerotisi bolca geliştikçe siyaha döner. Kökler, saplar ve baklalar da çürür ve

sklerotia ile kaplanır. Bazı durumlarda, hastalık ilk başta çürüyen ve kararan köklerle sınırlı kalır ve ana kök parçalanır. Bu tür bitkilerin yaprakları sararır ve solar ve tipik gövde yanıklığı ve kömür çürüklüğü belirtileri ortaya çıkar. Kömür çürüklüğü hem tohum kökenli hem de toprak kökenlidir. Tohumdaki miselyum ve topraktaki bitki kalıntılarındaki miselyum ve sklerotia birincil inokulum kaynaklarıdır. Sklerotia kuru toprakta uzun yıllar canlı kalabilir ancak çok ıslak topraklarda canlılığını hızla kaybeder (Mehan ve McDonald, 1997; Goidanich, 1947; Jackson ve Bell, 1969; Shokes ve ark., 1977; Singh ve ark., 1990).

Rhizoctonia solani tohum çürüklüğü, çökerten, kök çürüklüğü meyve (kapsül) çürüklüğüne sebep olabilir. Hastalık ayrıca kök boğazına yakın noktalarda gövde üzerinde hedef tahtası şeklinde belirtilere neden olur. *R. solani* geniş bir konukçu dizisine sahip her yerde bulunabilen bir fungustur. Bu durum *R. solani*'nin diğer tohum çürümesi yapan patojenlerden ayırt edilmesini zorlayabilir ve mücadelesini zorlaştırabilir. *R. solani* geniş konukçu dizisinde saprofit olarak hayatta kalır (Brenneman, 1997). *R. solani*'nin hifleri pigmentli ve bölmelidir ve 90 derece hifsel dallanma gösterir. Fungus ayrıca bitki artıkları üzerinde hayatta kalan farklılaşmış sklerotlar üretir. *R. solani* gelişimin herhangi bir aşamasında bitkileri enfekte edebilir ve ortaya çıkmadan önce tohum çürümelerine neden olabilir. Ortaya çıkan fidelerde, toprak hattının hemen altında koyu renkli, çökük lezyonlar ortaya çıkar ve uygun hastalık koşullarında, fungus bitki ölümüne neden olur (Brenneman, 1997; Damicone ve Melouk, 2009).

Sclerotinia yanıklığı, *Sclerotinia minor* Jagger'den kaynaklanır ve nadiren de olsa *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary neden olabilir (Porter ve Melouk, 1997; Woodward ve Brenneman, 2008). *Sclerotinia* yanıklığından kaynaklanan verim kayıpları genellikle %10'dur, ancak ağır vakalarda sıklıkla %50'yi geçebilmektedir (Porter ve Melouk, 1997; Butzler ve ark., 1998). *Sclerotinia minor* ve *Sclerotinia sclerotiorum* beyaz havai miseller ve siyah, düzensiz şekilli sklerotlar üreten ascomyceteslerdir. *S. minor*'un sklerotları genellikle küçük ve bol miktarda üretilirken, *S. sclerotiorum* sklerotları büyük ve daha az üretilir (Porter ve Melouk, 1997). Hastalık belirtileri arasında, hastalığın görüldüğü tarlalarda kurumalar öbek öbek görülmek suretiyle karakterize edilir. *S. minor* uygun çevre koşulları altında kışı sklerotlar halinde geçirmektedir ve misel olarak çimlenmektedir. *S. minor* ile enfekte olmuş toprakla temas eden bitki dokusu enfekte olur. Enfekte bitkiler hızla solgunlaşır ve toprak hattının yakınında klorotik, suyla ıslanmış

lezyonlar gösterir. Hastalık ilerledikçe, etkilenen dokunun yüzeyinde beyaz kabarık miseller gelişir. Fungus sonunda dallarının klorotik hale gelmesine ve ardından koyu kahverengiye dönüşmesine neden olur. Dallar, *S. minor* tarafından üretilen oksalik asit nedeniyle parçalanmış bir görünüme sahip olmaya başlar. Enfekteli dokular bozuldukça sklerotlar üretilir ve toprağa dökülür, miselyojenik ya da karpogenik (apotehecium) olarak çimlenmek için optimum koşullar olana kadar kışı geçirmektedir.

Toprak kökenli fungal hastalıklarla mücadelede temiz tohumluk kullanmak, ekim nöbeti uygulamak, hastalıklı bitki artıklarını yok etmek, yabancı ot mücadelesi yapmak genel olarak kültürel önlemler arasındadır. Kimyasal mücadelede ise genellikle pestisit uygulamalarına gidilmektedir. Yer fıstığında toprak kökenli hastalıklara karşı 25 g/l Fludioxonil+ 10 g/l Metalaxyl-m, 75 g/l Azoxystrobin+ 37.5 Metalaxyl-m+ 12.5 g/l Fludioxonil gibi etken maddeli fungisitler tohum ilaçlaması şeklinde bakanlıkça tavsiye edilmesine rağmen, kullanılan bu fungisitler hastalıklarla mücadelede tam olarak kontrol sağlayamamaktadır. Bununla beraber kullanılan pestisitlerin sık ve yüksek dozlarda gelişigüzel uygulanması, ekolojik kirliliğe sebebiyet vererek doğal dengeyi tehdit etmesi, patojenlerde kullanılan pestisitlere karşı dayanıklılığın oluşması, toprak kökenli fungal patojenlerin dayanıklı sporlar üreterek uzun yıllar toprakta kalmaları, hastalıklarla mücadelede yeni alternatif yöntemlerin araştırılması gerekliliğini ortaya koymuştur. Hastalıklarla alternatif mücadele yollarından biri de hastalık etmenlere karşı yararlı mikrobiyomların (fungal, bakteriyel, viral mikroorganizmalara verilen genel ad) kullanıldığı “**Biyolojik Mücadele**”dir.

Biyolojik mücadele bitki patojenlerinin engellenmesi ve kontrolünde kimyasal pestisitlere alternatif, çevre dostu ve güvenli bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Chaur, 1998). Çevre kirliliği ve kalıntı toksisitesi nedeniyle hayvanlar ve insanlar için sağlık tehlikeleri gibi bitki hastalıklarının kimyasal yönetimiyle ilişkili sorunlar ve sıkıntılar hakkında artan anlayış nedeniyle, biyolojik mücadele son 40 yılda kimyasal mücadeleye alternatif olarak büyük ilgi görmüştür (Cook ve Baker, 1983). Farklı mikrobiyomlar kullanılarak toprak kökenli hastalıkların biyolojik kontrolü, mevcut kimyasal yönetim yaklaşımlarına göre daha doğal ve çevresel açıdan daha tatmin edici bir alternatif olarak değerlendirilmektedir (Baker ve Paulitz, 1996). Buradan yola çıkarak “Biyolojik Mücadele”, doğada bitki etrafında ve/veya üzerinde doğal olarak yaşayan, bitkilerde hastalık oluşturmeyan mikrobiyomların değişik formülasyon ve uygulama şekillerinde

kullanıldığı, hastalıklar tarafından bitkilerde neden olunan zararı en düşük düzeye indirme stratejisi olarak tarif edilir.

Biyolojik mücadelede kullanılan yararlı bakteriyel mikrobiyomlar bitki dokuları içinde “endofit”, bitki yüzeyinde bulundukları yere göre ise “epifit” olmak üzere iki şekilde isimlendirilirler. Endofit bakteriler yüzeyi dezenfekte edilmiş bitki dokularının iç kısımlarından izole edilen, bitkide herhangi gözle görülür şekilde zarar vermeyen mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Hallmann ve ark., 1997). Bazı endofitler tohum kaynaklı olabildiği gibi bazıları bitkilerin kök, kök boğazı (taç), gövde ve yaprak gibi bitki dokularını kolonize edecek mekanizmalara sahiptir (Sülü ve ark., 2016). Endofit bakteri izolatları mükemmel biyokontrol etmeni olmalarının yanı sıra, bitki büyümesini teşvik eden biyo-gübreler olarak da kabul edilir. Özellikle tohumdan elde edilen endofitik bakteriler, konukçu bitkiye fayda sağlar ve bitki büyümesinde ve savunmasında rol oynayabilmektedir (Li ve ark., 2019). Son yıllarda endofit biyokontrol etmenlerinin biyolojik mücadele kapsamında hastalıklarla mücadele olanaklarının araştırıldığı çalışmalar hız kazanmıştır. Endofit bakteriler, hastalık etmenlerine karşı bazı mekanizmaları kullanmak suretiyle bitki savunmasını ve gelişimini etkileyerek bitki için faydalı pozisyonda bulunabilirler (Hallmann ve ark., 1997; Schulz ve Boyle, 2006).

Epifit bakteriler de endofitler gibi biyolojik mücadelede kullanılan bir diğer mikrobiyomlardır. Uygulama yapıldığı bitkide zarar oluşturmayan, bitki yüzeyinden, kök, kökboğazı ve etrafındaki topraklardan elde edilen bakterilerdir. Endofit biyokontrol etmenlerinde olduğu gibi epifit karakterli bakteriler üzerine yoğun çalışmalar bulunmaktadır. Epifit bakteriler, bitkilerde uyarılmış sistemik dayanıklılığın en büyük sağlayıcıları olarak görev yapmaktadır (Halfeld-Vieira ve ark., 2006). Lindow ve Brandl (2003) ile Halfeld-Vieira ve ark. (2008), epifit bakterilerin biyokontrol etmeni ve bitki büyüme düzenleyici potansiyellerinin rizobakteriler ve endofit bakterilere kıyasla tam olarak anlaşılamadığını belirtmişlerdir.

Bitkilerle ilişkili faydalı bakteriler bitki sağlığı ve büyümesini desteklemede ve/veya arttırmada önemli bir rol oynamaktadır. Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB) tarımsal üretimde birçok alanda uygulanabilmektedir (Welbaum ve ark., 2004; Raaijmakers ve ark., 2008; Compant ve ark., 2009). Gerek bitki üst aksamlarından (filosfer) izole edilen PGPB, gerekse toprak altı organlardan veya kökleri çevreleyen topraklardan elde edilen kök bakterileri (PGPR)

bitki büyümesini teşvik edebilir, verimi artırabilir, patojen enfeksiyonunu azaltabilir ve ayrıca patojenite sağlamadan biyotik veya abiyotik bitki stresini azaltabilir (Kloepper ve Schroth, 1978; Bashan ve Holguin, 1998; Welbaum ve ark., 2004; Van Loon ve Bakker, 2005; Lugtenberg ve Kamilova, 2009). Farklı bakteri türlerine ait PGPB izolatları toprak kökenli patojenlerin neden olduğu kök ve iletim demeti hastalıklarını engelleyebilir (Meena ve ark., 2001; Mishra ve ark., 2013).

Bakteriler, izole edildikleri bitki aksamına bakılmaksızın **bitki hastalık çıkışını engellemede** “*Doğrudan*” veya “*Dolaylı*” olarak etkide bulunurlar (Arora ve ark., 2012; Bhardwaj ve ark., 2014; Gupta ve ark., 2015). Biyolojik mücadele etmeni epifit veya endofit bakteriler “**hastalık çıkışını**” “*doğrudan*” engellemede; bakteri hücreleri tarafından üretilen (1) *hidrojen siyanür* (HCN), (2) *amonyak* (NH₃), (3) *uçucu antimikrobiyal etkili bileşikler*, (4) *siderofor*, (5) *hücre duvarını yıkan litik enzimlerin* (glukanaz, kitinaz, proteaz vb) *üretilmesi* ve (6) bitkilerde hastalık etmenlerine karşı *sistemik dayanıklılığın teşvik edilmesi* (ISR) gibi mekanizmaları kullanırlar (Leong, 1986; Fravel, 1988; Weller, 1988; Wei ve ark., 1996; Lugtenberg ve Kamilova, 2009). Aynı bakteriler hastalık gelişimini “*dolaylı*” engellemede; (1) *azot fiksasyonu*, (2) *siderofor üretimi*, (3) *çözünemeyen veya bitkinin alabileceği formlarda olmayan bitki besin maddelerinin* (mineral maddelerin) *mineralizasyonu*, (4) *karbon kaynağı açısından rekabet* ve (5) *bitkisel hormonların teşvik edilmesi* gibi etki mekanizmalarından bir veya birkaçını birlikte kullanırlar.

Tüm organizmalar, proteinler ve nükleik asitler gibi biyo molekülleri sentezlemek için azota (N) ihtiyaç duyarlar. Azot, tarım arazilerine üre ve amonyum nitratın kimyasal gübre olarak uygulanmasıyla sağlanmaktadır. Biyolojik azot fiksasyonu (BNF) yeteneğine sahip mikroorganizmalar N₂’nin amonyağa (NH₃) indirgenmesinden sorumludur (Newton, 2000). *Rhizobium*, azotu sürdürülebilir bir şekilde sabitleyen en iyi azot sabitleyici örneğidir. Bu mikroorganizmaların geleneksel olarak baklagil enfeksiyon sürecinden sorumlu olduğu düşünülürdü, ancak rizobi nodüllerde endofit olarak da davranabilir ve nodülden rizobiyal türün sık izolasyonu sıklıkla bitkinin büyümesini destekleyebilir. Farklı genlerin dizilenmesinden sonra *Vicia* nodüllerinden izole edilen endofitik rizobi, *Ensifer* ve *Shinella* cinslerinin yanı sıra *Rhizobium tropici* türünde sınıflandırılmıştır (Lei ve ark., 2008). Rizobial endofitlerin dışında, *Azoarcus*, *Achromobacter*, *Burkholderia*, *Gluconoacetobacter*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella* ve

Serratia üyelerini içeren bazı umut verici rizobiyal olmayan endofitik biyogübreler de bildirilmiştir (Rothballer ve ark., 2008).

Demir, toprakta en bol ve en yaygın bulunan dördüncü elementtir. Dünyadaki çoğu hücre tipinin büyümesi, metabolizması ve hayatta kalması için gerekli bir elementtir. Biyosentetik yollarda ve klorofil oluşumunda yer alan farklı süreçlerin önemli bir bileşenidir (Lopez Millan ve ark., 2001), ancak nadiren serbest formda bulunmaktadır (Höfte, 1993). Bu nedenle, demir açısından zengin topraklarda bile bitkiler için kullanılamaz durumda kalır (Podile ve Kishore, 2006). Bitkilerin büyümesi için demir mevcudiyeti yetersiz olduğunda, yaprakların rengi soluk yeşilden, sarı veya beyaza ve sonrasında demir eksikliğini gösteren kahverengiye dönüşmektedir (Brittenham, 1994). Demir eksikliği birçok bitki türünde yaygın bir beslenme bozukluğu olup, düşük verim ve demir eksikliği olan temel ürünlerle sonuçlanmaktadır. Çoğu mikroorganizma, demiri çevreden absorbe etmek için etkili yöntemler geliştirmiştir ve birçok mikroorganizma, demiri harekete geçirmek için sideroforlar salgılamaktadır (Podile ve Kishore 2006; Hider ve Kong, 2010). Organizmalar tarafından salgılanan siderofor, düşük molekül ağırlıklı (500-1.000 dalton), yüksek afiniteli, ferrik, iyon şelatlayıcı bir bileşiktir. Yunanca demir taşıyıcı anlamına gelen siderofor, demir elementi stresinde, bazı mikroorganizmalar toprakta bağlı mevcut demiri şelatlayan “siderofor”lar üretmek suretiyle bitki patojenlerinin çoğalmasını ve bitki köklerinde kolonize olmalarını kısıtlamaktadır (Miethke ve Marahiel, 2007; Chaiharn ve ark., 2009; Sayyed ve Chincholkar, 2009). Siderofor üreten kök bakterileri ayrıca sistemik dayanıklılığı teşvik etmek suretiyle (Pieterse ve ark., 2001) bitkide hastalık çıkışını baskılayabilir (Mazzola, 2002). Bu tür mikroorganizmalar bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesinde önemli rol oynarlar (Sayyed ve ark., 2005). Siderofor üreten PGPR’ler, hastalık etmenlerini demir elementinden mahrum bırakarak “biyokontrol etmenleri” olarak işlev görürler (Lemanceau ve Albouvette, 1993). Siderofor üreten rizobakteriler çeşitli bitkilerin köklerinde kolonize olurken farklı kimyasal yapıda antifungal metabolitler salgılar (Hass ve Defago, 2005). Fe (III) salgılanan siderofor molekülü tarafından mobilize edilip yakalandıktan sonra, bitkiler tarafından hücresel alım için erişilebilir hale gelir. Bitki büyümesini destekleyen bakterilerde, bakteri membranındaki Fe^{3+} -siderofor kompleksindeki demir Fe^{2+} ’ye indirgenir ve bu da bir geçit mekanizması yoluyla siderofordan hücre içine salınır (Neilands, 1995). Sideroforun bir metale bağlanması

çözünebilir metal konsantrasyonunu artırır (Rajkumar ve ark., 2010). Yüksek düzeyde ağır metal kirliliğinin azaltılması üzerine bakteriyel sideroforlar salınır ve bitkiler, demirin şelatlanması ve salınması, siderofor-Fe komplekslerinin doğrudan alımı gibi farklı mekanizmalar yoluyla bakteriyel sideroforlardan demiri asimile eder (Schmidt, 1999; Rajkumar ve ark., 2010). Sharma ve ark. (2003), siderofor üreten *Pseudomonas* türü GRP3 izolatının *Vigna radiata* (Maş fasülyesi) üzerinde demir beslenmesindeki rolünü değerlendirmiş, sonuç olarak 45 gün sonra, bitkilerin klorotik semptomlarda azalma gösterdiğini ve GRP3 aşılınmış bitkilerde demir, klorofil a ve klorofil b içeriğinin kontrole kıyasla arttığını bildirmişlerdir.

Fosfor, fotosentez, biyolojik oksidasyon, besin alımı ve hücre bölünmesi gibi önemli metabolik olaylarda yer alan bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için gerekli bir makro besin maddesidir (Illmer ve Schinner, 1992). Dünya çapında topraklar, bitkisel üretimi desteklemek için kimyasal gübre olarak inorganik fosfor (P) ile takviye edilmektedir, ancak tekrarlanan gübre kullanımı toprak kalitesini bozmaktadır (Tewari ve ark., 2004). Bu nedenle, mevcut senaryo daha sürdürülebilir bir tarıma doğru kaymaktadır. Glass, (1989) fosforun bitkiler tarafından başlıca iki formda absorbe edildiğini ortaya koymuştur; bunlar çözünür formlardır: monobazik (H_2PO_4) ve dibazik (HPO_4). Bununla birlikte, büyük miktarda fosfor çözünmeyen formlarda bulunur ve bitki büyümesi için kolaylıkla erişilemez. McLaughlin ve ark. (2011) asit topraklarda (pH <5) alüminyum ve alkali topraklarda (pH > 7) kalsiyum gibi çözünebilir bileşenlerin fosfor ile yüksek reaktivite gösterdiğini ve bunun toprakta düşük P seviyesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Organik (biyokütle veya toprak organik maddesine dahil olan) ve inorganik bileşikler, öncelikle çözünmeyen mineral kompleksleri şeklinde, topraktaki mevcut fosforun ana kaynaklarıdır (Richardson ve Simpson, 2011). Fosfat çözündürücü bakteriler ve funguslar, topraktaki toplam yetiştirilebilir mikroorganizma popülasyonunun sırasıyla yaklaşık %1-50'sini ve %0.1-0.5'ini oluşturmaktadır (Chabot ve ark., 1993; Khan and Doty, 2009). PGPB izolatları, topraklarda siderofor, organik asit ve hidroksil üretimi yoluyla $FePO_4$, $Ca_3(PO_4)_2$ ve $ALPO_4$ gibi inorganik toprak fosfatlarını bitkinin alabileceği forma dönüştürebilirler. Endofitik bakterilerin fosfatları çözündürme kapasitesine sahip olduğu, soya fasulyesinden elde edilen endofitik bakterilerin fosfat asimilasyonunda önemli rol oynadıkları bildirilmiştir (Kuklinsky-Sobral ve ark., 2004). Fosforu çözücü bakterilerin uygulanması, organik asitler, şelasyon

ve iyon değişimini serbest bırakarak çözünmeyen P'yi çözünür P'ye dönüştürme yeteneklerinden dolayı toprak verimliliğini arttırmaktadır (Whitelaw, 2000).

Bitki gelişimini teşvikte rol oynayan bitkisel hormonlardan biri olan indol asetik asit (IAA), bitki hücrelerinin bölünmesini etkiler; yumru ve tohum çimlenmesini uyarır; kök ve ksilem gelişim hızını artırır; vejetatif büyüme ve kök oluşumu süreçlerini kontrol eder; pigment oluşumu, çeşitli metabolitlerin biyosentezi, abiyotik streslere verilen tepkilere aracılık eder; fotosentezi ve stresli koşullara karşı bitkinin direncini etkiler. Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler tarafından üretilen IAA muhtemelen; bitki oksin havuzunu değiştirerek bitkilerin yukarıdaki fizyolojik süreçlerini geciktirir. Ek olarak bakteriyel IAA, kök yüzey alanını ve uzunluğunu artırır ve böylece bitkinin toprak besinlerine daha fazla erişmesini sağlar. Benzer şekilde, bakterilerde IAA üretimi hücre duvarlarını gevşetir, aynı zamanda rizosferdeki diğer yardımcı bakterilerin büyümesini desteklemek için ekstra besinler sağlar. Böylece, bakteriyel IAA hem patogeneze hem de fitostimülasyonda bitki-mikroorganizma etkileşimlerinde bir efektör molekül olarak görev yapar (Spaepen ve Vanderleyden, 2011).

Pseudomonas, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Rhizobium* ve *Serratia* cinslerine ait iyi bilinen PGPR izolatları hastalık etmenlerinin gelişimini engellemede fenazin-1-karboksilik asit, 2,4 diasetilfloroglukinol (DAPG), oomisin, pyoluteorin, pirrolnitrin, kanosamin, zwittermicin A ve pantocin gibi antimikrobiyal bileşikler üretirler (Fernando ve ark., 2005). Bu bileşikler, spor çimlenmesini engelleyerek, fungus misellerini eriterek farklı patojenlerin baskılanmasında fungisidal etkinlik gösterir (Fravel, 1988). Cronin ve ark. (1997), *Pseudomonas* türleri tarafından üretilen DAPG'nin fitopatojenleri baskılamaktan sorumlu bileşik olduğunu bildirmişlerdir. *Bacillus subtilis*'in çeşitli izolatlarının *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *M. phaseolina*'ya karşı güçlü antimikrobiyal etki gösteren iturin (Yu ve ark., 2002; Chitarra ve ark., 2003), bacillomycin D (Besson ve Michel, 1992), plipastatins, surfactin ve aminopolyol gibi farklı antifungal bileşikler ürettiklerini belirlemişlerdir (Constantinescu, 2001). *Pseudomonas* spp.'ye ait birçok biyolojik mücadele etmeni izolatın genetik analizleri sonucunda, hastalık gelişimini engelleme ile antibiyotik üretimi arasında pozitif bir korelasyonun bulunduğu belirlenmiştir (Vincent ve ark., 1991).

Bazı PGPR izolatlar fitopatojenik fungusların hücre duvarını parçalayabilen enzimler üretirler. Fitopatojenik fungusların çoğunun (oomisetler hariç) hücre duvarları, kitinden oluşmaktadır. Kitinazlar (EC 3.2.1.14) kitindeki glikozidik bağları parçalayan hidrolitik enzimlerdir (Kim ve ark., 2003). Bu nedenle kitinazlar, fungal patojenlerin hücre duvarlarındaki kitin polimerini parçalayarak birçok bitki hastalığının biyolojik kontrolünde hayati bir rol oynamaktadır. Kitinolitik enzimlerin deniz sularından ve bitkilerinden (Park ve ark., 2000), alkali toprak (Loni ve ark., 2011) ve köklerden (Kim ve ark., 2003; Kishore ve Pande, 2007; Idris ve ark., 2007; Kamil ve ark., 2007) izole edilen birçok bakteri tarafından üretildiği rapor edilmiştir. Bu mikroorganizmaların ve ürettikleri bileşiklerin birçok fitopatojenik funguslara karşı antagonistik ve antifungal etkilerde rol oynadığı bildirilmiştir (Singh ve ark., 1999; Frankowski ve ark., 2001; Gohel ve ark., 2006; Kim ve ark., 2008; Ramos-Solano ve ark., 2010). Velusamy ve Kim (2011), *Enterobacter* türlerinin fungus hiflerine karşı kitinolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bazı biyokontrol etmenlerinin, birçok patojenik fungusun hücre duvarının bir kısmını parçalayabilen kitinazlar, selülazlar, β -1,3 glukanazlar, proteazlar ve lipazlar gibi enzimler ürettiği bildirilmiştir (Glick, 2012).

Bazı PGPR'ler patojenlere karşı metabolitler üretmez, ancak gözlenen hastalığın korunmasını sağlayan konukçu savunma mekanizmasının değişmesi nedeniyle bitkiyi hastalıktan koruyabilmektedir. Bu mekanizma sistemik teşvik edilmiş dayanıklılık (ISR) veya sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) olarak adlandırılmaktadır. ISR/SAR, konukçu bitkinin kimyasal ve fiziksel savunma mekanizmasının, kimyasal veya mikroorganizma olabilen bir indükleyici tarafından etkinleştirilmesi ve çeşitli patojenlerin kontrolüne yol açması olarak tanımlanmaktadır (Kloepper ve ark., 1992).

Mikrobiyal kökenli tarımsal ürünlerin kullanımı, 20. yüzyılın başlarında baklagillerin geniş ölçekli rizobiyal aşılama ile başlayan bir geçmişe sahiptir (Desbrosses ve Stougaard, 2011). Daha yakın zamanlarda *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Glomus* ve diğerlerinin türleri ticarileştirilmiştir. Bakteriyel taksonların bitkisel üretimde kullanımı daha önce *Bacillus* (Borriss, 2011), *Pseudomonas* (Santoyo ve ark., 2012; Sivasakthi ve ark., 2014), *Actinobacteria* (Shivlata ve Satyanarayana, 2017) ve *Lactobacillus* (Lamont ve ark., 2017) için incelenmiştir. Buna ek olarak, *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Paenibacillus*, *Serratia*, *Burkholderia*, *Herbaspirillum* ve *Rhodococcus*'un da bitkisel üretimi artırdığı gözlemlenmiştir (Babalola, 2010).

Endofitik bakteriler rizosferde yaşayan epifit kökenli bakterilere göre bitki hücrelerinin içinde evrimleşmiş olması nedeni ile bitkilere daha faydalı etkilerde bulunma potansiyeline sahiptirler. Endofitler, büyümeleri için bitkiler tarafından kolayca özümsenebilecek besin maddelerinin kullanılabilirliğini artıran mikrobiyal süreçleri hızlandırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmalar, atmosferik nitrojeni sabitleyerek, toprakta bitki büyümesini teşvik eden maddeler üreterek ve çözünmeyen potasyum ve fosfatları çözerek toprağın verimliliğini arttırmaktadır. Bunlar, toprak verimliliğini ve bitki verimini büyük ölçüde artıran, doğal olarak mevcut biyolojik besin mobilizasyonu sisteminden yararlanmaya teşvik edilmiştir (Singh ve Pandey, 2012). Endofitik bakterilerin kullanımı, soğuk, kuraklık veya kirlenmiş toprak stres koşulları altında gelişmiş ürün performansı veya gelişmiş hastalık direnci sağlayan tarımsal uygulamaların geliştirilmesi için özel bir ilgi sunmaktadır (Sansanwal ve ark., 2017).

Toprak kökenli fungal hastalıklarla mücadelede kullanılan fungusitler, insanlara, doğaya ve faydalı organizmalara olumsuz etkide bulunmakta, kimyasalların yüksek dozda ve bilinçsizce kullanımı sonucunda hastalık etmenlerinin dirençli türleri ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak, hastalıklarla mücadelede yenilikçi, çevre dostu, etkili mücadele yöntemlerinin araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

Sclereotium rolfsii, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*, *Pythium* spp., *Aspergillus niger* ve *Verticillium dahliae* dünya genelinde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinde en fazla sorun olarak bildirilmiş toprak kökenli fungal hastalık etmenleridir (Thiessen ve Woodward, 2012). Ülkemizde üretimi yapılan yağlı tohumlu bitkilere olan ilgi son yıllarda hızla artmış olup, buna bağlı yetiştiriciliği yapılan tarlalarda zararlılarla mücadele ve kültürel işlemlerde (gübreleme, sulama, ilaçlama, budama gibi) üretici hataları sıkça görülmeye neden olmuştur. Ülkemizde olduğu kadar, bölgede yetiştiriciliği yapılan yer fıstığı alanlarında önemli verim kayıplarına neden olan toprak kökenli fungal hastalıklar ve etmenleriyle ilgili sınırlı sayıda çalışmalar bulunmaktadır. Gözüyeşil (2014), Osmaniye’de 100 çiftçi ile yaptıkları anket çalışmasında: fungal hastalıklardan meydana gelen zararlanmaların %56 kök boğazı çürüklüğü (*Aspergillus niger*), %41 sap çürüklüğü (*Sclereotium rolfsii*) ve %3 yaprak leke hastalığı (*Cercospora arachidicola* ve *Cercosporidium personatum*) kaynaklı olduğunu bildirmiştir. Oldukça kısıtlı sayıda ve alanda yapılan bir diğer sörvey çalışmasında kök boğazı çürüklüğü (*A. niger*), gövde

çürüklüğü (*S. rolfsii*) ve yaprak leke hastalığı (*C. personatum*) sörvey alanlarında saptanmış olup, enfekteli bitkilerin tamamında *S. rolfsii* (%17.0-30.0), *A. niger* (%18.0-29.0), *R. solani* (%7.8.0-28.0), *F. solani* (%7.0-20.0) olduğunu bildirmişlerdir (Lavkor ve Biçici, 2015). Ülkemizde yer fıstığı bitkilerinde sorun hastalıkların sörveylerine yönelik sınırlı sayıda araştırmalar yapılmış olup, yer fıstığında belirlenen bu etmen(ler)le antagonist aktinomiset ve *Pseudomonas* spp. ait izolatlarının kullanıldığı biyolojik mücadelesine yönelik oldukça kısıtlı sayıda (Doğan, 1995; Şengül, 1995) çalışma bulunmaktadır.

Bu çalışmada; (i) ülkemizin önemli yer fıstığı yetiştiriciliğinin yapıldığı Osmaniye ili ve ilçelerindeki yer fıstığı ekim alanlarında sorun olan toprak kökenli fungal hastalık etmenlerin sörveyi, hastalık etmenlerinin morfolojik, MALDI TOF-MS, moleküler yöntemlerle tanılanması ve hastalıkların bölgedeki yaygınlığının belirlenmesi, (ii) sağlıklı yer fıstığı bitkilerinin kök, gövde ve tohum gibi farklı bitki kısımlarından potansiyel biyolojik mücadele etmeni antagonist/bitki gelişimini teşvik eden (PGPB) bakteriyel türlerin izolasyonu ve tanılması, (iii) bölgede yaygın olarak belirlenen fungal hastalık etmenlerine karşı *in vitro* ve *in vivo* biyolojik mücadele etkinlikleri ve (iv) hastalığı engellemede ve bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası etki mekanizmalarının karakterizasyonlarının yapılması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Dünya’da ve Ülkemizde Yer fıstığı Üretim Alanlarında Sorun Olan Toprak Kökenli Fungal Hastalıklar

Porter ve ark. (1982), *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia minor*’ın ABD’nin Virginia-Carolina eyaletlerinde üretilen yer fıstıklarında en önemli toprak kökenli fungal etmenler olduğunu, bu etmenlerin öncelikle kök ve kök patojenleri olmalarına rağmen meyvede (kapsül) de zararlar oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Baird ve ark. (1993), artık yer fıstığı (*Arachis hypogaea*) kabuklarında hayatta kalan *Rhizoctonia solani* AG-4 izolatını 2 yıl boyunca incelemişlerdir. İzolatın 6 ay sonra toprak yüzeyine yerleştirilen işlenmiş baklaların kabuklarından geri kazanımı, toprağa gömülenlere oranla daha fazla olduğunu, 6. ve 12. ayda kabuklardan elde edilen isolatların farklı olmadığını, 18 ve 24 ay sonra ise toplam kabukların %1’inden daha azından izole edildiğini bildirmişlerdir. İşlem görmemiş kabuklarda *Fusarium*, *Gliocladium*, *Pythium*, *Trichoderma* ve iki çekirdekli *Rhizoctonia* (CAG-3 ve CAG-5) en sık gözlenen fungus türleri olarak belirlenmiştir. Yer fıstığı kabuklarının 20-25 cm derinliğe gömülmesi, bir sonraki ürünün kök bölgesinden gelen inokulumunu etkili bir şekilde azaltabileceğini saptamışlardır.

Baird ve ark. (1995), yapmış oldukları çalışmada, farklı ürün rotasyonlarının yer fıstığı kabuğu mikobiyotası üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Münavebe uygulamalarının yer fıstığı kabuklarında çeşitli patojenik fungusların (ör. *Fusarium* spp. ve *Lasiodiplodia theobromae*) görülme sıklığını etkilediğini, ancak sonuçların denemeler veya yıllar arasında tutarlı olmadığını gözlemlemişlerdir. Yer fıstığı ile dönüşümlü olarak yetiştirilen bahia otu veya mısır, kabuklardaki *Rhizoctonia solani* AG-4 yoğunluğunu azalttığını, *Rhizoctonia solani* AG-2-2 ve *Macrophomina phaseolina*, bahia otu-fıstık rotasyonunda ise daha yüksek düzeyde izole edildiğini bildirmişlerdir.

Melouk ve Backman (1995), *S. minor*’un neden olduğu *Sclerotinia* yanıklığının A.B.D’nin Oklahoma, Teksas, Doğu Virginia ve Kuzey Carolina eyaletlerinde önemli bir yer fıstığı hastalığı olduğunu bildirmişlerdir.

Beute (1997), *Pythium* türlerinin neden olduğu çökerten, solgunluk ve yer fıstığı meyve (kapsül) çürüklüğünden kaynaklanan verim kayıplarının toprak üstü belirtilerinin

eksikliğinden dolayı doğru bir şekilde belirlenmesinin zor olduğunu ve %80'e varabilen kayıpların olduğunu bildirmiştir.

Brenneman (1997), *Rhizoctonia solani*'nin, rotasyon ürünleri ve çeşitli yabancı ot türleri de dahil olmak üzere geniş konukçu aralığında saprofitik olarak hayatta kalabileceğini bildirmiştir.

Hollowell ve ark. (1998) Kuzey Carolina'da bakla çürüklüğü semptomlarıyla ilişkili fungusları belirlemek amacıyla 1994, 1995 ve 1996 yıllarının sonbaharında seçmiş oldukları çiftlikleri incelemişlerdir. Çalışmanın üç yılı boyunca, 125 yer fıstığı tarlasından 6.000'den fazla yer fıstığı kapsülleri *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Cylindrocladium parasiticum*, *Sclerotium rolfsii* ve *Sclerotinia minor* hastalık etmenlerinin varlığı yönünden taranmıştır. Saha araştırması sırasında beş patojenin tamamını, sıklıkla da *Pythium* spp. ve *Rhizoctonia* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. 1994 yılında tarlaların çoğunda baskın patojenin *Rhizoctonia* spp.'nin olduğu, 1995 ve 1996 yıllarında ise *Pythium* spp.'nin baskın olduğunu saptamışlardır. Baklaların %12 ila 15'inde patojen kombinasyonları tespit etmişlerdir; *Rhizoctonia* spp. + *Pythium* spp. ve *Pythium* spp. + *C. parasiticum* kombinasyonun en sık gözlemlendiğini, tahmini bakla çürüklüğü oranının da 1995'te %6.6 ve 1996'da %5.9 olduğunu belirlemişlerdir.

March ve Marinelli (1998), *Fusarium solani*'nin yer fıstığında, kök, sap, taç çürüklüğü ve meyve bozulmalarına sebep olduğunu belirlemişlerdir. Arjantin'de *F. solani* tarafından neden olunan hastalığın kök çürüklüğü olarak bilindiğini, bitkilerde ekonomik kayıplara neden olan en önemli hastalık olduğunu ve uzun kuraklık ve stres koşulları altında bazı tarlalarda hastalık oranının %95'lere kadar ulaşabileceğini bildirmişlerdir.

Phippis ve Porter (1998), 1993 yılının Ağustos ve Eylül aylarında, ABD'nin Virginia ve Kuzey Carolina'daki birkaç yer fıstığı tarlasındaki bitkilerde yaka çürüklüğü hastalığına rastlamış, çoğu bitkinin klorotik, solgun veya ölü olduğunu gözlemlemişlerdir. Belirti gösteren bitkilerde kararmış gövde çürüklükleri ve baklaların olduğunu, hastalıklı gövdelerin ve kazık köklerin kolayca parçalanarak kayrak grisi ile siyah iç dokuları oluşturduğunu belirlemişlerdir. Toprak yüzeyindeki gövde lezyonlarında siyah piknidiler gözlemlenmiş, olgunlaşmamış konidilerin tek hücreli ve hyalin yapıda, olgun konidilerin ise iki hücreli ve koyu kahverengi olduğunu bildirmişlerdir. Fungusun hastalıklı bitkiler ve patates dekstroza agar üzerindeki

morfolojik özellikleri *Lasiodiplodia theobromae* (*Diplodia gossypina*) tanımlarıyla uyumlu olduğunu saptamışlardır.

Osuinde ve Daibo (1999), yaptıkları 2 yıllık bir araştırmada, ürünlerin %21.5'nin solgunluk hastalığından etkilendiğini bildirmişlerdir. Solmuş yer fıstığı bitkilerinin köklerinden yapılan izolasyonlarda *Penicillium oxalicum* Currie ve Them (%15.2), *P. citrinum* Thom (%12.3), *Fusarium oxysporum* Schlecht. I (%35.6), *F. oxysporum* II (%55.3), *F. oxysporum* III (%26.8), *F. solani* (Mart.) Sacc. I (%6.3), *F. solani* II (%10.5), *Aspergillus niger* Van Tieghem (%5.5), *Trichoderma koningii* Rifai (%15.0) ve *Botryodiplodia theobromae* Pat. (%5.0) gibi fungal türlerin yanı sıra *Ralstonia* (*Pseudomonas*) *solanacearum* (Smith) Smith (%5.0), *Rhizobium* sp. (%20.0) ve *Bacillus* sp.'ye (%15.3) ait bakteriyel izolatları elde ederek tanıladıklarını, yapmış oldukları patojenite testleri sonucunda, bölgedeki yer fıstığı fidelerinde solgunluk belirtilerine *Fusarium oxysporum*'un neden olduğunu bildirmişlerdir.

Busso ve ark. (2004), toprak kökenli patojenlerin neden olduğu hastalıkların Arjantin'de yer fıstığı üretimini sınırlayan en önemli biyotik faktörlerin başında geldiğini, sonuçta toprak kökenli fungal hastalıkların ülke genelinde yer fıstığı ekim alanlarının azalmasına sebebiyet verdiğini bildirmişlerdir.

Wheeler ve ark. (2005), ABD'nin Batı Teksas eyaletindeki yer fıstığı ekim alanlarının yaklaşık %40'nın *Pythium* türleri ile bulaşık olduğunu tespit etmişlerdir. Türlerin öncelikli olarak *P. myriotylum*, *P. irregulare* ve *P. ultimum* olduğunu ve bu etmenlerin meyveye, tohumlara zarar vermek suretiyle önemli verim kayıplarına neden olabileceğini belirlemişlerdir.

Oddino ve ark. (2008), *Fusarium solani*'nin neden olduğu kahverengi kök çürüklüğünün Arjantin'de yer fıstığının en önemli hastalıklarından biri olduğunu, ürün rotasyonu ve toprak işleme uygulamalarının *Fusarium* türlerinin neden olduğu hastalıklar üzerindeki etkisini diğer ürünlerde yaygın olarak rapor edildiğini bildirmişlerdir.

Damicone ve Melouk (2009), *R. solani* ve *S. rolfsii*'nin neden olduğu çökerten, kök ve kapsül çürüklüğü hastalıklarının Mısır'da ve dünya genelinde yer fıstığında yıkıcı nitelikte verim kayıplarına neden olan başlıca toprak kökenli hastalıklar olduğunu bildirmişlerdir.

Ahmed ve Zaman (2012), Chakwal bölgesinde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinin *Fusarium solani* (Mart) Sacc'nin neden olduğu kök çürüklüğü hastalığı nedeniyle tehdit altında olduğunu bildirmişlerdir.

Le ve ark. (2012), Vietnam genelinde sekiz farklı yer fıstığı bölgesinde toplam 240 farklı tarlada fungal hastalık yaygınlığını ve çıkışını izlemişlerdir. Tarlada yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinin %5 ila 25'inin *S. rolfsii* ile enfekteli olduğunu gözlemlemişlerdir.

Thiessen ve Woodward (2012), yer fıstığının çok sayıda toprak kökenli patojenlerin neden olduğu hastalıklara karşı hassas olduğunu, A.B.D'nin Güneybatı kısımlarında *Botrytis cinerea* Pers: Fr., *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn AG-4, *Sclerotinia minor* Jagger ve *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Sclerotium rolfsii* Sacc. ve *Verticillium dahliae* Kleb. gibi toprak kökenli patojenlerin rutin olarak yer fıstığı verimini etkilediğini, bu patojenlerin tarlada benzer semptomlara neden olması sebebiyle uygun yönetim stratejilerinin uygulanabilmesi için hastalık etmenlerinin izolasyonu ve doğru teşhisin gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Xie ve ark. (2014), konukçu dizisine bağlı olarak *S. rolfsii* Florida'da domates, patates, biber, kavun, kereviz, havuç, lahana, fasulye, patlıcan ve yer fıstığı gibi ekonomik öneme sahip 100 bitki familyasında, 500 bitki türünde hastalığa neden olabilen en yıkıcı patojenlerden biri olduğunu bildirmişlerdir.

Xue ve ark. (2018), *Rhizoctonia solani*'nin, esas olarak hücre duvarı parçalayıcı enzimlerin enfekteli dokuda yumuşama ve çürüme belirtilerini içeren "kabuk yanıklığı" hastalığına neden olduğunu bildirmişlerdir. *R. solani*'nin sıvı kültüründen elde edilen ham enzimlerin, sağlıklı yer fıstığı yapraklarında çürümeye neden olduğunu saptamışlardır.

Gebru ve ark. (2019), *Fusarium proliferatum*'un altı, *Fusarium oxysporum*'un dört ve *Fusarium incarnatum*-*Fusarium equiseti* tür kompleksinin ise iki izolatını A.B.D'nin Washington, DC eyaletinde yetişen küflü yer fıstığı bitkilerinin kök ve kök boğazı kısımlarından izole ederek tanılamışlardır.

Thirumalaisamy ve ark. (2019), Hindistan'ın Rajasthan eyaletinin batı vilayetlerindeki yer fıstığı bitkilerinde fungal kökenli hastalık belirtilerinin olduğunu, hastalık yaygınlığını ise %52 oranında saptamışlardır. Morfolojik ve moleküler karakterizasyona dayalı olarak, yer fıstığı yaprak yanıklığı ve solgunluğu ile ilişkili olan *Fusarium incarnatum* etmenini tanımlamışlardır. *F. incarnatum*'un yer fıstığında patojen olduğunu ilk kez bildirmişlerdir.

Martinez-Salgado ve ark. (2021), Meksika'da bulunan 1.5 hektarı etkileyen Champs fıstık çeşidinin yaklaşık %50'sinde kömür çürüklüğünün (*Macrophomina phaseolina* [Tassi] Goid.) tipik belirtilerini gözlemlemişler, hastalıklı bitkilerin gövdelerinde kahverengi renk değişikliği ve kök çürüklüğü ile klorotik yapraklar, gövdede koyu mikrosklerotlar ile bitkilerde erken ölüm olduğunu saptamışlardır. Tarladaki semptomlara, koloni morfolojisine, mikrosklerotların rengi ve şekline ve moleküler tanımlamaya dayanarak, fungusun *M. phaseolina* olduğunu belirlemişlerdir. Bugüne kadar, bu fungusun dünya çapında en az 372 konukçuyu etkileyerek verim kayıplarına neden olduğunu, Meksika'da soya, tatlı patates, fasulye, tomatillo, şeker kamışı, susam, patlıcan, patates, sorgumda belgelenmiş (Farr ve Rossman 2021), bununla birlikte, yer fıstığı üzerinde potansiyel bir patojen olarak *M. phaseolina*'ya ilişkin herhangi bir rapor bulunmadığını; bu nedenle, bu fungusun Meksika'da yer fıstığını etkilediğine dair ilk rapor olduğunu bildirmişlerdir.

Praveen ve Kannan (2021), yer fıstığını enfekte eden farklı *S. rolfii* izolatlarının morfolojisi ve patojenitesini incelemek için 2019-2020 yıllarında Hindistan Tamil Nadu'da bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Genel hastalık şiddetinin %9.82 ile 36.83 arasında değiştiğini, en yüksek hastalık görülme sıklığının %36.83 ile Kalpadai köyünde gözlemlendiği, en düşük hastalık görülme sıklığının ise %9.82 ile Pattukottai köyünde olduğunu belirlemişlerdir. İzolatlar arasında misel ve sklerot üretme kabiliyetleri açısından ciddi farklılıklar gözlemlenmiş, yirmi izolatın tamamına patojenite testi uygulanmış ve *S. rolfii* Sr6 izolatının en yüksek oranda hastalık şiddetine neden olan virulent izolat olduğunu bildirmişlerdir.

Kortei ve ark. (2022), Gana'da depolanmış yer fıstıklarında sorun olan fungal mikrobiyota türlerinin belirlenmesine yönelik çalışmada 10 cinse (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Sporendonema* ve *Paecilomyces*) ait 18 farklı fungus türü tespit etmişler, tespit edilen türler arasında en yaygın türün *Aspergillus* spp. (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, ve *A. terreus*) olduğu, bu türleri sırasıyla *Fusarium* spp. (*F. oxysporum*, *F. solani* ve *F. verticillioides*), *Trichoderma* spp. (*T. harzianum* ve *T. viride*), *Rhizopus* spp. (*R. oligosporus* ve *R. stolonifer*) ve *Penicillium verrucosum* türlerin takip ettiğini belirlemişlerdir. *A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *F. verticillioides* ve *Penicillium*

verrucosum türlerinin insan sağlığını olumsuz yönden etkileyen önemli mikotoksin üreten izolatlar olduğunu bildirmişlerdir.

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan yer fıstığı alanlarında önemli verim kayıplarına neden olan toprak kökenli fungal hastalıklar ve etmenleriyle ilgili oldukça sınırlı sayıda çalışmalar bulunmaktadır. Yapılmış üç farklı çalışmada;

Lavkor (2013), yapmış olduğu doktora çalışmasını 2010-2011 yıllarında Osmaniye’de 7 farklı çiftçi tarlasında sörvey ve tarla denemeleri şeklinde yürütmüştür. Deneme ve sörvey yapılan yer fıstığı alanlarının tamamında kök boğazı çürüklüğü (*Aspergillus niger*), gövde çürüklüğü (*Sclerotium rolfsii*) ve yaprak leke hastalığının (*Cercosporidium personatum*) yaygın olduğunu tespit etmiştir. Yapılan detaylı izolasyon çalışmaları sonucunda infekteli bitkilerin tamamında *Sclerotium rolfsii* (%17.0-30.0), *Aspergillus* spp. (%18.0-29.0), *Rhizoctonia solani* (%7.8.0-28.0), *Fusarium* spp. (%7.0-20.0) ait fungal hastalık etmenleri izole edilmiştir. Hasat, hasat sonrası, kurutma, depo öncesi ve depo döneminde alınan yer fıstığı tanelerinde *Aspergillus* spp. (%11.7-39.0), *Fusarium* spp. (%13.0-35.0), *Rhizoctonia solani* (%2.0-18.0), *Macrophomina phaseolina* (%1.0-24.0), *Penicillium* sp. (%3.0-9.0) ve *Rhizopus stolonifer* (%1.0-57.0) izole edilmiştir. Morfolojik tanılamaları zor olan *Aspergillus* ve *Fusarium* türlerinin detaylı morfolojik ve patojenite testlerle destekli tanımlama çalışmaları sonucunda *A. niger*, *A. flavus*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. sambicinum* ve *F. semitectum* türleri belirlenmiştir.

Gözüyeşil (2014), Osmaniye’de 100 çiftçi ile yapmış olduğu anket çalışmasında fungal hastalıklardan meydana gelen zararlanmalarda, %56 kök boğazı çürüklüğü (*Aspergillus niger*), %41 sap çürüklüğü (*Sclerotium rolfsii*) ve %3 yaprak leke hastalığından (*Cercospora arachidicola* ve *Cercosporidium personatum*) kaynaklı olduğunu bildirmiştir.

Lavkor ve Biçici (2015), 2010-2011 yıllarında çalışmalarını Osmaniye’de 6 farklı çiftçi tarlasında sörvey ve tarla denemeleri şeklinde yürütmüşlerdir. Ana ürün yer fıstığı yetiştiriciliğinde görülen hastalıkların durumunu ortaya koymuşlar ve bu hastalıklarda rolü olan bitki besin elementlerinin hastalık gelişimine olan etkilerini belirlemişlerdir. Deneme ve sörvey alanlarının tamamında kök boğazı çürüklüğü (*A. niger*), gövde çürüklüğü (*S. rolfsii*) ve yaprak leke hastalığı (*C. personatum*) saptamışlardır. Enfekteli bitkilerin tamamında *S. rolfsii* (%17.0-30.0), *A. niger* (%18.0-29.0), *R. solani* (%7.8.0-28.0), *F. solani* (%7.0-20.0) olduğunu bildirmişlerdir.

Keleş (2020), Adana ili yer fıstığı alanlarında *Sclerotium rolfsii*'nin yaygınlığının belirlenmesi ve mücadele olanaklarının araştırılması konulu yüksek lisans çalışmasında, yer fıstığı ekilişinin yoğun olduğu ilçelerde hastalığın yaygınlık durumunu araştırmıştır. Yapmış olduğu çalışmanın sonucunda incelenmiş tüm yer fıstığı tarlalarında gövde çürüklüğü gözlemlemiş ve hastalığın yaygınlık durumunu %100 olarak belirlemiştir.

2.2. Yer fıstığında Sorun Olan Toprak Kökenli Fungal Hastalıklara Karşı Biyolojik Mücadele Etmeni Bakterilerin Kullanımı Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Biçici ve ark. (1994), tarafından yapılan çalışmada ürün rotasyonu (münavebe) ve solarizasyon ve bazı biyolojik mücadele etmeni faydalı mikroorganizmaların yer fıstığında *Sclerotium rolfsii* Sacc. gövde çürüklüğü hastalığına karşı mücadelede kimyasallara alternatif etkinlik gösterdiği, bu uygulamalarla yer fıstığında sorun olan toprak kökenli fungal hastalıklarla sürdürülebilir tarım yapılma imkânlarının olduğu bildirilmiştir.

Doğan (1995), tarafından yapılan yüksek lisans çalışmasında toprak solarizasyonunun yer fıstığı bitkisinde hastalık yapan *Sclerotium rolfsii* Sacc.'ya, topraktaki toplam bakteriyel popülasyonlara ve fluorescent *Pseudomonas*'lara etkisi araştırılmıştır. Solarizasyon sonrasında hastalığın %73 oranında azaldığı, solarizasyon uygulaması ile verimin %30 oranında arttığı belirlenmiştir. İzolasyonlar esnasında elde edilen 27 *Pseudomonas* izolatının ikili kültür sonucunda *Sclerotium rolfsii*'ye antagonistik etki gösterdiği ve bunlardan 9 tanesinin saksı çalışmalarında hastalık oluşumunu % 12.5-75 oranında engellediği bildirilmiştir.

Şengül (1995), tarafından Çukurova bölgesinde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinde sorun olan beyaz çürüklük (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) hastalığı ile mücadelede solarizasyon, yabancı ot kompost ve solarizasyon+yabancı ot kompost uygulamalarının, topraktaki aktinomiset popülasyonu üzerine etkileri araştırılmıştır. Yer fıstığı bitkilerinin toprak altı (rizosfer) ve toprak üstü (rizoplane) kısımlarından toplam 26 aktinomiset izolatı elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre aktinomiset popülasyonu bütün uygulamalarda kontrol uygulamasına oranla yüksek düzeyde bulunmuştur. En iyi aktinomiset kolonizasyonu solarizasyon+yabancı ot kompost uygulamasında

gözlenmiştir. İzole edilen aktinomiset izolatları ikili kültürde *Sclerotium rolfsii*'ye karşı antagonistik etki göstermiş ve 18 izolat 30 mm'nin üzerinde engelleme bölgesi oluşturmuştur. *In vitro* koşullarda 30 mm'nin üzerinde engelleme yapan izolatlardan 11 tanesi saksı denemesinde araştırılmış ve bunların arasından 2 izolatın (Ac-11 ile Ac- 19) *S. rolfsii* tarafından oluşturulan hastalık çıkışını %75 oranında engellediği bildirilmiştir.

Shanmugam ve ark. (2002) yer fıstığında *Macrophomina phaseolina* tarafından neden olunan kömür çürüklüğü hastalık çıkışının baskılanmasında antagonist bakteri izolatları ile bitki gelişimini teşvik eden kök bakterilerin etkinliğini belirlemişlerdir. Çalışmada ayrıca *in vitro* koşullar altında *M. phaseolina*'nın misel büyümesini etkili bir şekilde engelleyen floresan *Pseudomonas* Pfl izolatının biyogübre izolatı *Rhizobium* TNAU 14 izolatı ile uyumluluğunu incelemişlerdir. Yapılan sera ve tarla çalışmalarında, *Pseudomonas fluorescens* Pfl izolatının tohuma ve toprağa uygulandığı bitkilerde hastalık çıkışının her iki izolatın karışım halinde uygulandığı bitkilere kıyasla, kök çürüklüğü hastalık çıkışının daha düşük düzeylerde gerçekleştiğini, tekli uygulamanın ise bitki canlılık indeksini iyileştirmede en etkili muamele olduğunu belirlemişlerdir.

Deshwal ve ark. (2003), yer fıstığından izole edilen 10 farklı *Bradyrhizobium* sp. izolatı arasından sadece üçünün siderofor ve IAA ürettiğini, *in vitro* koşullarda fosforu çözmek suretiyle bitki gelişimini teşvik edici etkinlik sergilediğini bildirmişlerdir. *Bradyrhizobium* AHR-2(amp+), AHR-5(amp+) ve AHR-6(amp+) izolatlarının ayrıca *Macrophomina phaseolina*'ya karşı antagonistik etkinlik gösterdiğini, *Bradyrhizobium* izolatları ile kaplanmış yer fıstığı tohumlardan gelişen bitkiler ile bakteri uygulanmamış (kontrol) tohumlardan gelişen bitkiler kıyaslandığında ise tohum çimlenmesi, fide biyokütlesi, nodül sayısı, nodül taze ağırlığı ve ortalama nodül ağırlığı açısından ciddi farklılıklar olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuçta, *Bradyrhizobium* izolatlarının antagonistik ve bitki büyümesini destekleyici özelliklerinin olduğunu saptamışlardır.

Dey ve ark. (2004), tarafından yapılmış çalışmada yer fıstığı rizosferinden elde edilen 233 kök bakteri (rizobakteri) izolatları arasından ACC-deaminaz aktivitesi temelinde dokuz farklı PGPR izolatı seçilmiş, bunların arasından ise floresans *Pseudomonas* spp.'ye ait PGPR1, PGPR2, PGPR4 ve PGPR7 izolatların, siderofor ve indol asetik asit (IAA) üretiminde en etkili izolatlar olduğu belirlenmiştir. IAA ve siderofor üretme özelliklerine ek olarak, *Pseudomonas fluorescens* PGPR1'in ayrıca tri-kalsiyum fosfatı çözen, azotu fikse eden, *in vitro* koşullarda *Aspergillus niger* ve *A.*

flavus'un gelişimini engelleyen etki mekanizmalarına sahip olduğunu bildirmişlerdir. *P. fluorescens* PGPR2 izolatı azot fiksasyonu açısından PGPR1 izolatından farklı bulunduğunu, PGPR1 tarafından sergilenen özelliklere ek olarak, PGPR4 izolatının *Sclerotium rolfsii*'ye karşı güçlü *in vitro* antagonistik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Seçilen izolatların ayrıca bitki büyümesini teşvik edici performansları saksı ve tarla denemelerinde 3 yıl boyunca değerlendirilmiştir. Üç izolatın (PGPR1, PGPR2 ve PGPR4) aşılandığı yer fıstığı tohumlarından, yağmurlu ve yağmur sonrası mevsimlerde kontrole kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bakla verimi gösterdiği, toprak, sürgün ve tanedeki azot ve fosfor içerikleri de her iki mevsim rizobakteriyel izolatlarla aşılanan uygulamalarda önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Tarla denemelerinde, PGPR izolatlarının farklı yıllarda yer fıstığının büyümesini ve verimini artırma performansında geniş bir varyasyonu olduğunu, PGPR1, PGPR2 ve PGPR4 gibi bitki büyümesini teşvik eden floresan *Pseudomonas* izolatlarının, 3 yıl boyunca bakla verimini (sırasıyla %23-26, %24-28 ve %18-24), dane verimini ve nodül kuru ağırlığını kontrole göre önemli ölçüde arttırdığını saptamışlardır. Kök uzunluğu, bakla sayısı, 100 dane ağırlığı, kabuk randımanı ve nodül sayısı gibi diğer özelliklerde artışlar kaydedilmiştir. PGPR özellikteki *P. fluorescens* PGPR1, PGPR2 ve PGPR4 izolatları ile tohum bakterizasyonun, *A. niger*'in neden olduğu yer fıstığı kök çürüklüğü gibi toprak kökenli fungal hastalıkları bastırdığını, *P. fluorescens* PGPR4 izolatının ayrıca *S. rolfsii*'nin neden olduğu gövde çürüklüğü hastalık çıkışını da önemli düzeyde baskıladığını bildirmişlerdir.

Abd-Allah (2005), *Sclerotium rolfsii* Sacc.'in patogenezi sırasında hem yer fıstığı tohumlarının bozulmasına ve kalitesinin düşmesine hem de yağın kalite ve miktarının azalmasına neden olduğunu bildirmiştir. Bir biyolojik mücadele etmeni olan *Bacillus subtilis*'in uygulanması, tohum kaynaklı patojen *S. rolfsii* tarafından neden olunan yağ içeriğinin kimyasal ve fiziksel özellikleri üzerindeki olumsuz etkisini ortadan kaldırdığını, ayrıca yer fıstığı tohum yağının yağ asitleri bileşimindeki değişikliklerin, *S. rolfsii*'ye karşı bir tolerans mekanizması, yağ kalitesi ve miktarında daha fazla iyileşme ile sonuçlanan sistemik fizyolojik değişikliklerin teşvik edilmesiyle ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Kishore ve ark. (2005b), hem tohum hem de toprak ıslahı olarak uygulanan 393 farklı bakteri izolatını, kontrollü bir ortamda yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığının (*Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu) mücadelesinde kullanılma potansiyellerini

değerlendirmişlerdir. On iki bakteri izolatının yer fıstığı sap çürüklüğü hastalık çıkışını önemli ölçüde ($P=0.01$) azalttığını, bunların arasından yer fıstığı tohum endofitleri *Pseudomonas aeruginosa* GSE18 ve GSE19 izolatlarının fide ölümlerini kontrole kıyasla %54 ve %58 oranında azalttığını saptamışlardır. İkili kültürlerde, 12 biyokontrol izolatının *S. rolfsii*'nin misel gelişimini kontrole kıyasla %32-%74 oranında baskıladığını, *P. aeruginosa* GSE18 ve GSE19'un hücre duvarı parçalayıcı enzimlerden (Cell Wall-Degrading Enzymes, CWDE) olan poligalakturonaz ve selüloz inokülasyondan 6 gün sonra misel gelişimini %55 ve %50 oranında engellediğini bildirmişlerdir. *P. aeruginosa* GSE18 ve GSE19'un yaygın olarak kullanılan bir tohum ilaçlama fungusu olan thirama karşı bilinen toleransı ile *S. rolfsii*'nin büyümesini baskılaması, CWDE aktivitesini inhibe etmesi ve kök çürüklüğü oranını azaltması, bu biyokontrol izolatlarının yer fıstığı kök çürüklüğünün entegre yönetiminde kullanılma potansiyeline sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Kishore ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* GSE18 izolatının *Aspergillus niger* istilasına uğramış saksılardaki yer fıstığı bitkilerinde çıkış öncesi çürüme ve çıkış sonrası solma belirtilerini >%60 oranında azalttığını bildirmişlerdir. Bakteriyel etmenlerle yapılan tohum muamelesi sonucunda, yer fıstığı fidelerinde kitinaz, β -1,3 glukanaz, peroksidaz ve fenilalanin amonyak liyaz (PAL) gibi savunma ile ilgili enzimlerin kontrole kıyasla hızlı bir şekilde birikmesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu enzimlerin aktiviteleri, *P.aeruginosa* GSE18 ile muamele edilen fidelerde kontrole göre önemli ölçüde ($P=0,01$) daha yüksek ve PAL aktivasyonu en yüksek (> 2 kat) düzeylerde bulunmuş, *P. aeruginosa* GSE18'in hücre duvarı parçalayıcı enzimleri, inokülasyondan 6 gün sonra *A. niger* tarafından *in vitro* poligalakturonaz ve selüloz üretimini sırasıyla %77 ve %68'e kadar engellendiği, dolayısıyla konukçu savunma tepkilerinin etkinleştirilmesi ve fungal hücre duvarı parçalayıcı enzimlerin inhibisyonu, *P.aeruginosa* GSE18 izolatının yer fıstığı kökboğazı çürüklüğünün biyokontrolünde önemli bir rol oynayabileceğini saptamışlardır.

Karthikeyan ve ark. (2006), tarafından yapılan çalışmada *Trichoderma viride*'nin üç, *T. harzianum* ve *Pseudomonas fluorescens*'in ise birer izolatının yer fıstığı kök çürüklüğü etmeni *Sclerotium rolfsii*'nin (Sacc.) misel gelişimini ikili kültür testlerinde değişen oranlarda engellediğini belirlemişlerdir. *T. viride* Tv1 izolatı patojenin misel gelişimini %69.40 oranında, *P. fluorescens* %64.40 oranında engellediğini

bildirmişlerdir. Beş izolat arasında *T. viride* (Tv1) ve *P. fluorescens* (Pf1)'in hastalık etmeninin sklerot oluşumunu baskılamada en etkili izolatlar olduğunu, *T. viride* Tv1 izolatının kültür filtratının, patojenin gelişimini (%87.05) ve sklerot çimlenmesini (%62.50) diğerlerinden daha büyük ölçüde engellediğini bildirmişlerdir.

Ganesan ve ark. (2007), yapmış oldukları çalışmada, *Rhizobium* ve *Trichoderma harzianum* (ITCC- 4572) izolatlarını kombine olarak kullanmak suretiyle yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığının entegre mücadele olanaklarını araştırmışlardır. Yerel mikroorganizma uygulanmasının kök çürüklüğü hastalığının çıkışı ve gelişimini başarılı bir şekilde azalttığını, aynı zamanda yer fıstığı bitkilerinin büyümesini arttırdığını belirlemişlerdir.

Tonelli ve ark. (2010), tarla koşullarında yetişen yer fıstığı bitkilerinin farklı organlarından 193'ün üzerinde endofitik ve epifitik bakteri izole etmişlerdir. İzolatların çeşitliliği ERIC/BOX-PCR ve 16S ribozomal DNA dizilimi ile analiz edilmiş, yer fıstığı bitkilerini *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor*, *Sclerotium rolfsii* ve *Fusarium solani* fungal patojenlerine karşı antagonistik potansiyelleri ve önemli biyokontrol etki mekanizmaları değerlendirilmiştir. Test edilen bakteri izolatlarından 148 izolatın siderofor ürettiği, çoğu epifit olan 71 izolatın YEMA besi yeri üzerinde 28 bakteri izolatının PDA besi yeri üzerinde misel gelişimi engellediği belirlenmiştir. Bakteriyel izolatlar arasından 11 izolatın çözünebilir hücre dışı bileşikler (ekstraselüler) salgılamak suretiyle antagonistik etkinlik gösterdiği, bu bileşiklerden bazılarının >12 kDa moleküler ağırlığa sahip, ısıya dayanıklı (protein yapısında olmayan) bileşikler olduğunu bildirmişlerdir. İzolatlar tarafından üretilen uçucu bileşiklere karşı fungus duyarlılığı, çözünebilir bileşikler veya bakteri izolatları arasında farklılıklar gözlemlemişlerdir.

Le ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada *Pseudomonas* tarafından üretilen fenazinler (PHZ) ve lipopeptit yüzey aktif maddelerin (LPs), fungal patojen *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığının baskılanmasındaki rolünü belirlemeyi amaçlamışlardır. PHZ üreten *Pseudomonas chlororaphis* Phz24 izolatının *S. rolfsii*'nin *in vitro* koşullarda misel büyümesini önemli ölçüde engellediğini, *in vivo* tarla koşullarında ise yer fıstığının kök çürüklüğü hastalığını baskıladığını belirlemişlerdir. *P. chlororaphis* Phz24 izolatının PHZ üretimi ve biyosentezinde mutant olan izolatının patojen baskılamada daha az etkili olduğunu saptamışlardır. Viskozin veya putisolvin benzeri LP'ler üreten *Pseudomonas* spp. SS101, SBW25 ve 267 izolatlarının *S. rolfsii*'nin

misel büyümesini düşük düzeyde engellediği, kök çürüklüğü hastalığını baskılayamadığını bildirmişlerdir. Buna karşılık, klorlu LP thanamisin üreten *Pseudomonas* SH-C52 izolatının *S. rolfsii*'nin *in vitro* koşullarda misel gelişimini engellediğini, *in vivo* koşullarda ise yer fıstığının kök çürüklüğü hastalığını sera ve tarla deneylerinde önemli ölçüde baskıladığını saptamışlardır. Aynı bakterinin thanamisin eksikliği olan mutantı ise hastalık çıkışının engellenmesinde daha az etkili bulunmuştur. Sonuçta, fenazinlerin ve spesifik lipopeptitlerin, kök kolonizasyonu yapan *Pseudomonas* izolatları tarafından yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığının baskılanmasında önemli bir rol oynadığını belirlemişlerdir. *Pseudomonas* izolatları Phz24 ve SH-C52'nin kök çürüklüğü hastalığını önemli ölçüde kontrol ettiğini, tohumların veya toprağın bu izolatlarla muamele edilmesinin, yer fıstığının kök çürüklüğü hastalığını kontrol etmek için umut verici bir tamamlayıcı strateji sağlayacağını bildirmişlerdir.

Tonelli ve ark. (2011) seçilmiş rizobakteri türlerinin, bitkide sistemik direnci (ISR) teşvik ederek enfeksiyon kaynaklı hücresel savunma tepkilerini harekete geçirme kapasitesini arttırdığını (priming) bildirmişlerdir. *Bacillus* sp. CHEP5 ve *Pseudomonas* sp. BREN6 izolatlarının yer fıstığı bitkilerinde *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu kök ve gövde solgunluğu hastalığının şiddetini azalttığını, kök bakteri izolatlarının uygulandığı yer fıstığı bitkilerinde, fenilalanin amonyak liyaz (PAL) ve peroksidaz (POX) aktivitelerinde ciddi artışlar olduğunu belirlemişlerdir. CHEP5, ACC ile uyarıldığında bitkilerde daha fazla etilen üretilmesini teşvik ettiğini, yer fıstığının ISR-pozitif bir bitki olduğunu, *Bacillus* sp. CHEP5 ve *Pseudomonas* sp BREN6 izolatlarının, PAL ve POX gibi bitki savunma mekanizmalarında rol oynayan enzim aktivitelerinin artışında etkili olmalarının yanı sıra, ACC dönüştürme kapasitesine sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Hussien ve ark. (2012), tarafından yapılan çalışmada *B. subtilis*'in serada ve açık tarla koşullarında *R. solani*'nin neden olduğu yer fıstığı kök ve kökboğazı çürüklüğünü azaltmada en etkili izolat olduğunu bildirmişlerdir.

Ludueno ve ark. (2012), yapmış oldukları çalışmalarında beyaz çürüklük ve kök çürüklüğü ile bulaşık yer fıstığı bitkilerinden endofitik ve epifitik biyokontrol bakterileri izole etmişler ve biyokontrol etkinliklerini araştırmışlardır. Hastalıklı bitkilerden 263 adet bakteri izolatı seçilmiş ve fungal hastalık etmenlerinden *Sclerotinia minör* ve *Fusarium solani*'ye karşı antibiyozis, siderofor üretimi, karbon kaynağı kullanımı gibi biyokontrol

özelliklerini analiz etmişlerdir. Test edilen 263 izolattan %34'ünün test edilen iki fungustan en az birinin misel gelişimini engelleyebildiğini, %47'sinin CAS ortamında siderofor ürettiğini belirlemişlerdir. BOX-PCR ile genetik çeşitlilik analizi, yer fıstığıyla ilişkili kültüre edilebilir epifitik ve endofitik bakteri türlerinin oldukça çeşitli olduğunu göstermiş, yapılan tüm taramalara göre potansiyel biyokontrol etmeni olarak gösterilen ve farklı BOX profillerine ait en dikkat çekici izolatların 16S rDNA dizileri, *Bacillus amyloliquefaciens* ile %99 oranında benzer olduklarını belirlemişlerdir. Sonuçta yer fıstığı ekosistemindeki fungal patojenlerin varlığının, yer fıstığı bitkisi ile ilişkili bakteri topluluklarında seçici bir faktör olarak hareket edebileceğini vurgulamışlardır.

Yuttavanichakul ve ark. (2012), yer fıstığında kök çürüklüğü hastalığına neden olan *Aspergillus niger*'in biyolojik mücadelesinde topraktan ve bitki köklerinden 765 *Bradyrhizobial*, 350 bitki gelişimini teşvik eden kökbakteri (PGPR) izolatları ile çalışmalar yapmışlardır. Yapılan *in vitro* çalışmaların sonucunda test edilen bakterilerden sadece 11 PGPR izolatının *A. niger* gelişimini engelleyebildiğini belirlemişlerdir. *A. niger* gelişimini engelleyen, bitki köklerinde kolonize yeteneklerine dayanarak, en iyi dört PGPR izolatı (A20, A45, A62 ve A106) seçilmiş, yapılan moleküler analizler ve 16S rRNA dizi analiz sonucunda bu izolatlar sırasıyla *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. subtilis* subsp. *subtilis* ve *Pseudomonas* sp. olarak tanımlanmıştır. Litik proteaz enzimi üretimi A20, A45 ve A62'de tespit edilmiş ancak A106'da tespit edilmemiş, A20 ve A62'nin hücresiz kültürlerinde bazı antifungal aktiviteler açıkça gözlemlenmiştir. A45 ve A62 izolatlarının antifungal aktivitesi proteinaz K'ya dirençli bulunmuş, tüm PGPR izolatlarının oksin (indol-3-asetik asit, IAA) hormonu ve biyofilm üretebildiği belirlenmiştir. PGPR izolatlarından üretilen IAA, yer fıstığı kök büyümesini teşvik edebildiği, A20 veya A45 izolatlarından birinin *Bradyrhizobium* sp. TAL 173 izolatı ile birlikte aşılandığında, *A. niger*'in neden olduğu yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığını engelleyebildiğini, seçilmiş PGPR ile *Bradyrhizobium* sp. birleştirilmesi yer fıstığında azot fiksasyonunu arttırdığını gözlemlemişlerdir. Sonuçta biyolojik mücadele etmeni bakterilerin fungusit kullanımını azaltarak sürdürülebilir tarımda (Sustainable Agriculture) uygun bir yaklaşım sağlayacağını bildirmişlerdir.

Figueredo ve ark. (2014), *Bacillus* sp. CHEP5 izolatı ile yer fıstığı nodülasyon izolatı *Bradyrhizobium* sp. SEMIA 6144'ün birlikte inokülasyonunun hem sistemik direnç hem de nodülasyon süreçlerinin teşvik edilmesi üzerindeki etkisini incelemişlerdir.

Bradyrhizobium sp. SEMIA 6144 ile *Bacillus* sp. CHEP5'in yer fıstığı bitkilerini sistemik teşvik edilmiş dayanıklılık (ISR) yoluyla *S. rolfii*'den koruma kabiliyetinde olduğunu, bu korumanın PAL enzim aktivitesindeki artışla kanıtlandığı gibi, tehdit altındaki yer fıstığı bitkilerinin hastalıktan etkilenmediğini belirtmişlerdir ve *Bacillus* sp. CHEP5 izolatının patojen gelişimini engellerken, *Bradyrhizobium* sp. SEMIA 6144 izolatının yer fıstığı bitkilerinde nodül oluşumunu teşvik ettiğini vurgulamışlardır.

Mahmoud (2014) topraktan, rizosferden, yer fıstığı köklerinden izole edilen 17 farklı bakteri izolatının yanı sıra etkinliği bilinen 3 biyokontrol etmeni bakteri izolatının (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* ve *P. fluorescens*) antagonistik etkilerini yer fıstığında sorun olan toprak kökenli hastalık etmenlerinden *Fusarium solani*, *F. moniliforme*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfii* üzerinde araştırmıştır. *In vitro* değerlendirmede, sadece dokuz izolatın test edilen patojenlere karşı orta ila güçlü düzeylerde antagonistik etki gösterdiğini gözlemlemiştir. *P. fluorescens* (Pf.5) izolatının PDA üzerindeki beş patojene karşı en yüksek antagonistik etkiyi gösterdiğini, bu izolatı sırasıyla *B. subtilis* (Bs.1), *P. putida* (PP) ve *Brevibacterium casei* (S.5) izolatlarının takip ettiğini, sera ve tarla denemelerinde ise, yer fıstığı hastalıklarını azaltmada en etkili izolatın *P. fluorescens* (Pf.5) olduğunu, bunu *B. subtilis* (Bs1) ve *B. casei* (S.5) izolatlarının izlediğini belirtmiştir. Ayrıca iki sezonda (2012 ve 2013) en yüksek toplam yer fıstığı bakla veriminin *B. subtilis* (Bs1) izolatı tarafından sağlanmış olduğunu, bu izolatı *P. fluorescens*'in takip ettiğini, sonuçta bazı biyoetmenlerin yer fıstığı hastalıklarını azaltmada fungusit (Rizolex-T) etkisine yakın etkiye sahip olduğunu doğruladığını saptamıştır. Bu bağlamda, sera ve tarla denemelerinde *P. fluorescens* (Pf.5) izolatının yer fıstığı hastalıklarının baskılanmasında fungusitlere en yakın etkiyi gösterdiğini, bu izolatı etkinlik açısından *B. casei* (S.5) ve *B. subtilis* (Bs1) izolatlarının izlediğini bildirmiştir.

Jacob ve ark. (2018), tarla koşullarında *S. rolfii*'nin neden olduğu yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığının yönetiminin yanı sıra yer fıstığı bitkilerinin gelişiminin teşvik edilmesine yönelik araştırmalarında potansiyel biyokontrol etmeni olan *Streptomyces* sp. RP1A-12'yi değerlendirmeye aldıklarını, *in vitro* ve sera koşullarında yürütülen ön çalışmalarda, kök çürüklüğü patojenine karşı umut verici sonuçlar gösterdiğini bildirmişlerdir. *Streptomyces* sp. RP1A-12 kullanılarak yapılan daha ileri *in vitro* ve saksı denemelerinde tohum çimlenmesi, kök ve sürgün uzunluğu, nodül sayısı ve bitki

biyokütlesi gibi parametrelerde kontrol uygulamalarına göre artış görülmüş, sonuçta biyoetmenin hastalık baskılama yeteneklerinin yanı sıra bitki büyümesini teşvik edici yeteneklere de sahip olduğu belirlenmiştir. Daha sonra iki ardışık yağmur mevsimi boyunca yürüttükleri saha çalışmalarında, *Streptomyces* sp. RP1A-12 izolatını hem bakteriyel hüce süspansiyonu olarak hemde kısmen saflaştırılmış “ham metabolit” ler olarak bitkilere uygulamışlar, sonuçlar biyoetmenin verimde kayda değer bir artışla birlikte yürütülen iki yıllık tarla denemesinde kök çürüklüğü hastalığını sırasıyla %64-67 ve %22-49 oranında baskılama potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. *Streptomyces* sp. RP1A-12 izolatının hücre süspansiyon kültüründen kısmen saflaştırılmış kimyasal metabolitler, kontrol uygulmasına kıyasla kök çürüklüğü hastalık çıkış sıklığını ve şiddetini azaltmada yüksek etkinlik sergilediğini bildirmişlerdir.

Le ve ark. (2018), *S. rolfii*'nin neden olduğu kök çürüklüğü hastalığı ile biyolojik mücadele kapsamında, yer fıstığı bitkilerinin gövde ve köklerinden izole edilen 3360 bakteri izolatı arasından sadece 13 izolatın (%0.4) *S. rolfii*'nin misel büyümesini engellediğini belirlemişlerdir. Bu izolatların genetik olarak farklılık gösterdiğini, etkili üç bakteri izolatının *Pseudomonas* (γ -Proteobacteria), *Bacillus* (Firmicutes) ve *Chryseobacterium* (Bacteroidetes) cinslerine ait olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacıların yapmış oldukları sera ve tarla denemelerinde, yer fıstığı tohumlarının veya tarla toprağının bu üç bakteri izolatı ile muamele edilmesi sonucunda kök çürüklüğü hastalığının görülme sıklığının önemli ölçüde azaldığı, bitkide %21'e varan önemli verim artışının sağlandığı gözlemlenmiş ve bakterilerin bitki köklerinde nodülasyon oluşumu üzerinde olumsuz etkilerinin olmadığını saptamışlardır. Ayrıca *in vivo* etkinlik çalışmalarında bakteri izolatları tarafından sağlanan hastalık koruma seviyesinin, tebuconazole fungusinin etkisi ile benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Yerel bölge izolatı *Pseudomonas* R4D2'nin biyokontrol etkinliği Hollanda izolatıyla kıyaslandığında, antagonistik *P. R4D2*'nin yer fıstığı köklerinde daha iyi kolonize olduğu, kök çürüklüğünü (*S. rolfii*), kökboğazı çürüklüğünü (*Aspergillus niger*) ve bakteriyel solgunluğu (*Ralstonia solanacearum*) azalttığı ve yer fıstığı verimini arttırdığını belirlemişlerdir. Sonuçta yerel izolatların farklı ülkelerden getirilen biyolojik mücadele etmeni izolatlarla kıyasla ortama daha iyi adapte olmaları nedeniyle etkinliklerinin de daha yüksek olacağını vurgulamışlardır.

Shifa ve ark. (2018), *Macrophomina phaseolina*'nın neden olduğu yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.) kök çürüklüğü hastalığının mücadelesinde bitki büyümesini teşvik eden rizobakterilerin (PGPR) etkinliğini, *Phaeoisariopsis personata*'nın neden olduğu geç yaprak lekesine karşı bitki sistemik kazanılmış dayanıklılık (Systemic Acquired Resistance, SAR) ve bitki ekstraktlarının antifungal etkinliğini test etmek için sera çalışmaları yapmışlardır. *B. subtilis* G1 izolatının bir formülasyonunun tohum ve toprak uygulamaları, sera koşullarında kök çürümesini önemli ölçüde azalttığını, SAR uyarıcıları ile yapılan deneylerde, ekimden 45 gün sonra yaprağa salisilik asit (SA) (7 mM) uygulamasının geç yaprak leke (LLS) oranını önemli ölçüde azalttığını, bakla verimini artırdığını belirlemişlerdir. Ekimden 45 gün sonra *Adhatoda vasica* ve *Allium sativum* x *A. cepa* yapraklarından elde edilen sulu özütün (%10) yaprağa uygulanması, LLS oranını önemli ölçüde azalttığını ve bakla verimini kontrol uygulamasına kıyasla arttırmış olduğunu belirtmişlerdir. Kombinasyonlarda en iyi performans gösteren PGPR, SAR indükleyici ve bitki özü kullanılarak yer fıstığının LLS ve RR'sinin yönetimi için entegre bir yöntem geliştirmek amacıyla tarla denemeleri yapılmıştır. *B. subtilis* G1 izolatı'nın tohum (10 g/kg) ve toprak (2.5 kg/ha) yoluyla birlikte uygulanmasını takiben ekimden 30, 45 ve 60 gün sonra yaprakta *A. vasica* özütünün (%10) uygulanması LLS'yi ve RR hastalıklarını önemli ölçüde azalttığını ve tarla koşullarında yer fıstığında bakla verimini artırdığını bildirmişlerdir.

Ahmad ve ark. (2019), *Bacillus subtilis*'e ait B4, B7, B8 ve B10 izolatlarının yer fıstığında *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* ve bazı fitopatojen fungusların misel gelişiminin engellenmesi ve antagonistik etki mekanizmalarını *in vitro* koşullarda incelemişlerdir. B4 izolatının misel gelişimi engellemede en yüksek etkili izolat olduğunu gözlemlemişlerdir. Sera ve tarla koşullarında toprak kökenli hastalıkları azaltmak için kullanılan Rizolex-T'ye ek olarak B4 izolatı biyofungisit olarak formüle edilmiştir. *R. solani*, *S. rolfsii* ve bunların karışımı ile enfekteli bir toprakta sera ve tarla koşullarında *B. subtilis* B4 ve Rizolex-T ile yapılan denemelerde, *B. subtilis* B4'ün Rizolex-T uygulaması yapılmış bitkilere kıyasla bitki kuru ağırlığı ile sağlıklı kapsül sayısında daha yüksek etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, formüle edilmiş *Bacillus* B4 ile uygulama yapılan bitkilerde, Rizolex-T ile uygulanan bitkilere göre daha yüksek verim alındığını ve sonuçta biyolojik mücadele etmenlerinin kimyasal fungusitlere kıyasla daha etkili, insan, çevre ve ekonomi açısından daha güvenilir olduğunu vurgulamışlardır.

Le ve ark. (2019a) yapmış oldukları çalışmalarında yer fıstığı bitkilerinin toprak altı (rizosferinden) kısımlardan izole ettikleri yerli bakteri izolatlarının *Sclerotium rolfsii*'ye karşı *in vitro* antagonistik etkinliklerini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda test etmişlerdir. İzole edilen bakteri popülasyonunun genetik çeşitliliği BOX-PCR ve 16S rDNA sekansları ile ve seralarda ise yüksek hastalık kontrolü gösteren bakteri izolatlarının ayrıca çiftçi tarlalarında doğal koşullar altında değerlendirdiklerini, çalışmanın sonucunda, yer fıstığı rizosferindeki antagonistik bakteri popülasyonunun genelde *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Burkholderia* olmak üzere üç bakteri cinsine ait olduğunu saptamışlardır. Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda antagonistik etki mekanizmalarından olan 2,4 DAPG üreten bir bakteri türünün, *S. rolfsii* tarafından neden olunan yer fıstığı kök çürüklüğü hastalık çıkışını ciddi oranda baskılamasının yanısıra kontrole kıyasla ürün veriminde %20.3 ila %26.3 oranlarında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Le ve ark. (2019b), çalışmalarında Vietnam'da yer fıstığı bitkisinin gövde tabanından izole edilen antagonistik bakteri izolatı *Bacillus* sp. S20D12'yi *in vitro* ve *in vivo* koşullarda kök çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde değerlendirmişlerdir. *Bacillus* sp. hücresiz kültür filtratının sıvı patates dekstroz besi yerinde (PDB) *Sclerotium rolfsii*'nin misel gelişimini önemli ölçüde engellediğini, benzer şekilde *Bacillus* sp. S20D12'nin sera koşullarında da kök çürüklüğü hastalık çıkışını önemli ölçüde azalttığını saptamışlardır. Orta Vietnam'da 2 yıl üst üste yürütülen tarla denemelerinde, *Bacillus* sp. S20D12'nin kök çürüklüğü hastalığını önemli ölçüde azalttığını, uygulama yapılmamış kontrol bitkilerine göre %18.3-%21.2 arasında değişen oranlarda bakla verimini önemli ölçüde ve tutarlı bir şekilde artırdığını gözlemlemişlerdir.

Li ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada, aseptik olarak ya da toprakta yetiştirilen yer fıstığı fidelerinin kök uçlarından 10 farklı endofitik bakteri cinsine dahil (çoğu *Bacillus* cinsinden olmak üzere) 42 bakteri kolonisi elde ettiklerini belirtmişlerdir. Fide kök uçlarından elde edilen *Bacillus* sp., *Paenibacillus* sp. ve *Pantoea dispersa* olmak üzere sekiz izolattan *Bacillus* GL1 – GL4 (B.p.GL1-GL4) biyofilmler üretirken, B.p.GL2 ve *Paenibacillus glikanilyticus* YMR3 (P.g.YMR3) güçlü amilolitik etkinlik göstermiş, bu bakteri izolatlarının uygulandığı bitkilerde yer fıstığı biyokütlesinde ve kök nodül sayısında artış saptamışlardır. *P. dispersa* YMR1 (P.d.YMR1) izolatının ise yer fıstığı bitkilerinde solgunluk belirtilerine neden olduğunu bildirmişlerdir.

Abd-Elmagid ve El-Sharkawy (2020), Mısır'ın farklı bölgelerinden toplanan yer fıstığı kök ve bakla çürüklüğünün tipik semptomlarını gösteren enfekte bitkilerden *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Fusarium solani*, *F. moniliforme*, *F. equestri* ve *F. semitectum* olarak tanımladıkları ve toplamda 33 fungal izolat elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yer fıstığında yapılan patojenite testleri sonucunda en şiddetli kök ve bakla çürüklüğü hastalık belirtilerine *M. phaseolina*'nın neden olduğunu, bu izolatı sırasıyla *R. solani* ve *F. solani* izolatlarının izlediğini saptamışlardır. Laboratuvar koşullarında yaptıkları çalışmalarda 12 bakteriyel [*Bacillus subtilis* (BS1 ve BS2), *B. megaterium* (BM1 ve BM2), *Penibacillus polymyxa* BP, *Pseudomonas fluorescens* (PF1 ve PF2) ve *Azotobacter* spp. (AZ1, AZ2, AZ3, AZ4 ve AZ5)] ile 6 fungal *Trichoderma* spp. izolatının [T5, T7, T8, T9, T10 ve T34)] fungal hastalık etmenlerinden *M. phaseolina*, *R. solani* ve *F. solani*'nin misel gelişimini engellemeleri üzerine olan antagonistik etkinliklerini belirlemişlerdir. Yapılan *in vitro* etkinlik çalışmalarında, 7 farklı bakteri izolatı (*B. subtilis* BS1, *B. megaterium* BM2, *B. polymyxa* BP, *P. fluorescens* (PF1 ve PF2), *Azotobacter* spp. (AZ2 ve AZ5) ile 3 farklı *Trichoderma* spp. izolatının (T7, T10 ve T34) test edildikleri fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimlerini engellemede en yüksek etkinlik gösteren izolatlar olduğunu bildirmişlerdir. Patojenik funguslara karşı *in vitro* ortamda en iyi antagonistik etki gösteren on biyo etmen izolatı 2019 ve 2020 yetiştirme sezonlarında *in vivo* koşullarda test edilmiştir. *M. phaseolina*'ya karşı *Trichoderma* spp. T34, *B. subtilis* BS1, *P. polymyxa* BP, *Azotobacter* spp. AZ2, *B. megaterium* BM2 izolatlarının; *R. solani* ve *F. solani*'ye karşı ise *Trichoderma* spp. T10 izolatının hem yer fıstığı kök çürüklüğü hem de bakla çürüklüğü hastalıklarında en yüksek etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Archana ve ark. (2020), Hindistan'ın Tamil Nadu eyaletindeki Coimbatore bölgesinde yapmış oldukları sürveylerde kök çürüklüğü hastalığının görülme sıklığını %86.6 olarak belirlemişlerdir. Hastalık yönetimi için farklı şekillerde yetiştirilen ve farklı yer fıstığı çeşitlerinin tohumlarından bakteriyel endofit izole etmişlerdir. İzolasyonlar sonucunda elde edilen 16 bakteriyel endofit izolat morfolojik, biyokimyasal ve moleküler çalışmalarla karakterize edilmiş, daha sonra bu izolatların bitki gelişimini teşvik eden etki mekanizmaları belirlenmiştir. EGN1 ve EGN4 izolatlarının *in vitro* koşullarda indol asetik asit (IAA), siderofor, proteaz ürettiği besi yerinde fosforu çözdüğünü gözlemlemişlerdir. Bakteri izolatlarının misel gelişimini engellemedeki etkinliği 3 farklı

yöntemle belirlenmiştir. Bakteriyel EGN1 izolatının *S. rolfsii*'ye karşı antagonistik etkinliği ikili kültür testinde %60.1, filtre kağıdı disk deneyinde %68.23 oranında etkinlik gösterirken üçgen çizgi yöntemi ve kültür filtratı deneyinde %100 oranında engelleme gösterdiğini saptamışlardır. Ayrıca, bakterilerin hücre kültürü süspansiyonundan elde edilen ham kimyasal metabolitlerin etkinlik çalışmalarında EGN 1 izolatından elde edilen ham metabolitin fungus misel gelişimini %97.7, EGN 4 izolatından elde edilen ham metabolitin ise fungal etmenin misel gelişimini %87.7 oranında engellediğini bildirmişlerdir.

Chen ve ark. (2020), tarafından yapılan çalışmada yer fıstığı tohumlarından izole edilen toplam 37 endofitik bakteri izolatının *S. rolfsii*'nin misel gelişimini engelleme (IR) potansiyelleri *in vitro* koşullarda belirlenmiştir. Yapılan ikili kültür testlerinde altı izolatın güçlü antagonistik aktivite (IR $\geq$ %70) gösterdiği, bu altı izolat arasında LHSB1 izolatının besi yeri üzerinde 20 mm genişliğinde engelleme bölgesi oluşturmak suretiyle misel gelişimini %93.8 oranında engelleyen en etkili tür olduğunu, ayrıca LHSB1'in yer fıstığında yıkıcı hastalıklara neden olan diğer altı patojen fungal etmenlere (*Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Diplodia gossypina*, *Fusarium oxysporum*, *F. moniliforme*, *Rhizopus sp.*) karşı önemli antagonistik etkinlik gösterdiğini, sonuçta LHSB1'in yer fıstığı fungal hastalıklarının mücadelesinde büyük bir potansiyele sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Xu ve ark. (2020), yer fıstığı rizosferinden izole edilen LX11 bakteri izolatını, 16S ribozomal RNA ve DNA giraz (gyrB) dizisinin β -alt birimine dayanarak *Bacillus pumilus* olarak tanımlamışlardır. *B. pumilus* LX11 izolatının güney yanıklığı hastalığı etmeni *S. rolfsii*'ye karşı önemli düzeyde antifungal aktivite gösterdiği, tarla denemelerinde ise *S. rolfsii*'ye karşı "tedavi edici" şeklinde uygulanması halinde hastalık gelişimini %65'in üzerinde baskılayabildiğini gözlemlemişlerdir. Sonuçta *B. pumilus* LX11 izolatının yer fıstığında güney yanıklığı hastalığı için potansiyel bir biyokontrol izolatı olarak faydalı olabileceğini saptamışlardır.

Subandar ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada, Kuala Pesisir Nagan Raya turbalıklarında *S. rolfsii*'ye karşı biyolojik kontrol etkinliğine sahip antagonist bakterilerin tanımlanmasını ve etki mekanizmalarının karakterize edilmesini amaçlamışlardır. Yapmış oldukları izolasyonlar sonucunda elde edilen ve patojenik olmayan bakteri izolatların %74-100 aralığında değişen yüksek düzeyde antagonist etkinliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Elde edilen antagonist bakteriler ile muamale

edilmiş yer fıstığı tohumlarının çimlenme kapasitesinin %80-96 aralığında olduğunu, yüksek antagonistik ve bitki gelişimini teşvik eden bu bakterilerin morfolojik ve moleküler tanımlama çalışmaları sonucunda *Bacillus* sp. olduğunu bildirmişlerdir.

Costa ve ark. (2022), yaptıkları çalışmada yabani yer fıstığı (*Arachis villosa*) nodüllerinden izole edilen *Paenibacillus* sp. (UY79) izolatının, çeşitli funguslara ve oomycetlere (*Botrytis cinerea*, *Fusarium verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. graminearum*, *F. semitectum*, *Macrophomina phaseolina*, *Phomopsis longicolla*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora sojae*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* ve *Trichoderma atroviride*) karşı antagonistik etkinliğini belirlemişlerdir. *Paenibacillus* sp. UY79 izolatının test edildiği fungal/oomycete hastalık etmenlerine karşı değişen oranlarda antagonistik etkiye sahip olduklarını vurgulamışlardır.

Rakh ve ark. (2022), yaptıkları araştırmada, rizosferik bölgelerden izole edilen 58 *Pseudomonas* izolatının *in vitro* koşullar altında *S. rolfsii*'ye karşı biyokontrol aktivitelerini belirlemişlerdir. *In vitro* ikili kültür çalışması sırasında, *P. aeruginosa* AL98 izolatının *S. rolfsii*'nin misel gelişimini kontrole kıyasla %94.44 oranında baskıladığını, hastalık gelişiminin engellenmesinde etkili olan mekanizmalar incelendiğinde ise, *P. aeruginosa* AL98'in ikili kültürde gerek uçucu olmayan yayılabilir metabolitler gerekse uçucu metabolitlerin *S. rolfsii*'nin engellenmesinde rol oynadığını belirlemişlerdir.

Jia ve ark. (2023), yaptıkları çalışmada, *S. rolfsii*'nin neden olduğu yer fıstığı kök çürüklüğünü kontrol etmek için potansiyel bir biyokontrol etmeni olan *Bacillus* sp.'nin etkinliğini ve bu etkinlikte rol oynayan etki mekanizmalarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Dört farklı zamanda yapılan saksı denemesinde *B. velezensis* CB13 ile muamele edilmiş tohumlardan gelişen bitkilerde hastalık çıkışının %65.44, %73.33, %85.13 ve %94.92 oranlarında engellendiğini, bakterilerin sağlıklı bitkilerde kök kolonizasyonunu yeşil floresan protein (GFP) etiketleme deneyleri ile saptamışlardır. *B. velezensis* CB13-GFP izolatı, 50 gün sonra yer fıstığı kökünde ve rizosfer toprağında sırasıyla 10^4 ve 10^8 CFU/g olarak tespit edilmiş, *B. velezensis* CB13 uygulandığı bitkilerde savunma enzim aktivitesini teşvik edilmek suretiyle *S. rolfsii* enfeksiyonuna karşı bitkinin savunma tepkisini arttırdığını bildirmişlerdir. MiSeq dizilimi ile yapılan çalışmada *B. velezensis* CB13 ile muamele edilen yer fıstığının rizosferlerinde bakteri ve fungus topluluklarında bir değişim olduğunu gözlemlemişler, *B. velezensis* CB13'ün

toprağı ve bitki kök bölgesini diğer *Bacillus* spp. ile birlikte istikrarlı bir şekilde kolonize ederek topraktaki *S. rolfsii* çoğalmasını etkili bir şekilde engellediğini, *B. velezensis* CB13'ün yer fıstığı kök çürüklüğünün biyokontrolü için umut verici bir biyolojik mücadele etmeni olduğunu vurgulamışlardır.

Li ve ark. (2023a), yer fıstığı bitkilerinin rizosferik toprağından izole ettikleri ve *Bacillus amyloliquefaciens* olarak tanımladıkları HSE-12 izolatının aralarında *Sclerotium rolfsii*'nin de bulunduğu çeşitli fungal hastalık etmenlerine (*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *F. graminearum*, *F. pseudograminearum*, *Alternaria alternata*, *Botryosphaeria dothidea*, *Bipolaris sorokiniana* ve *Cryphonectria parasitica*) karşı biyokontrol etkinlik gösterdiğini bildirmişlerdir. *Bacillus amyloliquefaciens* HSE-12 izolatının hidrolitik enzimlerin yanı sıra etilenglikol ve 2,3-bütandiol gibi antagonistik ve probiyotik etkileri olan uçucu organik bileşikler üretme yeteneğine sahip olduğunu, besi yerlerinde bağlı olan potasyum (10.54 mg/L) ve fosfor bileşiklerini çözdüğünü (168.34 mg/L), siderofor ürettiğini, azot fiksasyonu (17.35 mg/g) yapmak suretiyle bitki büyümesini teşvik eden birçok etki mekanizmasına sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Li ve ark. (2023b), sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden 68 adet bakteri izolatını izole etmişlerdir. Elde edilen bakteriler arasından 6 izolatın *Sclerotium rolfsii*'ye karşı antagonistik etkinlik sergilediği, F-1 ve R-11 izolatlarının ikili kültür petrilerinde 20.25 ve 15.49 mm'lik engelleme bölgeleri ile en güçlü aktiviteye sahip izolatlar olduğunu belirlemişlerdir. Bu iki türü morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine ve 16S rRNA dizilemesine dayanarak sırasıyla *Bacillus subtilis* ve *Burkholderia contaminans* olarak tanımlamışlardır. Bakterilerin kültür filtratları *S. rolfsii*'nin misel gelişimini, sklerot oluşumunu ve çimlenmesini güçlü bir şekilde engellemiş, ayrıca izolatın ürettiği uçucu (volatile) gaz formundaki bileşenleri fungus büyümesini etkili bir şekilde engellediğini bildirmişlerdir. Saksı denemelerinde, *Bacillus subtilis* F-1 ve *Burkholderia contaminans* R-11 izolatlarının uygulandığı yer fıstığı bitkilerinde kök çürüklüğü hastalığını sırasıyla %77.13 ve %64.78 oranlarında önemli düzeyde baskıladığını, her iki uygulamanın etkinliğinin de carbendazim ilacı tarafından gösterilen etkinliğe (%35.22) kıyasla önemli düzeyde ($P<0.05$) daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. *Bacillus subtilis* F-1 ve *Burkholderia contaminans* R-11 uygulanmış bitkilerde, PAL, polifenol oksidaz (PPO) ve peroksidaz (POX) gibi bitki savunma enzim aktivitelerinde artışlar olduğunu, sonuçta fungal etmene karşı gösterilen antagonistik etkinlikte gerek bakteri izolatlarınca doğrudan

üretilen antifungal bileşiklerin, gerekse yer fıstığı bitkilerinde bakterilerin sistemik direnci teşvik eden enzimlerin rol oynadığını saptamışlardır.

Li ve ark. (2023c), yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığının biyolojik mücadelesinde etkili bakteriyel izolatları elde etmek amacıyla farklı bitki köklerinden izolasyon yaptıklarını, yabani nane bitkilerinin rizosferik toprak örneklerinden agar disk seyreltme ve ikili kültür deneyi ile LY-1 izolatını elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan morfolojik, 16S rDNA ve *gyrA* gen bölgesinin dizi analizlerine dayanarak elde ettikleri bakteri izolatını *Bacillus subtilis* olarak tanılamışlar, *Bacillus subtilis* LY-1'in bakteri süspansiyonu ve hücre kültür filtratının *Fusarium oxysporum*, *F. proliferatum* ve *F. solani*'nin misel büyümesini önemli ölçüde engellediği, kültürlerden elde edilen uçucu organik bileşiklerin misel büyümesi üzerindeki antagonistik etkinliğinin zayıf kaldığını, *B. subtilis* LY-1 izolatından elde edilen kültür filtratının %20 konsantrasyonun *F. oxysporum*, *F. proliferatum* ve *F. solani*'nin konidi üretiminin engellenmesinde >%72.38, konidi çimlenmesinin engellenmesinde ise >%62.37 oranında etkinlik gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Yapılan biyokimyasal ve moleküler analizler sonucunda *B. subtilis* LY-1'den elde edilen kültür filtratın proteaz, selülaz, amilaz, kitinaz ve beta-1,3-glukanaz aktivitesi gösterdiğini, ayrıca bir antifungal lipopeptid olan iturini kodlayan bir gen içerdiğini belirlemişlerdir. Serada yapılan saksı denemelerinde, *B. subtilis* LY-1 kültür filtratının yer fıstığının büyümesini önemli ölçüde desteklediğini, bitkinin taze ve kuru kütlesini kontrole kıyasla sırasıyla %30.77 ve %27.27 oranında arttırdığını, yer fıstığı bitkilerinin *F. oxysporum*'a karşı direncini arttırdığını ve biyokontrol etkinliğinin %44.71'e ulaştığını saptamışlardır. Sonuçta bitki büyümesini teşvik eden *B. subtilis* LY-1 izolatının yer fıstığını *Fusarium* spp. enfeksiyonundan etkili bir şekilde koruduğunu bildirmişlerdir.

Shuang ve ark. (2024), yer fıstığı güney yanıklığı hastalığı etmeni *Sclerotium rolfsii* ile enfektelenmiş bitkilerin rizosferinden 570 bakteri izolatını seyreltme kaplama yöntemi ile izole etmişlerdir. Elde ettikleri bakteriler arasından seçilmiş 32 izolatın antagonistik etkinliği ikili kültür testleri ile *S. rolfsii*'ye karşı denenmiş, test edilen izolatlar arasından 4 izolatın (HNZZ23, HNKF5, HNXX14 ve HNXX169) *S. rolfsii* üzerinde yüksek antagonistik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bakterilerin fermente edilen süspansiyonlarının patojenin misel büyümesi üzerindeki engelleme oranlarının sırasıyla %85.30, %85.88, %85.16 ve %91.00 olduğunu, bakteriler tarafından hastalık etmeninin

sklerot çimlenmesinin sırasıyla %100, %85.33, %82.67 ve %93.33 oranlarında maksimum düzeylerde engellendiğini saptamışlardır. Saksı denemelerinde HNZZ23 ve HNXX14 izolatlarının yer fıstığı güney yanıklığı üzerindeki kontrol etkilerinin sırasıyla %30.50 ve %25.73 olduğu, HNZZ23 izolatının ayrıca yer fıstığı bitkilerinin büyümesini önemli ölçüde desteklediği gözlemlenmiştir. Yapılan taksonomik tanımlama çalışmaları sonucunda HNZZ23, HNKF5, HNXX14 ve HNXX169 izolatları sırasıyla *Bacillus atrophaeus*, *B. pumilus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *B. subtilis* olarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda, hastalığın görüldüğü topraklarda yetişen yer fıstığı bitkilerinden izole edilen PGPR izolatlarından *Bacillus atrophaeus* HNZZ23, *B. pumilus* HNKF5, *Pseudomonas aeruginosa* HNXX14 ve *B. subtilis* HNXX169' un *S. rolfii*'ye karşı oldukça etkili, biyokontrol potansiyele sahip biyolojik mücadele etmeni mikrobiyomlar olduğunu vurgulamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyalini yer fıstığı yetiştiriciliği yapılan üretim alanlarından alınan kök çürüklüğü, sap çürüklüğü ve kuruma şeklinde belirtilere sahip hastalıklı bitki örnekleri, bu bitkilerden izole edilen toprak kökenli farklı fungus türleri, hastalığın görüldüğü tarlalardaki sağlıklı bitkilerin kök, gövde, yaprak ve tohum gibi farklı organlarındaki bakteriyel mikrobiyom türleri, biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılan besiyerleri, moleküler çalışmalarda kullanılan kimyasal ve sarf malzemeleri ile laboratuvar alet ve ekipmanları oluşturmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Yer fıstığı Tatlalarında Toprak Kökenli Fungal Hastalıkların Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi

Bu kapsamda yer fıstığı bitkisinin yetiştiriciliğinin yapıldığı Osmaniye İlinde ekimden hasata (bitki çıkışı, çiçeklenme, meyve bağlama, hasat öncesi) kadar olan dönemde yer fıstığı ekim alanlarında sörveyler yapılmıştır (Şekil 3.1). TÜİK verilerine dayanılarak örnekleme yapılması gereken en düşük alanın tespiti ekiliş alanının %1'i esas alınarak belirlenmiştir. Örnek alma yöntemi Bora ve Karaca (1970)'nın bölümlü örnekleme metoduna göre yapılmıştır. Bu metoda göre yer fıstığı ekimi yapılan her ilçe, bir bölüm olarak esas alınmış olup, işgücüne göre ekiliş alanının fazla olduğu bölümlere öncelik verilmiştir. Ayrıca seçilen tarlaların bölgeyi temsil etmesine dikkat edilmiştir. Tatladaki rastlanma sıklığı (disease incidence) belirlemek için basit ortalama formülü kullanılmıştır. Bu amaç için yer fıstığı tarlasının 10 ayrı yerinde yapılan sayımlarda tespit edilen hasta bitki sayısı sayılan toplam bitki sayısına oranlanarak hesaplanmıştır (Formül 3.1).

Bölgedeki hastalık yaygınlık oranını (disease prevalance) belirlemek için basit ortalama formülü kullanılmıştır. Bu amaç için bölgede hastalık belirtisi gözlenen toplam tarla sayısı, bölgede sörvey yapılan toplam tarla sayısına oranlanarak hesaplanmıştır (Formül 3.2).



Şekil 3.1. Osmaniye'nin farklı ilçelerinde yetiştirilen yer fıstığı tarlalarında yapılan sörveylerde tespit edilen tipik hastalık belirtileri (ok)

$$\textbf{Tarlada Hastalık rastlanma sıklığı} = \left(\frac{\text{Tarladaki toplam hasta bitki sayısı}}{\text{Tarlada sayılan toplam bitki sayısı}} \right) * 100 \quad (3.1)$$

$$\textbf{Hastalık yaygınlık oranı} = \left(\frac{\text{Bölgede hastalıklı toplam tarla sayısı}}{\text{Bölgede sörvey yapılan toplam tarla sayısı}} \right) * 100 \quad (3.2)$$

Sörvey yapılan her tarlada örnekleme noktası tarlayı temsil edecek şekilde 5 eşit alana ayrılmış, her alandan 10'ar bitki olmak üzere her tarlada toplam 50 yer fıstığı bitkisi makroskobik olarak gözlemlenmiştir. Her tarladan o tarlayı temsil eden farklı hastalık belirtisi gösteren bitkiler sökülerek kese kağıtlarına konulmuştur (Uçkun ve Yıldız, 2004). Kese kâğıtlarına konulan hastalıklı yer fıstığı bitki örnekleri soğuk zincirde (buz aküleri ile destekli kutu termoslarda) izolasyonları yapılmak üzere laboratuvara getirilmiştir.

3.2.2. Yer fıstığı Bitkilerinden Toprak Kökenli Fungal Hastalık Etmenlerin İzolasyonu

Osmaniye ilinin Merkez, Toprakkale, Kadirli, Sumbas, Düziçi ve Bahçe ilçelerine bağlı üretim alanlarından yapılan sörveyler sonucunda elde edilen hastalıklı bitki dokularından fungusların hastalık etmenlerinin izolasyonu ve saflaştırması yapılmıştır. Farklı bölgelerden temin edilen hastalıklı yer fıstığı bitkilerinden fungal hastalık etmenlerini izole etmek için hastalıklı bitki örneklerinin kök, kök boğazı, kapsül ve gövdeleri laboratuvarda akan çeşme suyu altında yıkandıktan sonra kök, meyve ve gövde kısımlarına ayrılmıştır. Enfeksiyon nedeni ile nekrozlaşmış ve sağlam dokuları içeren bitki parçaları, temiz bir bisturi ile 5 mm² büyüklüğünde kesilmiştir. Kesilen parçalar izolasyon öncesi %2'lik Sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 2 dakika yüzey dezenfeksiyonuna bırakılmıştır. NaOCl çözeltisinden alınan hastalıklı doku parçaları, steril saf suda 2 kez bekletildikten sonra (her birinde 5 dak.) durulanmış, daha sonra steril kurutma kâğıtlarında 10 dak. süre ile kurumaya bırakılmıştır.

Her bir bitki örneğinden alınan 4 adet dezenfekte edilmiş doku parçaları, 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat içeren genel besi ortamı olan Patates Sukroz Agar (PSA) üzerine konulmuştur. Petriler 25±1°C ayarlı inkübatörlerde karanlık ortamda 5 gün süre ile inkübasyona bırakılmış, günlük olarak gelişen fungal koloniler birbirleri ile temas etmeden önce PSA besi ortamında saflaştırılarak gruplandırılmıştır. Gruplandırılan isolatlar patojenite testleri, morfolojik ve moleküler tanılama çalışmalarında kullanılmak üzere +4°C saklanmıştır.

3.2.3. Yer fıstığı Bitkilerinden Toprak Kökenli Fungal Etmenlerinden Tek Spor İzolatların Elde Edilmesi

İzole ettiğimiz saf fungal türlerden *Aspergillus niger*, *Botryosphaeria* grubu ve *Fusarium* spp.'ye ait spor oluşturan isolatlar PSA ortamına ekimleri yapılmıştır. PSA besi yerinde gelişen 5 günlük fungal isolatlardan 10² spor/ml konsantrasyonunda spor süspansiyonları hazırlanmış olup, spor süspansiyonları içerisinde 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat içeren %2'lik Su Agar (WA) üzerine steril bagetle yayıldıktan sonra 25±1°C'ye ayarlı inkübatörler içerisinde karanlıkta 6 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon

sonunda çimlenen tek sporlar üzerinde geliştiği WA ile yeni PSA ortamına aktarılacak suretiyle tek spor izolatları elde edilmiştir (Choi ve ark., 1999). Tek spor izolatları patojenite, tanılama çalışmalarının yanı sıra, bölgede en yaygın hastalık etmen(leri)nin rutin biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmak üzere +4 °C’de saklanmıştır. Tek spor kültürleri ayrıca patojenitelerini kaybetmemeleri için kuru filtre kâğıdında geliştirilerek zarf içerisinde -20°C’de korunmuştur.

3.2.4. Toprak Kökenli Fungal Hastalık Etmenlerin Morfolojik Tanılanmaları

Fungal hastalık etmenleri öncelikle PSA ortamında gelişen koloni büyümeleri, pigment oluşumu, sporulasyon ve mikrosklerot oluşumu yönünden incelemeler yapılmıştır. Yapılan sörveylerde yer fıstığı fidelerinde kök ve kök boğazı çürüklüğü ve incilmesi, kök boğazına yakın gövdelerin iletim demetlerindeki kararmalardan yapılan izolasyonlardan elde edilen fungusların kültür gelişimi, rengi, sporulasyon ve misel yapıları, sklerot vb. gibi ön morfolojik çalışmalar sonucunda izolatların *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Botryosphaeria* grubu (*Lasiodiplodia theobromae* ve *Lasiodiplodia pseudotheobromae*), *Fusarium* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclerotinia sclerotiorum* olarak ön tanılamaları yapılmış, bu türler dışında kalan farklı misel ve spor yapılarına sahip fungal etmenlerin teşhis çalışmaları daha sonra tamamlanmıştır.

Toprak kökenli hastalık etmenlerinden *R. solani*’nin teşhisi Van der Plaats-Niterink (1981), *M. phaseolina*’nın teşhisi Holliday ve Punithalingam (1970), *S. sclerotiorum*’un teşhisi Mordue ve Holliday (1976), *S. rolfsii* (syn. *Corticium rolfsii*)’nin teşhisi Mordue (1974); *Aspergillus* spp., teşhisi ise Ahmet ve Ravinder Raddy (1993)’na göre yapılmıştır.

Fusarium spp.’ne ait izolatların tanılanması PSA besiyerinden ziyade Karanfil Yaprak Agar (Carnation Leaf Agar, CLA) besiyeri üzerinde gelişen fungal yapıları (makro-mikro konidi şekli, büyüklük, koloni rengi, klamidosporların varlığı gibi) Leslie ve Summerell, (2006) tarafından bildirilen özellikler gözönüne alınarak yapılmıştır.

Botryosphaeria grubu fungal etmenlerden *Lasiodiplodia theobromae* ve *Lasiodiplodia pseudotheobromae* izolatların besiyeri üzerinde piknit yatakları ve konidi gibi morfolojik yapıların teşvik edilmesi amacıyla PSA üzerinde gelişen izolatlar %2 Su Agar (WA) üzerine aktarılmıştır. Misel disklerin hemen yanına piknit yatakları ve spor

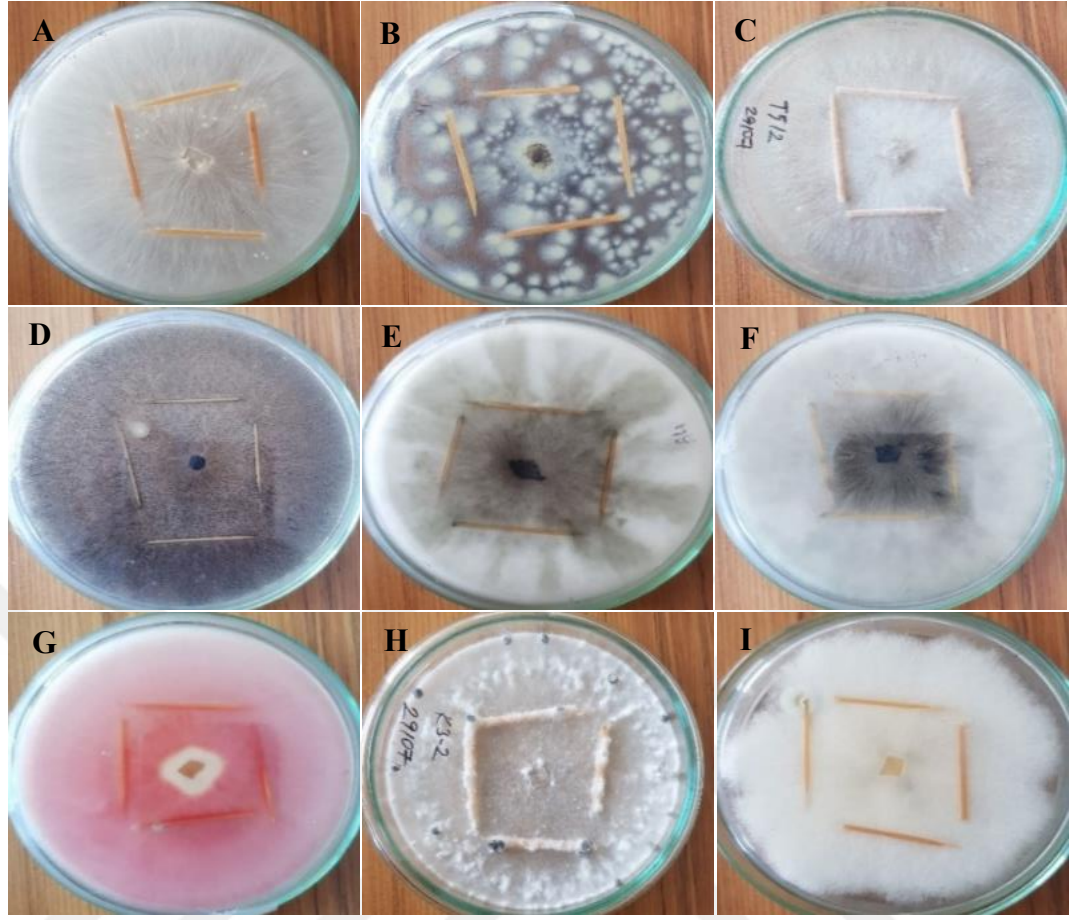
oluşumunun teşvik edilmesi için steril edilmiş kındıra bitkisi (*Imperata cylindrica*) yaprağı ince kesitler halinde yerleştirilmiştir (Pipattanapuckdee ve ark., 2019). Tüm fungal kültürler aktarıldıkları besi yerleri üzerinde 25°C’de 5-10 gün inkübatörler içerisinde inkübasyona bırakılmışlardır. Fungal türlerin konidi (n=50) ölçümleri Nomarki DIC Ataçmanlı trinoküler araştırma mikroskobu (Olympus BX-51, Japan) altında belirlenmiştir.

Morfolojik yapılarına göre ön teşhisleri yapılmış saf fungal izolatlar rutin testlemeler ve moleküler analizler için 4°C’de buzdolabında, uzun süreli korumak amacıyla patojenitelerini kaybetmemeleri için steril filtre kâğıdında (Whatman No 4) geliştirilerek zarf içerisinde -20°C’de korunmuştur.

3.2.5. Patojenite Çalışmaları

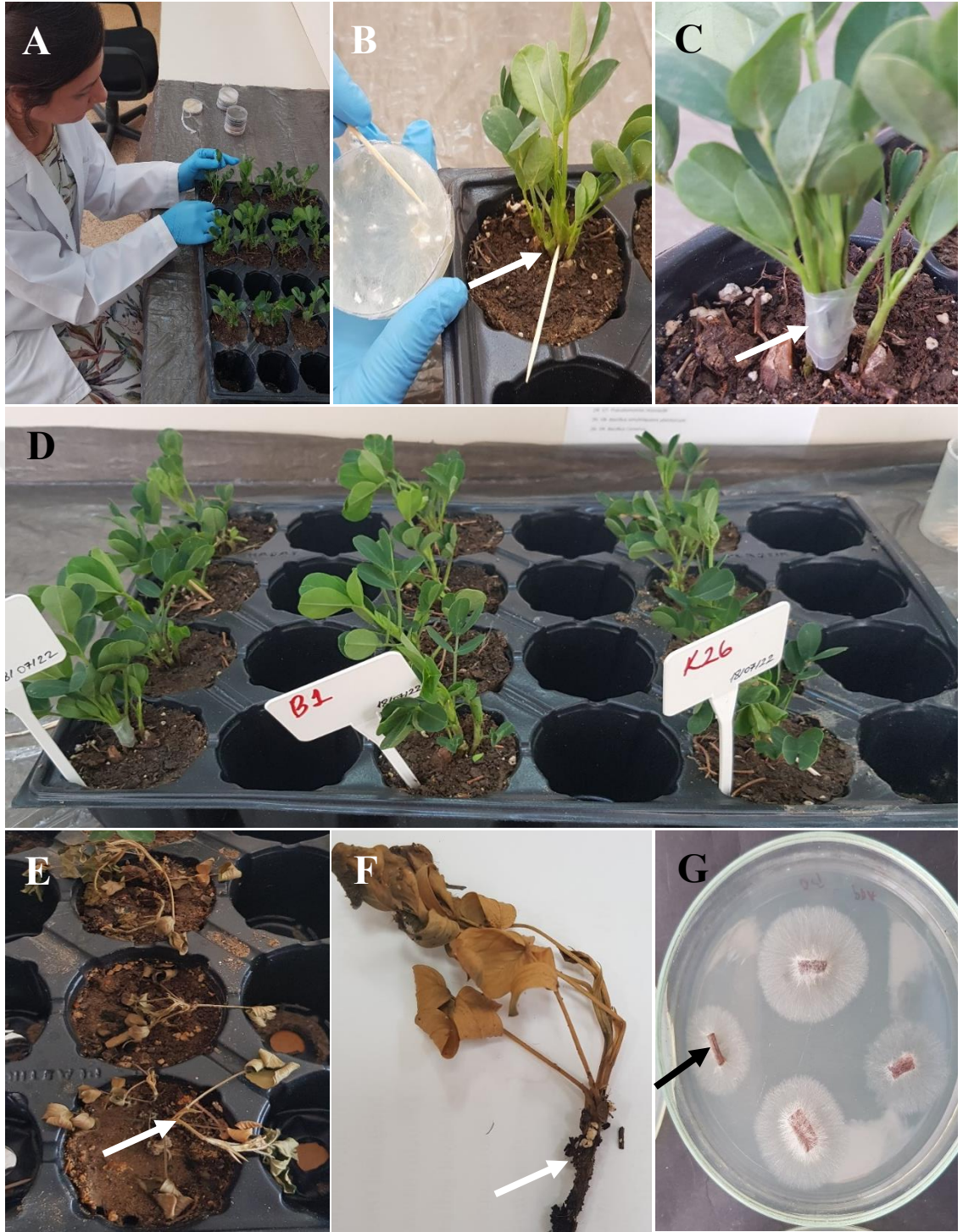
Patojenite çalışmalarında her bölgeyi/tarlayı temsilen seçilen farklı morfolojik yapıya sahip fungal türlere ait temsili izolatların tek spor/misel izolatlarından elde edilen izolatlar kullanılmıştır. Fungal izolatlar PSA içeren petri kaplarına aktarıldıktan sonra 4 kenarına steril edilmiş kürdanlar yerleştirilmiştir. Fungal izolatların gelişen miselleri tamamen kürdanların yüzeyini kaplaması amacıyla 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.2).

Patojenite testlerinde kullanılan yer fıstığı bitkilerinin (cv. NC-7) yetiştirilmesinde 6x4 gözlü viyoller (30 cm en x 45 cm boy x 8 cm derinli x 7 cm çapında) kullanılmıştır. Viyollere daha önceden steril edilmiş toprak: torf karışımları konulmuştur. Her viyol gözüne 2-3 adet yer fıstığı tohumları ekildikten sonra bitkiler 2-3 hafta süre ile gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen sağlıklı bitkiler daha sonra her viyol gözünde 1 bitki olacak şekilde seyreltilmiştir (Şekil 3.3D). Patojenite testlerinde gerçek yaprağa sahip, 3 haftalık bitkiler kullanılmıştır (Şekil 3.3A-C). Sağlıklı bitkilerin toprak seviyesinin hemen üstünde bulunan gövdeleri öncelikle steril kürdan ile delindikten sonra bu noktalara 5 günlük fungus kültürlerinde bulunan ve hastalık etmenlerinin miselleri ile kaplı kürdanlar batırılmak suretiyle inokulasyonları yapılmıştır (Şekil 3.3A-B). Patojenite testinin bir diğer yöntemi olarak, kök boğazı bölgeleri steril kürdan veya bistüri ile 1 mm çapında yaralar açılıp, açılan yaralara, fungus kültüründen alınan besi ortamlı misel parçacıklar doğrudan yerleştirilerek (Şekil 3.3C), üzerleri steril pamuk ve parafilm ile kapatılmıştır (Vural ve Soylu, 2012).

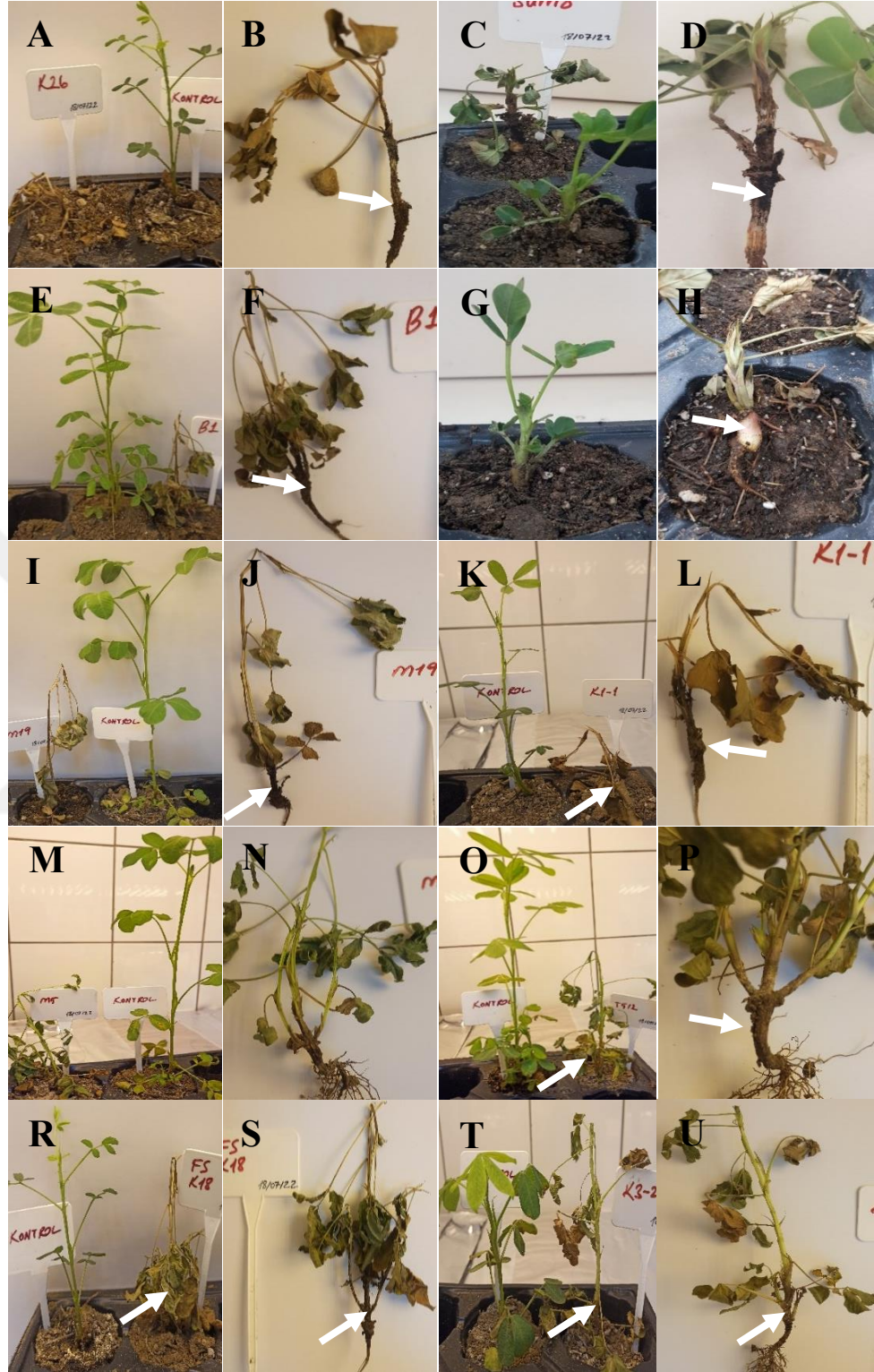


Şekil 3.2. Fungal etmenlerin patojenite test inokulumları. *S. rolfsii* (A), *A. niger* (B), *R. solani* (C), *M. phaseolina* (D), *L. theobromae* (E), *L. pseudotheobromae* (F), *F. solani* (G), *S. sclerotiorum* (H), *Fusarium* spp. (I)

Her iki yöntemle inokulasyonu yapılan bitkiler HMKÜ Bitki Koruma Bölümü, Herboloji Laboratuvarlarında yer alan 16:8 aydınlık/karanlık foto periyoda, 20-24°C sıcaklığa ayarlanmış iklim odalarında 4-5 hafta süre ile inkübasyona bırakıldıktan sonra hastalık belirtileri ortaya çıkıncaya kadar gözlem altında tutulmuştur (Şekil 3.3 ve Şekil 3.4). Hastalığın teşviki için viyoller kontroller doğrultusunda sulanmıştır. Farklı türlere ait fungal izolatlar tarafından inokule edilen yer fıstığı bitkilerinde hastalık belirtileri inokulasyondan 4-5 hafta sonrasına kadar günlük olarak kontrol edilmiştir. Hastalık belirtileri gözlenen bitkiler kaydedildikten sonra belirtileri doğal koşullardaki tarla belirtileri ile kıyaslanmıştır. Hastalık etmenleri inokule edildikleri bitki dokularından yeniden izole edilerek (Şekil 3.3F-G) orijinal kültürleri ile morfolojik ve mikroskopik olarak tanılandıktan sonra tüm re-izolatlar orijinal kültürlerle birlikte müteakip çalışmalarda kullanılmak üzere PSA besi yeri üzerinde 4 °C’de muhafaza edilmişlerdir.



Şekil 3.3. (A-C) Patojenisite testinde viyollerde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinin kök boğazı bölgelerine kürdan ve misel disk koyma yöntemleriyle inokulasyonları (ok). (D) İnokule edilen bitkilerin yetiştirme odalarında bekletilmesi. (E-F) İnokule edilen bitkilerde gözlenen tipik hastalık belirtileri (ok). (G) Patojenite testi yapılan bitkilerden hastalık etmenlerinin izolasyonu (ok)



Şekil 3.4. Farklı fungal hastalık etmenleri tarafından ptaojenite test sonucu oluşan tipik belirtiler. (A-B) *L. theobromae* K26, (C-D) *A. niger* Sum8, (E-F) *L. pseudotheobromae* B1, (G-H) *L. theobromae* K20, (I-J) *F. brachygibbosum* M19, (K-L) *F. equiseti* K1-1 (M-N) *M. phaseolina* M5, (O-P) *R. solani* T5-2, (R-S) *F. solani* K18, (T-U) *S. sclerotiorum* K3-3 izolatları tarafından oluşturulan tipik belirtiler (ok).

3.2.6. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Teşhisi

Morfolojik olarak ön teşhisleri ve patojenite çalışmaları tamamlanmış olan izolatlar arasından *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Botryosphaeria* grubu, *Fusarium* spp (*Fusarium oxysporum*, *F. incarnatum*, *F. verticillioides* ve *F. solani*) gibi fungal hastalık etmenlerin tanılamaları MALDI-TOF ile teyit edilmiştir. Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) ile teşhislerinin yapılabilmesi için izolatlar PSA ortamında 5-7 gün süre ile geliştirilmiştir. Gelişen kültürlerden alınan misel diskleri (5 mm çapında) içerisinde streptomycin sulfate (50 µg ml⁻¹) içeren patates sukroz broth (PSB) sıvı besi yeri (8 ml) bulunan tüplere aktarılmıştır. Fungal izolatlar tüplerde 3 gün süreyle rotatörde gelişmeye bırakılmıştır. MALDI-TOF MS analizleri için sıvı besiyerinde gelişen misellere formik asit etanol ekstraksiyon işlemleri uygulanmıştır (Soylu ve ark., 2023). Flex control software ile oluşturulan protein spektrumları Biotyper Real-Time Classification (RTC) yazılımı (Biotyper 3.0; Microflex LT; Bruker Daltonics) ile analiz edilerek cihazın kütüphanesinde yer alan referans izolatların spektrumları ile karşılaştırılarak tür düzeyinde tanılanmışlardır (Ferreira ve ark., 2011).

3.2.7. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Moleküler Tanılanması

MALDI-TOF MS analizleri ve patojenite çalışmaları sonucunda %50'nin üzerinde enfeksiyon oluşturan türler moleküler karakterizasyon çalışmasında kullanılmak üzere seçilmiştir.

Bu çalışma için öncelikle PSA besi yerinde 5-7 boyunca geliştirilen kültürlerden DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. PSA besi ortamında geliştirilen kültürden bistüri ile kazılarak bir miktar fungus hifi 2 ml ependorf tüplerine aktarılmıştır. Sonra homojenizatör yardımıyla bu hifler parçalanmıştır. Yeterince parçalanan hiflerden DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany) yardımı ile DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sırasında şu aşamalar izlenmiştir; parçalanan örneklerle 400 µl Buffer AP1 ve 4 µl RNase A eklenip vorteksleme işlemi yürütülmüştür. Sonra 65°C'de su banyosunda 45 dk-1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 130 µl Buffer P3

eklenerek vortekslenip ve 5 dk buz üzerinde bekletilmiştir. Sonra 14.000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüjden gelen örneklerin sıvı kısımları alınarak QIAshredder mini spincolumn tüplerine aktararak tekrar santrifüj yapılmıştır. Sonra tüpün altında kalan sıvının 1.5 katı kadar Buffer AW1 solüsyonu eklenmiştir. Bu karışım DNeasy mini spincolumn tüplerine aktararak 6000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Sonra iki defa 500 µl buffer AW2 ekleyerek yıkama işlemleri yapılmıştır. Bu işlemden sonra santrifüjden alınan tüplerin altında kalan sıvı kısım atılmıştır. Son olarak 1.5 ml ependorf tüpüne DNeasy mini spincolumn tüpünün üst kısmı yerleştirilip 60 µl Buffer AE ekleyip 8000 rpm’de santrifüj edilip üst kısım atılmıştır. Ependorf tüpü içerisinde DNA elde edilmiştir. İzole edilen DNA konsantrasyonu Qubit 3.0fluorometer cihazı ile ölçülmüştür. Ölçüm için öncelikle örnek başına 1.5 ml ependorf tüplerine 199 µl Qubit Buffer ve 1 µl Qubit reagent boyası karıştırılarak stok oluşturulmuştur. Bu stoktan 0.5 ml ependorf tüplerine örnek sayısı kadar 190 µl dağıtılarak üzerlerine 2 µl DNA eklenerek toplam 200 µl’ye tamamlanmıştır. Kısa bir vorteks ve santrifüjden sonra okumaya geçilmiştir.

DNA konsantrasyonu spektrofotometrik (Nanodrop) ile ölçüldükten sonra örnekler için PCR işlemlerine geçilmiştir. Patojenite testlerinde tipik hastalık belirtilerine neden olmuş re-izolatlar arasından bölge/bitki çeşidini temsilen seçilen *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus niger*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium solani*, *Fusarium brachygibbosum*, *Lasiodiplodia theobromae* ve *Lasiodiplodia pseudotheobromae* izolatlarının tamamı öncelikle ITS gen bölgelerine spesifik evrensel primer çiftinin (ITS1/ITS4) kullanılması ile tanılanmışlardır (White ve ark., 1990). *Fusarium solani*, *Fusarium equiseti* ve *Fusarium brachygibbosum* izolatlarının moleküler tanılamalarında translation elongation factor-1α (*TEF-1α*) bölgesine spesifik EF1/EF2 primer çifti (O’Donnel ve ark., 1998; Geiser ve ark., 2004) kullanılmıştır. *Lasiodiplodia theobromae* ve *Lasiodiplodia pseudotheobromae* izolatlarının moleküler tanılanmasında *TEF-1α* gen bölgesine spesifik EF-1688F/EF11251R primer çifti (Alves ve ark., 2008) ile β-tubulin (*tub2*) gen bölgesine spesifik Bt2a/Bt2b primer çiftleri kullanılmıştır (Glass ve Donaldson, 1995). Çalışmalarda kullanılan primerler ve dizileri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Moleküler tanılama çalışmalarında kullanılan tüm izolatların *ITS*, *TEF-1α* ve *tub2* gen bölgelerine ait sekansları NCBI GenBank veri tabanında BLASTn ile taranmış NCBI

GenBank veri tabanından alınan farklı türlere ait sekans bilgileri ile karşılaştırılmak suretiyle tanılamaları kaydedilmiştir.

Çizelge 3.1. Fungal etmenlerin moleküler tanılamalarında kullanılan primerler ve gen dizilimleri

Bağlanma Bölgesi	Primer İsmi	DNA Uzunluğu	Gen Dizilimi (5'→3') Q- Bank
Internal	ITS1F	550-650bp	5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'
Transcribed	ITS-4R		5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
Spacers (ITS)	ITS-5F		5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'
Translation	EF1	648 bp	5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3'
Elongation	EF2		5'-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3'
Factor 1-A (TEF1-α)	EF1-688F	495-525 bp	5'- CGGTCACCTTGATCTACAAGTGC-3'
	EF1-1251R		5'- CCTCGAACTCACCAGTACCG-3'
β-tubulin (tub2)	Bt-2a	716 bp	5'-GGT AAC CAA ATC GGT GCT GCT TTC-3'
	Bt-2b		5'-ACC CTC AGT GTA GTG ACC CTT GGC-3'

3.2.8. Biyolojik Mücadele Etmeni Bakteri İzolatların Biyolojik Mücadele ve Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi Çalışmalarında Kullanılan Besi Yerleri

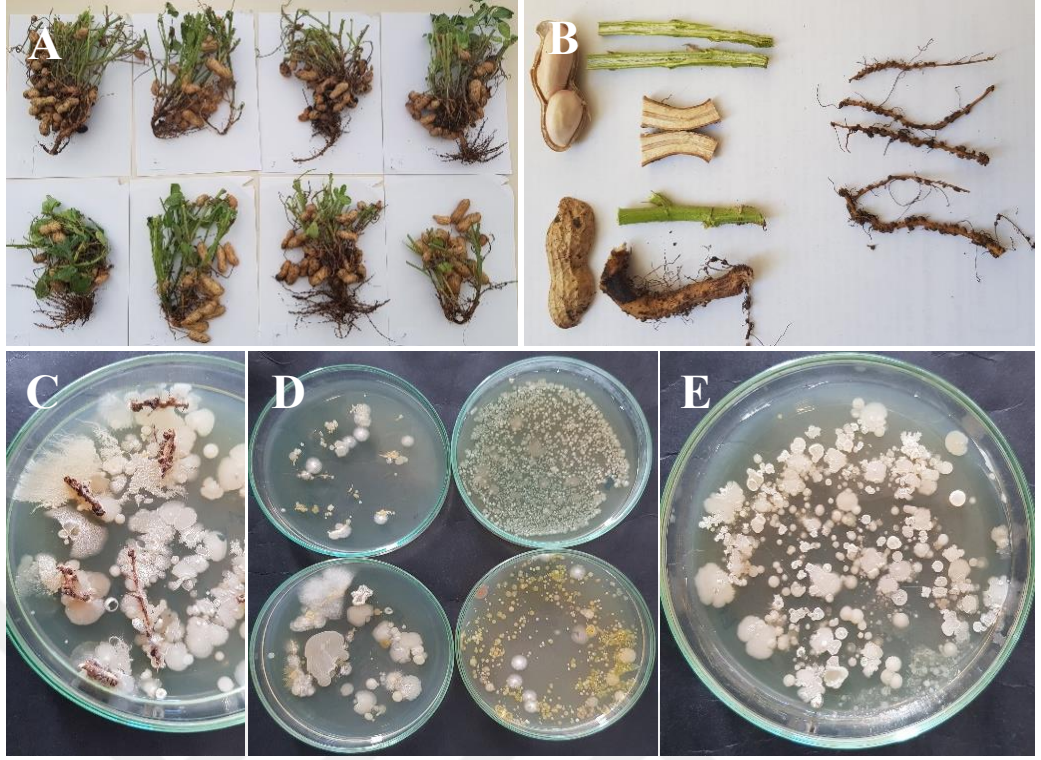
Çalışmada kullanılan tüm besiy ortamları kullanılmadan önce 121°C'de 15 dk. otoklav edilmiştir. Denemelerde bakteriyel etmenlerin izolasyonu, tanı ve etki mekanizmalarının belirlendiği çalışmalarda kullanılan besiy yerlerinden King's B Agar (KB), Luria Bertani Broth (LB), Nutrient Agar (NA), Trypic Soybean Agar (TSA) hazır ticari olarak (Merck, Darmstad, Germany) satın alınmak suretiyle çalışmalarda kullanılmıştır. *In vitro* ikili kültür etkinlik testlerinde patates sukroz agar (PSA) besiy yeri kullanılmıştır. Antagonist ve PGB bakterilerin etki mekanizmalarından; Protease enzim aktivitesi: %2 süt tozu içeren LB ortamında (SMLBA), Siderofor üretimi: Crom Azurol S (CAS) ortamında, Fosfor çözme etkinliği: Pikovskaya Agar (PVK) ortamlarında önceden bildirildiği şekillerde hazırlanıp kullanılmıştır.

3.2.9. Bakteri İzolatlarının İzolasyonu, Seçimi ve Tanılanması

3.2.9.1 Bakteri İzolatlarının Sağlıklı Bitkilerden İzolasyonları

Çalışmalarda kullanılan antagonist/PGPB karakterli epifitik ve endofitik bakteriler Osmaniye ilçesinde yapılan hastalık surveylerinde hasta bitkilerin yanındaki sağlıklı bitkilerin kök, gövde, sağlıklı bakla ve tohumlarından elde edilmiştir (Şekil 3.5 A-B). Endofit bakterilerin izolasyonunda alınan parçalar, akan çeşme suyu altında toprak ve diğer materyallerden arındırmak maksadıyla yıkanmıştır. Nemli bitki dokuları kurutularak önce %70'lik etil alkolde daha sonra %2'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) solüsyonunda 2'şer dakika bekletilmiş, son olarak 1'er dak. olmak üzere 5 kez steril distile su içinde durularak yüzey dezenfeksiyonuna tabi tutulmuştur. Son durulama suyundan alınan 100 µl örnekler TSA besi yeri içeren petri kaplarına bagetle yayılmak suretiyle yüzey dezenfeksiyonunun yapıp yapılmadığı kontrol edilmiştir. Yüzey dezenfeksiyonu yapılan bitki kısımlarından alınan örnekler daha sonra steril 0.05 mM MgCl₂ tampon çözeltisi içinde steril havan içerisinde iyice ezildikten sonra 5 dak. bekletilmiştir. Buradan alınan süspansiyon sulandırıldıktan sonra KB ve TSA besi yeri içeren petri kaplarına bagetle yayılmıştır.

Epifit bakterilerin izolasyonunda kök parçacıkları 1-2 cm boyunda kesildikten sonra dezenfeksiyon amaçlı herhangi bir ön yıkama işlemine tabi tutulmadan doğrudan steril 0.05 mM MgCl₂ tampon çözeltisi içine konulup, 30 dak. 200 rpm orbital çalkalayıcı içerisinde çalkalamaya bırakılmıştır. Daha sonra buradan alınan süspansiyonlar 10²-10⁶ aralığında seri olarak sulandırıldıktan sonra KB ve TSA besi yeri içeren petri kaplarına bagetle yayılmıştır. Bakteri ekimlerinin yapıldığı petriler karanlıkta inkübatörler içinde 26 °C'de 2 gün süreyle inkübe edilmiştir. Farklı seçici ve genel besi yerlerinde gelişen bitki örneğini/bölgeyi temsil edecek şekilde, morfolojik olarak birbirinden farklı görülen bakteri kolonileri (Şekil 3.5 C-E) teşhis ve biyoetkinlik çalışmalarında kullanılmak üzere uygun besi yerleri üzerinde saflaştırılmıştır. İzolatlar rutin çalışmalar için TSA besi yeri içeren petri kabında (6 cm) veya eğik Agarda +4 °C de veya %40'luk steril Gliserol içeren CryoEppendorf tüpler içerisinde -80 °C de saklanmıştır.



Şekil 3.5. (A-B) Survey alanlarından temin edilen sağlıklı yer fıstığı bitkileri, kök, gövde ve baklaları. (C-E) Sağlıklı bitkilerin kök, gövde, bakla ve tohumlarından izole edilen farklı morfolojik yapıdaki bakteri izolatlarının besiyeri üzerinde genel görünüşleri

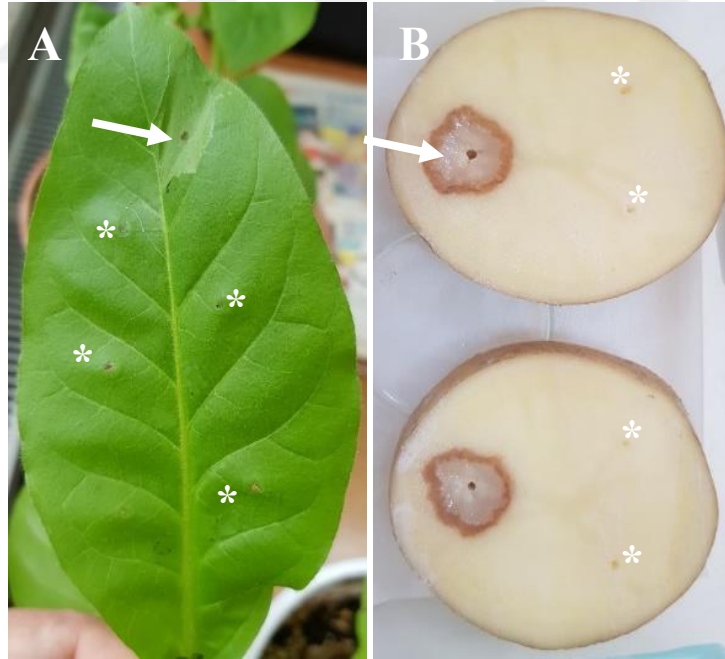
3.2.9.2 Bakteri İzolatlarının Seçimi

İzolasyon çalışmalarından elde edilen epifit ve endofit bakteri izolatları biyoetkinlik çalışmalarına alınmadan önce bitki patojeni olup olmadığının teyit edilmesi amacıyla tamamına “tütün bitkisinde aşırı duyarlılık (HR)” ve “patates yumrusunda yumuşak çürüklük testleri” uygulanmıştır.

Tütün HR testinde fasulye hale yanıklığı hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Pph12 izolatı pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Tüm bakteri izolatları öncelikle TSA besiyerinde 2 gün süre ile gelişmeye bırakılmış, daha sonra taze kültürlerden steril kürdan ile alınan bakteri kolonisi steril eppendorf içinde 0.05 mM $MgCl_2$ tampon çözeltisinde 10^8 hücre/ml yoğunluğunda süspansiyonları hazırlanmıştır. Bakteri süspansiyonları steril bir enjektör yardımıyla genç tütün (*Nicotiana tobaccum*) (8 haftalık) yaprağının alt yüzeyinden, bakteri izolatının bir damar arasına gelmesi ve izolatlar arasında bir damar boşluk bırakılması suretiyle bitkiye enjekte edilmiştir (Şekil

3.6A). İnokulasyondan 24-48 saat sonra inokule edilen alanlar kontrol edilerek reaksiyonlar kaydedilmiştir.

Tütünde yapraklarında HR oluşturmayan bakteri izolatlarının aynı zamanda yumuşak çürüklük hastalık etmeni olup olmadığının belirlenmesi için tüm izolatlara patates dilimi üzerinde yumuşak çürüklük testi uygulanmıştır (Şekil 3.6B). Sağlıklı patates yumruları öncelikle akan çeşme suyu altında iyice yıkanmış ve %3'lük NaOCl'de 1 dakika bekletilerek dezenfekte edilmiştir. Kurutulan patates yumrularının kabukları soyulduktan sonra steril bistürü ile 2 cm eninde dilimlenmiştir. Aseptik olarak elde edilen patates dilimleri steril nemli filtre kâğıdı içeren plastik saklama kaplarında bulunan steril petri kapakları üzerine yerleştirilmiştir. Patates dilimleri üzerinde açılan deliklere steril kürdan ile 2 günlük taze bakteri kültüründen alınan HR negatif bakteri izolatları bulaştırılmıştır. Uygulama sonrası saklama kapları kapatılarak 26 °C'de 2 günlük inkübasyona bırakılmıştır. Tüm izolatlar inokulasyon noktasında çürümelerin varlığı yönünden değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Çalışmalarda pozitif kontrol olarak *Pectobacterium caratovorum* subs. *caratovorum* izolatı kullanılmıştır.



Şekil 3.6. Sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden izole edilen bakteri izolatlarının tütün yaprağında HR (A) ve patates dilimi üzerinde yumuşak çürüklük testi (B). Bitki patojeni bakteriler (ok) tütün yaprağında ve patates dilimi üzerinde tipik belirtilere neden olurken, antagonist/PGPB bakteri izolatları inokulasyon noktalarında (*) belirti oluşmamıştır.

Tütün HR ve patates yumuşak çürüklüğü testlerinde bitki patojeni olmadığı belirlenen bakteri izolatların “insan patojeni” olup olmadığının tespit edilmesi amacıyla, izolatlar TSA besi yerine çizildikten sonra inkübatörlerde 37 °C’de en az 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda gelişme göstermeyen bakteri izolatları biyoetkinlik çalışmalarında “aday bakteri izolatları” olarak kullanılmıştır.

3.2.9.3 Bakteri İzolatlarının Teşhisi

Yapılan tüm patojenite testlerinde patojen olmadığı belirlenen bakteri izolatların tür düzeyinde tanılamaları MALDI-TOF MS ile yapılmıştır (Aktan ve Soylu, 2020). Saf kültürden alınan ve TSA besi yerinde 48 saat gelişen bakteri kolonisinden kürdan yardımıyla bir miktar (20-25 mg) bakteri kütlesi 300 µl steril su içeren ependorf tüplere eklenmek suretiyle bakteri süspansiyonu elde edilmiştir. Bu tüpler vorteks ile karıştırıldıktan sonra üzerine 900 µl saf ethanol (Merck, Damstrad, Germany) eklenmiş, 13.000 rpm’de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra altta kalan pellet (bakteri hücresi) tekrar 13.000 rpm’de 1 dakika daha santrifüj edilmiştir. Tüplerin ağzı açılarak pellet oda sıcaklığında yaklaşık 5 dakika bekletilmek suretiyle dip kısımda kalan olası ethanol tamamen ortamdan uzaklaştırılmıştır. Pellet üzerine %70 formik asit’ten 30 µl eklendikten sonra 13.000 rpm’de 1 dakika süreyle vortekslenmiştir. İçerisinde 30 µl formik asit bulunan tüplere 30 µl acetonitril eklendikten sonra tüpler tekrar 13.000 rpm’de 1 dakika santrifüj edilerek bakteri hücrelerinin dibe çökmesi sağlanmıştır. Tüplerin üst kısmındaki süpernatanttan mikropipetle alınan 1µl ekstrakt örnek plakasındaki (target) noktalara iki tekrarlı olacak şekilde eklendikten sonra plakalar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır (yaklaşık 3-5 dak.). Kuruyan örneklerin üzerine son olarak 1 µl MALDI-TOF matrix solüsyonu (HCCA, α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) eklenip örneklerin analizi için 2-3 dakika daha oda sıcaklığında tekrar kuruması sağlanmıştır. Tamamen kuruyan örnek tablası MALDI-TOF MS (Microflex LT; BrukerDaltonicsGmbH, Bremen, Germany) cihazına yüklenmiştir. Flex control software ile oluşturulan protein spektrumları Biotyper Real-Time Classification (RTC) yazılımı (Biotyper 3.0; Microflex LT; Bruker Daltonics) ile analiz edilerek cihazın kütüphanesinde yer alan referans izolatların spektrumları ile karşılaştırılarak tür düzeyinde tanılanmışlardır (Ferreira ve ark., 2011).

3.2.10. Bakteri İzolatlarının Fungal Hastalık Etmeninin *in vitro* Koşullarda Misel Gelişimini Engellenmesinde Gösterdiği Antagonistik Etkinliklerinin Belirlenmesi

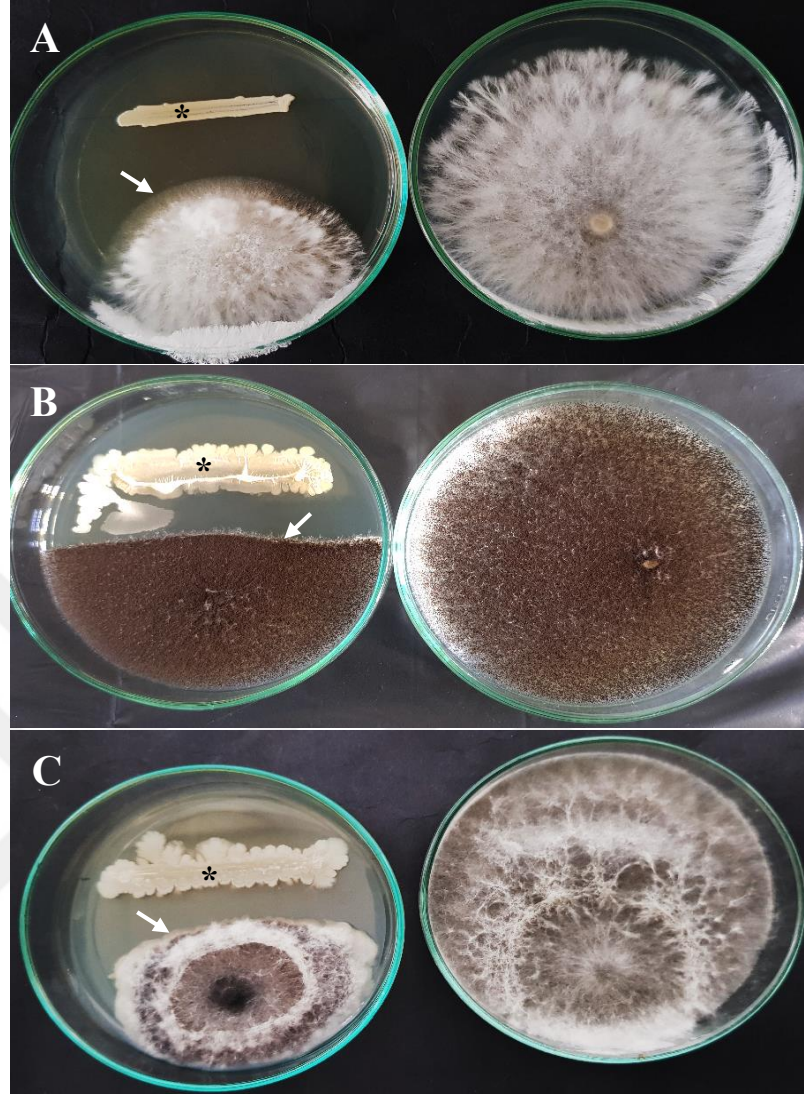
Sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilip tanınması yapılan, HR, yumuşak çürüklük testlerinde negatif sonucu veren ve insan patojeni olmayan bakteri izolatlarının sörvey yapılan tarlalarda yaygın görülen fungal hastalık etmeni izolatların misel gelişimini engelleme (antagonistik) potansiyelleri PSA içeren petri kaplarında (90 mm çapında) ikili kültür testleriyle belirlenmiştir (Şekil 3.7). Bakteri izolatları PSA besi yerinin üst noktasından 2 cm gerisine 4 cm genişliğinde öze ile çizilmiş ve petriler inkübatörler içerisinde karanlık ortamda 25°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Aktan, 2018). İnokulasyon noktasında gelişen bakteri kolonisinin 4 cm gerisine bölgede yaygın olarak tespit edilen 3 farklı hastalık etmeni izolatlarının (*S. rolfsii* M39KB, *A. niger* Sum8 ve *L. pseudothoebromae* K20) 5 günlük kültürlerinden alınan misel diskleri (6 mm çaplı) yerleştirilmek suretiyle ikili kültür petrileri oluşturulmuştur. Herhangi bir bakteri izolatu çizilmeyen kontrol petrilerine sadece fungal izolatın misel diskleri yerleştirilmiştir. İkili kültür petrileri 25 °C’ye ayarlanmış inkübatörler içinde kontrol petrileri tamamen gelişinceye kadar (3-5 gün) inkübasyona bırakılmıştır.

Kontrol petrilerinde patojenin petriyi tamamen kaplamasıyla birlikte tüm petrilerde bakteriye doğru yönelen fungal etmenlerin misel gelişimi (MG_u) ölçülerek kontrol petrilerdeki misel (MG_k) gelişim uzunluğuna (mm) kıyaslanmak suretiyle engelleme oranları % abbott formülüne göre (Formül 3.3) hesaplanmıştır (Soylu ve ark. 2021).

$$\text{Misel Gelişimini Engellenme (MGE)Oranı (\%)} = \left(\frac{\text{MG}_k - \text{MG}_u}{\text{MG}_k} \right) * 100 \quad (3.3)$$

Bakteri izolatlarının hastalık etmenlerinin misel gelişimlerini engelleme düzeylerine göre; (i) %0, **etkisiz**; (ii) %0.5-24.9, **zayıf düzeyinde engelleyen**; (iii) %25.0-49.9, **orta düzeyinde engelleyen**; (iv) %50.0> **güçlü düzeyde engelleyen** izolatlar olmak üzere 4 grup altında sınıflandırılmıştır (Dalal ve Kulkarni, 2013).

Her bakteri-fungus kombinasyonu için ölçümler 3 farklı petri kabında yapılarak deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.



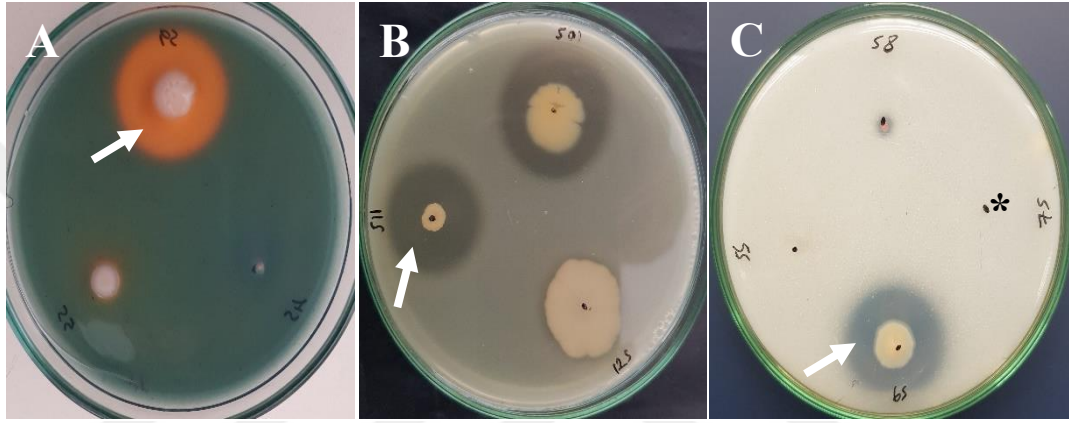
Şekil 3.7. Antagonist bakteri izolatının (*) ikili kültür testlerinde (A) *S. rolfsii*, (B) *A. niger*, (C) *L. pseudotheobomaea* izolatlarının misel gelişimini engelleme (ok) potansiyellerinin belirlenmesi

3.2.11. Bakteri İzolatlarının Hastalık Etmenlerini Engellemede Kullandıkları Antagonistik ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmaların Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının hastalık etmenlerini engellemede kullandıkları antagonistik ve bitki gelişimini teşvik eden etki mekanizmaların belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda kullanılan bakteri izolatları fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini engellemedeki etkinliklerine göre izole edildikleri bölgeleri temsil edecek şekilde seçilmiştir.

3.2.11.1 Bakteri İzolatlarının Siderofor ve Proteaz Üretme, Fosforu Çözme Etkinliklerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının antagonisitk mekanizmalardan siderofor üretme potansiyeli (Şekil 3.8A) ve proteaz enzimi (Şekil 3.8B) ile bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalardan biri olan fosfor çözme etkinliği (Şekil 3.8C) bu mekanizmalara spesifik besi ortamları üzerinde yürütülmüştür.



Şekil 3.8. Bakteri izolatların CAS Agar ortamında siderofor (A), SMLBA ortamında proteaz (B), PVK ortamında fosforu çözme (C) etkinliklerinin belirlenmesi. Etkinlik gösteren izolatların etrafında oluşturulan temizleme bölgeleri (clear zone) (ok) olarak gözlenmiştir. Etkinlik göstermeyen bakteri izolatlarının etrafında temizleme bölgesi oluşmamıştır (*).

Bakteri izolatların Proteaz enzimi üretimi, %2 yağı alınmış süt tozu (Skimmed Milk Powder, Merck, Darmstadt, Germany) içeren LB (SMLBA) ortamında (Perneel ve ark., 2007), siderofor üretimi chrome azurol S (CAS) içeren Agar ortamında (Schwyn ve Neilands, 1987), fosfor çözme potansiyeli ise tri kalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) ortamında (Kumar ve ark., 2012) önceden bildirildiği şekilde belirlenmiştir. TSA besi ortamında gelişen bakteri izolatların 2 günlük taze kültüründen steril kürdan ile alınan bakteri inokulumu, SMLBA, CAS ve PVK besi ortamları üzerine 3 farklı noktaya nokta şeklinde ekimleri yapılmıştır. İnokule edilmiş petriler etki mekanizmalarının farklılığına göre 26 °C’de 3-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. CAS besi yeri üzerine inokule edilmiş bakteri kolonisi etrafında sarı-turuncu renkte, SMLBA ve PVK besi yeri üzerine inokule edilmiş bakteri kolonisi etrafında şeffaf renkteki zonların (temizleme bölgesi) ortaya çıkması test edilen bakteri izolatının siderofor, proteolitik ve fosfor çözme

aktivitesi yönünden pozitif olduğunu göstermiştir. Oluşan zon çapının ve gelişen bakteri koloni çapına aşağıda verilen formülde olduğu gibi kıyaslanmasıyla her izolat için siderofor (*Sid-indeks*), proteolitik (*Pro-indeks*) ve fosfor çözme (*Fos-indeks*) etkinliklerini gösteren Etkinlik indeks değerleri (Formül 3.4) hesaplanmıştır (Vazquez ve ark., 2000). Her bakteri izolatı için ölçümler 3 farklı petri kabında yapılarak deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

$$\text{Etkinlik İndeksi} = \frac{\text{Temizlenen Bölge Çapı}}{\text{Bakteri Koloni Çapı}} \quad (3.4)$$

3.2.11.2 Bakteri İzolatlarının Amonyak (NH₃) ve Hidrojen Siyanür (HCN) Üretim Etkinliklerinin Belirlenmesi

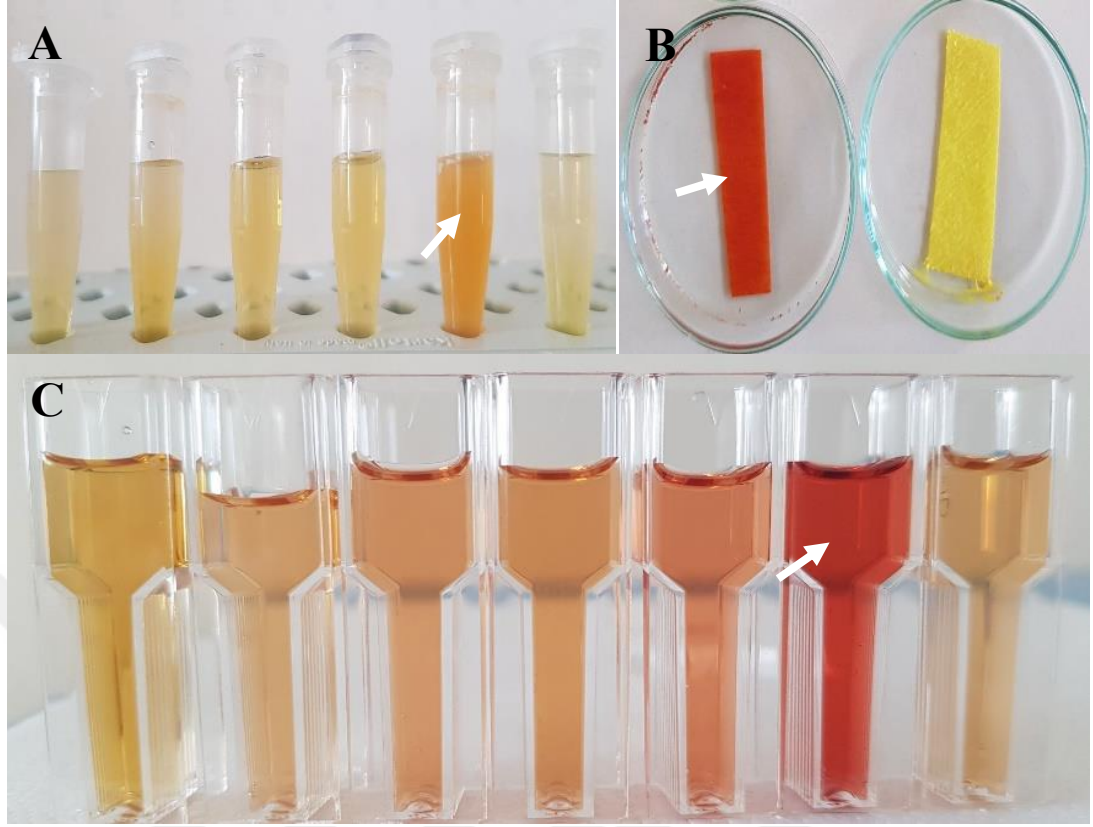
Bakteri izolatları tarafından üretilen amonyak (NH₃) etkinliği daha önceden bildirildiği şekilde Nessler's çözeltisi içerisinde belirlenmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992). Test edilen bakteri izolatlarının 2 günlük taze kültüründen steril kürdan ile alınan bakteri kitlesi, steril 5 ml peptonlu su içeren cam tüplere aşılanmıştır. Bakteri ile bulaştırılmış cam tüpler 150 rpm'e ayarlı inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 4 gün süreyle 26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı besi yerinde gelişen bakteri süspansiyonundan alınan 1 ml bakteri süspansiyonu 13.000 rpm de 10 dak. süreliğine santrifüj edildikten sonra süpernatant başka temiz bir eppendorfa aktarılmış ve üzerlerine 50 µl Nessler's çözeltisi ilave edilmiştir. Besi yeri içerisinde bakterilerce oluşturulan amonyak üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan kahverengi-koyu sarı renge dönüşmesiyle belirlenmiştir (Şekil 3.9A).

Bakteri izolatları tarafından üretilen HCN daha önceden bildirildiği şekilde glycine içeren TSA besi yeri petri kaplarında belirlenmiştir (Bakker ve Schippers, 1987). Taze kültürlerden (2 günlük) steril kürdan yardımıyla alınan bakteri izolatları, 4.4 g/L glycine eklenmiş TSA besi yeri (6 cm steril cam petrilerde) üzerine çizgi yöntemi ile çizilmiştir. Petri kapağına 1x3 cm boyutlarında steril filtre kağıdı yerleştirildikten sonra filtre 0.5-1.0 ml pikrik asit/sodyum karbonat süspansiyonu (%0.5 pikrik asit (PA) + 2% sodyum karbonat (Na₂CO₃): 100 ml steril su + 0.5 gr PA + 2 gr Na₂CO₃) ile ıslatılmıştır. Uygulama yapılmış tüm petrilerin kapakları kapatıldıktan sonra etrafı parafilm ile sarılarak, petriler 26 °C'de 3-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Petri kabı kapağındaki filtre

kâğıdı renginin beyaz/açık sarı renkten turuncu kahverengi veya koyu kırmızıya dönüşmesi (Şekil 3.9B) ortamda HCN üretiminin oluştuğunu göstermiştir (Bakker ve Schippers, 1987). Beyaz/açık sarı renkli filtre kâğıdının açık turuncu, turuncu veya kırmızımsı kahverengiye değişimi, sırasıyla zayıf, orta veya güçlü HCN potansiyelin bir göstergesi olarak kaydedilmiştir.

3.2.11.3 Bakteri İzolatlarının Indol Asetik Asit (IAA) Üretme Etkinliklerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının IAA üretme etkinliği L-tryptophan (3 mg/ml) içeren 5 ml steril LB besi yeri ortamında Salkowski yöntemi kullanılmak suretiyle belirlenmiştir (Glickman ve Dessaux, 1995). L-tryptophan (3 mg/ml) içeren 5 ml steril LB besi yeri içerisine 500 µl TSA besi yeri üzerinde gelişen bakteri izolatlarının 48 saatlik taze kültüründen hazırlanan 10^8 hücre/ml konsantrasyondaki bakteri süspansiyonu konulmuştur. L-tryptophan içermeyen besi yeri kontrol uygulaması olarak değerlendirilmiştir. Bakteri izolatları ile bulaştırılmış sıvı besi yeri içeren tüpler 30 °C'de 200 rpm'e ayarlı inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı besi yerinde gelişen süspansiyondan 2 ml alınarak steril eppendorf tüplerine konulmuştur. Tüpler 5000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Steril yeni eppendorf tüplere supernatant'tan 1 ml alınmış ve üzerlerine 40 µl fosforik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan bu karışımın tamamı daha sonra içerisinde 2 ml Salkowski çözeltisi (150 ml %98'lik H₂SO₄, 250 ml distile steril su H₂O, 7.5 ml 0.5 M FeCl₃·6H₂O) bulunan steril cam tüplere aktarılmıştır. Tüpler inkübatörler içerisinde karanlık ortamda 25 °C'de 30 dak. inkübasyona bırakılmıştır. Tüpler içinde IAA üretimi, tüplerdeki açık sarı renkteki Salkowski solüsyon renginin kırmızı-pembe renge dönüşmesiyle belirginleşmiştir (Şekil 3.9C). Bakterilerin besi yeri içerisinde üretilen IAA miktarı 535 nm dalga boyuna ayarlı UV-vis spektrofotometre (Perkin Elmer, Lambda 25, ABD) kullanılarak kantitatif olarak belirlenmiştir (Patten ve Glick, 2002). Bakterilerin üretmiş olduğu IAA konsantrasyon değerleri absorbans değerlerinin daha önceden bilinen standart IAA (Merck, Darmstadt, Germany) konsantrasyonuna ait absorbans değerleri ile kıyaslanmak suretiyle µg/ml düzeyinde belirlenmiştir.



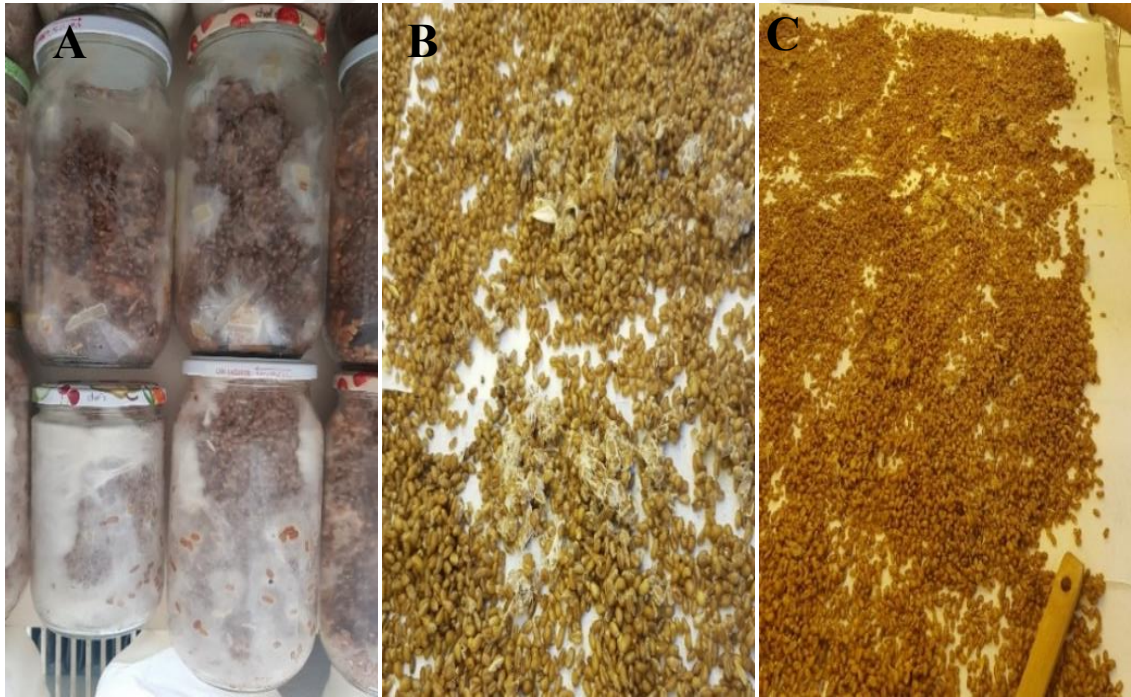
Şekil 3.9. Bakteri izolatların amonyak (A), HCN (B) ve IAA (C) üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Besi yerinde tespit edilen renk değişiklikleri (ok) bakterinin söz konusu etkinlik açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.12. Bakteri İzolatlarının *in vivo* Hastalık Çıkışı Üzerine Olan Etkinliklerinin Belirlenmesi

Antagonist bakteri izolatlarının *in vivo* hastalık çıkışı üzerine olan etkinliklerinin belirlenmesi çalışmaları sorveylerde en yaygın toprak kökenli hastalık etmenleri olarak belirlenen *S. rolfsii* ve *A. niger*'e karşı araştırılmıştır. Çalışmalarda virülensliği en yüksek düzeyde olan *S. rolfsii* M39KB ile *A. niger* Sum8 izolatları kullanılmıştır. Bakteri izolatları arasında her iki hastalık etmenine karşı *in vitro* etkinlikleri ve etki mekanizmaları göz önüne alınarak farklı türlere ait *Bacillus subtilis* SÇ19en, *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep ve *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatları kullanılmıştır.

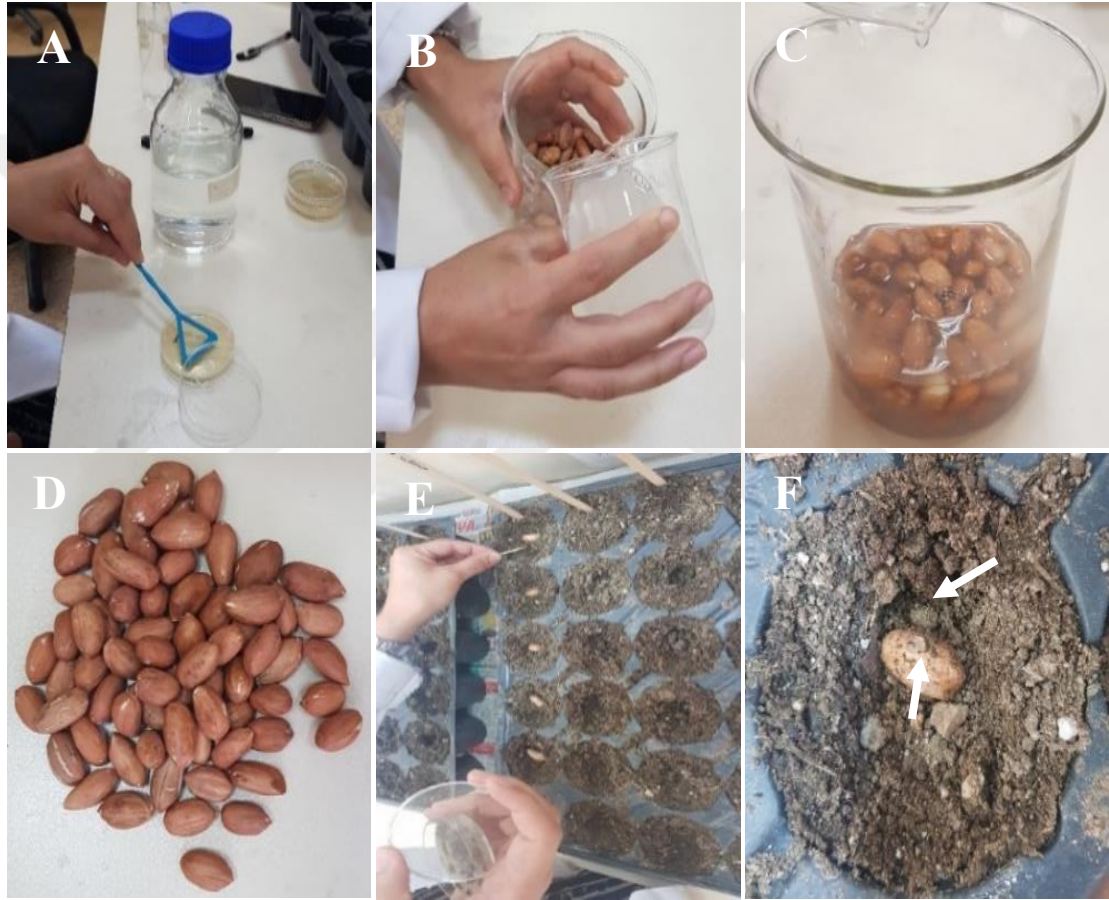
Fungal hastalık etmenlerinden *S. rolfsii*'nin toprak inokulasyonunda kullanılan inokulumu, haşlanmış buğday tohumlarına fungal izolatın misellerinin sardırılarak hazırlanmıştır. Bu amaçla, 1 L'lik cam kavanozların içerisine 350 gram buğday danesi konulup üzerine, yüzeyini kaplayacak şekilde (yaklaşık 500 ml) patates sukroz broth besi

ortamı ilave edilmiş, daha sonra bu kavanozlar, otoklavda 121 °C ve 1 atm basınçta 20 dk süreyle steril edilmişlerdir. Sterilizasyondan sonra daneler iyice soğuyunca kadar bekletilmiştir. Soğuyan buğday daneleri 5 günlük fungal izolatlarla ait kültürlerden 10 mm çapında agar diskleri kesilerek her bir kavanoza 1 petriden alınan disklerin tamamı yerleştirilmiştir. Kavanozların kapakları kapatıldıktan sonra iyice çalkalanarak, disklerin danelerin içine karışması sağlanmıştır (İncekara, 2011). İnokule edilen kavanozlardaki buğday danelerinin fungal etmeni ile kolonizasyonu için, 24±2 °C’de 15 gün boyunca gün ışığında inkübasyona bırakılmıştır. İnokulasyon süresince 4. günden itibaren 2 günde bir kavanozlar çalkanarak tüm danelerin fungus ile kolonize olması sağlanmıştır. İnkübasyondan 15 gün sonra her bir kavanozun içeriği boşaltılarak 48 saat süreyle temiz steril filtre kağıtları üzerinde iklim odaları içerisinde havalandırılmaya bırakılmıştır (Şekil 3.10A-C). Filtre kağıtları üzerinde kurumuş fungus inokulumu steril edilmiş kese kağıdına 150 g olacak şekilde paylaştırılıp, kullanılıncaya kadar 4°C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.10. *In vitro* antagonistik etki gösteren bakteri izolatları arasında yüksek etkili izolatlarla yapılan *in vivo* biyoetkinlik çalışmaları. Haşlanmış buğday tohumlarına *S. rolfsii* fungal izolatının misellerinin sardırılarak kolonize ettirilmesi

Sağlıklı yer fıstığı tohumları öncelikle %0.2'lik sodyum hipoklorit ile yüzeysel dezenfekte edilip, steril su ile durulanmıştır. Yer fıstığı tohumları, %0.05'lik karboksimetil selüloz (CMC) içerisinde hazırlanmış konsantrasyonu 10^8 cfu/ml olan bakteri süspansiyonu içinde 2 saat çalkalayıcıda bekletilerek yüzeyleri antagonist bakteri izolatları ile bulaştırılmıştır (Şekil 3.11A-D) Negatif kontrol olarak %0.05'lik CMC içeren steril su kullanılmıştır. Bakteri izolatları ile bulaştırılan tohumlar steril kabin içerisinde steril petriler içinde 24°C 'de 1 saat kurumaya bırakılmıştır.



Şekil 3.11. *In vitro* antagonistik etki gösteren bakteri izolatları arasından yüksek etkili izolatlarla yapılan *in vivo* biyoetkinlik çalışmaları.(A-D) yer fıstığı tohumları, %0.05 lik karboksimetil selüloz (CMC) içerisinde hazırlanmış konsantrasyonu 10^8 cfu/ml olan bakteri süspansiyonu içinde 2 saat çalkalayıcıda bekletilerek yüzeyleri antagonist bakteri izolatları ile bulaştırılmıştır. (E-F) Sağlıklı yer fıstığı tohumlarının etrafına tohum başına 5 adet 6 mm çapında misel içeren taze fungus agar diskleri (ok) yerleştirilmesi

Antagonist bakteri izolatlarının *in vivo* etkinlik denemeleri tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü, her tekerrürde 4 bitki olacak şekilde viyollerde kurulmuştur.

S. rolfsii'ye ait fungus inokulumu pastörize edilmiş torf: toprak karışımı (1:2) içine 3 g inokulum/tohum konsantrasyonunda olacak şekilde bulaştırılmıştır. Her viol gözüne antagonist bakteri izolatu ile bulaştırılmış yer fıstığı tohumu (cv. NC-7) ekilmiştir. Tohumlar ekildikten sonra ayrıca tohum etrafına 5 adet 6 mm çapında misel içeren taze fungus agar diskleri yerleştirilmiştir. *A. niger* için bakteri ile bulaştırılmış sağlıklı yer fıstığı tohumlarının etrafına tohum başına 5 adet 6 mm çapında misel içeren taze fungus agar diskleri yerleştirildikten sonra tohumlar ayrıca 1 ml spor süspansiyonu (10^4 spor/ml) ile ıslatılmak suretiyle hastalık etmeni ile bulaştırılmıştır (Şekil 3.11E-F). Etkinlik çalışmalarında, temsili seçilen her fungal izolat/antagonist bakteri için 4 farklı viyolde 1'er bitki olacak şekilde 3 kez tekrarlı olarak (n=12 adet) kurulmuş ve deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

Her iki fungus için uygulama yapılmış tohumların üzeri torf toprak karışımı ile kapatıldıktan sonra hemen steril su ile sulanmış, daha sonra yetiştirme odalarına alınarak bitki çıkışı ile hastalık gelişimi yönünden takip edilmiştir. Kontrol uygulamalarındaki bitkilerin tamamen gelişimi tamamlandıktan sonra (uygulamaların yapıldıktan 21 gün sonra) viollerdeki bitki çıkışları ve çıkış yapan bitkiler üzerinde gözlenen hastalık şiddeti uygun skala değerlerine göre kaydedilmiştir.

Gövde çürüklüğü hastalığı (*S. rolfsii*) için, uygulama yapılmış bitkilerde hastalık belirtileri bariz bir şekilde ortaya çıktığında hastalık şiddeti (DSI) **0-4 hastalık skalası** [0=sağlıklı, hastalık belirtisi göstermeyen bitki; 1=enfekteli bitkinin yapraklarında kısmi sararmalar ve tüm bitkinin %25 solgunluk belirtisi; 2=enfekteli bitkinin yapraklarında belirgin sararmalar ve tüm bitkinin %26-50 solgunluk belirtisi; 3=enfekteli bitkinin yapraklarında belirgin sararmalar ve kurumalar ve tüm bitkinin %51-75 solgunluk belirtisi; 4=enfekteli bitkinin yapraklarında tamamen kuruma belirtisi] kullanılarak hesaplanmıştır (Güven, 2007).

Kökboğazı çürüklüğü hastalığı (*A. niger*) için uygulama yapılmış bitkilerde hastalık şiddeti Lavkor ve Biçici (2015) tarafından önerilen **1-5 hastalık skalası** [1=sağlıklı, hastalık belirtisi göstermeyen bitki; 2=enfekteli bitkinin kök boğazının %25'inde kahverengileşme şeklinde hastalık belirtisi; 3=enfekteli bitkinin kök boğazının %50'inde kahverengileşme-hafif ıslaklık şeklinde hastalık belirtisi; 4=enfekteli bitkinin kök boğazının %75'inde kahverengileşme-orta derecede çürüklük şeklinde hastalık belirtisi; 5=enfekteli bitkinin tamamen kahverengileşmiş ve çürümüş kök boğazı] kullanılarak

değerlendirilmiştir. Hastalık şiddeti (%), Townsend-Heuberger formülü (Townsend ve Heuberger, 1943) kullanılarak (Formül 3.5) Tinivella ve ark. (2009) tarafından tarif edildiği gibi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\sum (\text{Skala değeri} \times \text{Skalada değerlendirilen bitki sayısı})}{\text{En yüksek skala değeri} \times \text{Toplam değerlendirilen bitki sayısı}} \times 100 \quad (3.5)$$

Uygulamaların etkinliği, bakteri uygulaması yapılmış bitkilerde tespit edilen ortalama hastalık şiddetinin (**HŞu**) kontrol bitkilerinde tespit edilen ortalama hastalık şiddetine (**HŞk**) kıyaslanmak suretiyle % Abbott formülüne (Formül 3.6) göre hesaplanmıştır.

$$\text{Hastalık Çıkışının \% Engellenme Oranı} = \left(\frac{H_{\text{Şk}} - H_{\text{Şu}}}{H_{\text{Şk}}} \right) \times 100 \quad (3.6)$$

Elde edilen değerlere varyans analizi yapılmış, uygulamalar arasındaki farklar Duncan Çoklu Karşılaştırma ($P < 0.05$) testine göre değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Hastalık Sörveyi

Saha çalışmalarının yapıldığı Osmaniye Merkez, Toprakkale, Kadirli, Sumbas, Düziçi, Bahçe ilçelerinin İlçe Tarım Müdürlükleri ile görüşmeler gerçekleştirilerek yer fıstığı ekim tarihleri, çiçeklenme ve hasat dönemleri ile bölgede ekilen çeşitler hakkında bilgiler alınmıştır. İl genelinde NC-7, Masal, Rigel ve Ayşe hanım gibi Virginia grubu çerezlik yer fıstığı çeşitlerinin ekimi yapılmakta olup, söz konusu bu çeşitler arasında üreticiler tarafından en fazla NC-7 çeşidinin yetiştiriciliği yapılmaktadır. Sörveylerde bitkilerden örnek alınırken uygun dönemler takip edilmiş, tarlalarda gözlemler yapılmış, hastalık belirtisi gösteren bitkilerin (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2) farklı yerlerinden uygun sayıda örnekler alınmış, kodlanmış, tarla içindeki şüpheli örneklerdeki hastalık belirtileri etmeni tam belirlenmemiş olsa da rastlama sıklık oranları belirtilere göre kaydedilmiştir. Sörvey yapılan tarlalardan farklı hastalık belirtisi gösteren her bir bitki ayrı ayrı kese kağıtlarına konulmuş ve aynı gün akşamına izolasyonlarının yapılması için HMKÜ Bitki Koruma Bölümü laboratuvarına getirilmiş ve izolasyon işlemlerine başlanmıştır (Şekil 4.3).

Sörvey çalışmaları Osmaniye ilinin önemli yer fıstığı yetiştiriciliği yapılan tarlalardaki hastalıkların yaygınlıklarını ve yoğunluklarını belirlemek amacıyla bitki çıkışı (fide dönemi), bitkilerin çiçeklenme dönemi ve meyve bağlama ve hasat öncesi olmak üzere 3 farklı dönemde yapılmıştır. İlk sörveyler bitki çıkışı ve fide dönemini kapsayacak şekilde 27 Mayıs-15 Haziran 2021 tarihlerinde yapılmış olup, 2. sörveyler çiçeklenme ve meyve bağlama dönemi olan 16 Haziran ve 30 Temmuz 2021 tarihleri arasında, 3. sörveyler ise hasat öncesi dönem olan Eylül 2021’de Osmaniye ilinin tüm ilçelerinde yapılmıştır. Sörvey çalışmalarında hastalıkların tarlalardaki yaygınlığı “tartılı ortalama yöntemine” göre 95 farklı tarlada (toplam 2358 da), tarlayı temsil edecek şekilde zig zag çizmek suretiyle rastgele seçilen bitkiler üzerinde yapılmıştır. Gerçekleştirilen ilk sörvey döneminde 69 adet, 2. sörvey döneminde 57 adet, 3. sörvey dönem ise 18 farklı belirtinin gözlemlendiği toplam 144 adet şüpheli yer fıstığı bitki örnekleri alınmıştır. (Çizelge 4.1).

Yapılan sörveylerde özellikle tipik hastalık belirtisi oluşturan *A. niger* ve *S. rolfsii* etmenleri sörvey yapılan tarlalarda en yaygın türler olarak kayıt edilmiştir. *A. niger*

hastalık etmeni 3 farklı dönemde yapılan sörveylerde en yaygın tür olarak gözlenirken, *S. rolfsii* hastalık etmeni genelde 2. ve 3. sörvey dönemlerinde (bitkilerin çiçeklenme dönemi ve meyve bağlama ve hasat öncesi) yaygın olarak rastlanılmıştır (Çizelge 4.1). Hastalık etmenlerinden *A. niger*'in bölgede yaygınlık oranı %37.5-100 iken, *S. rolfsii* etmeni %0-100 aralığında değişen yaygınlıklarda gözlenmiştir. *S. rolfsii* tarafından neden olunan hastalık belirtilerine Bahçe ilçesindeki yer fıstığı tarlalarında rastlanılmamıştır (Çizelge 4.1). Her iki hastalık etmenlerinin belirtilerinin gözleendiği tarlalarda bulunma oranları %7-47 oranlarında olduğu, belirlenmiştir (data verilmemiştir). *A. niger* ve *S. rolfsii*'nin aksine diğer hastalık etmeni türlerin belirtilerine bakılarak doğrudan tarlada yaygınlık oranlarının belirlenmesi mümkün olmamıştır. *Lasiodypladia* spp, *Fusarium* spp., *R. solani*, *M. phaseolina*, *R. stolonifer* gibi hastalık etmenlerinin bölgede yaygınlık oranları sörvey yapılan tarlalardan alınan şüpheli/hasta bitki örneklerinden yapılan izolasyon ve tanılama çalışmaları sonucunda belirlenmiştir. Şüpheli örneklerden en fazla karşılaşılan yaygın tür *R. stolonifer*, *Lasiodypladia* spp, *Fusarium* spp olarak kayıt edilmiştir (Çizelge 4.1).

Hastalık etmenlerinin izolasyonları sonucu elde edilen izolat sayısı alınan bitkilerden elde edilen toplam sayıyı yansıtmaktadır. *A. niger* ve *S. rolfsii* gibi yaygın türlerin bitkide neden oldukları tipik belirtileri doğrudan yerinde kayıt edilmeleri nedeniyle her tarlayı temsil edecek sayıda örnek alınmıştır. Diğer fungal etmenlerin tipik belirtileri olmaları nedeniyle daha fazla şüpheli örnek alınmıştır.

Çizelge 4.1. Osmaniye ilinin farklı ilçelerinde 2021 yetiştirme sezonunda yer fıstığı bitkilerinde kaydedilen fungal hastalıkların yaygınlık durumları (%)

İlçeler	Sörveyler ^a				Fungal Hastalık Etmenlerin ^b Yaygınlıkları (%)								Toplam Fungal İzolat Sayısı (adet)							
	SYVD	SYTS	SYTA	AŞBS	An	Sr	Las	Fus	Rstol	Rsol	Mp	Ss	An	Rstol	Las	Fus	Sr	Rsol	Mp	Ss
Toprakkale	a	5	144	18	80	0	40	20	40	20	0	0								
	b	1	35	3	100	30	0	0	0	0	0	0	6	3	4	2	2	1	0	0
	c	1	34	2	100	100	0	0	0	0	0	0								
Merkez	a	18	430	31	72.2	16.6	33.3	11.1	55.58	0	16.6	0								
	b	9	213	10	66.6	33.3	11.1	44.4	44.4	0	0	0	20	15	7	6	7	1	3	0
	c	2	93	2	50	50	0	0	50	50	0	0								
Kadirli	a	16	471	30	37.5	0	18.7	18.7	43.7	6.3	0	6.2								
	b	4	50	4	50	25	75	25	25	0	0	0	16	13	12	5	5	0	0	1
	c	12	380	12	50	33.3	50	8.3	25	8.3	0	0								
Sumbas	a	6	115	11	83.3	0	33.3	0	100	0	0	0								
	b	4	107	1	75	50	25	25	25	0	0	0	11	8	4	1	3	0	0	0
	c	2	31	2	50	50	50	0	50	0	0	0								
Düziçi	a	1	35	1	100	0	0	0	0	0	0	0								
	b	10	125	10	60	30	20	10	20	0	0	0	8	3	2	1	4	0	0	0
	c	1	58	1	100	100	0	0	0	0	0	0								
Bahçe	a	1	20	2	100	0	0	0	100	0	0	0								
	b	1	5	2	100	0	0	0	100	0	0	0	3	2	1	0	0	0	0	0
	c	1	12	2	100	0	100	0	0	0	0	0								
Genel Toplam		95	2358	144	0	0	0	0	0	0	0	0	64	44	30	15	21	2	3	1

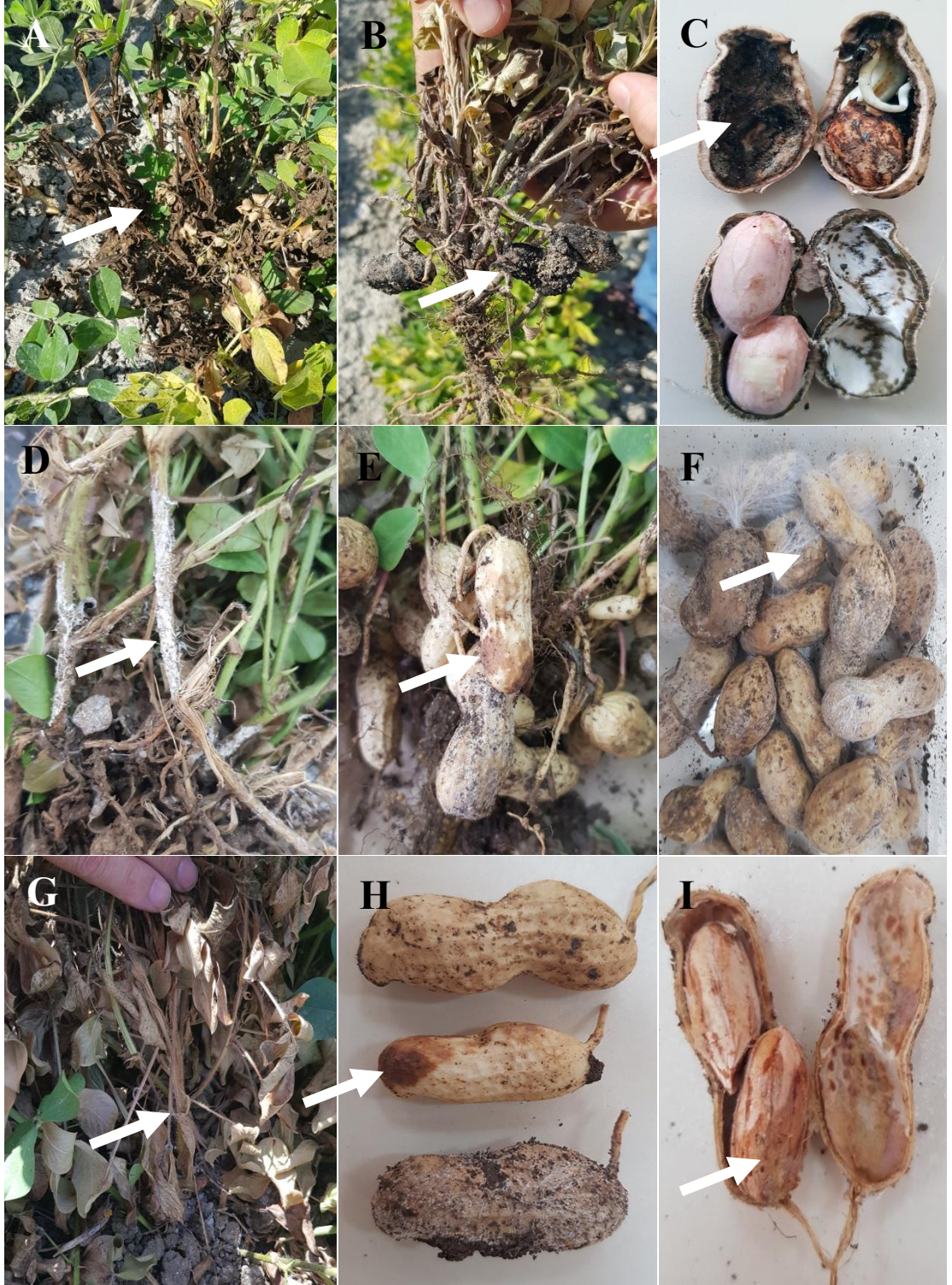
^a SYVD: Sörvey Yapıldığı Vegetasyon Dönemleri a: fide, b: çiçeklenme, c: hasat; SYTS: Sörvey Yapılan Tarla Sayısı; SYTA: Sörvey Yapılan Tarla Alanı (da); AŞBS: Alınan Şüpheli Bitki Sayısı. Denetlenen her tarlada en az 100 bitki görsel olarak kontrol edilmiştir.

^b An: *Aspergillus niger*; Sr: *Sclerotium rolfsii*; Las: *Lasiodiplodia* spp.; Fus: *Fusarium* spp.; Rstol: *Rhizopus stolonifer*; Rsol: *Rhizoctonia solani*; Mp: *Macrophomina phaseolina*; Ss: *Sclerotinia sclerotiorum*

4.2. Hastalık Belirtilerine Sahip Yer fıstığı Bitkilerinden Fungal İzolatların Elde Edilmesi

Sörvey yapılan farklı tarlalardan alınan şüpheli/hasta yer fıstığı bitkilerindeki fungal hastalık etmenlerinin tipik belirtileri arasında genel olarak kurumuş, solgun ve çökmüş bitkilerin olduğu, bazı bitkilerin kök ve kökboğazı kısımlarında siyah renkli yoğun spor kitleleri, bazılarının ise toprağa yakın kısımlarında beyaz misellerin ve sklerotların olduğu gözlemlenmiştir. Enfekteli bitkilerin yapraklarında sararma ve solgunluk, kök ve gövdede renk değişimleri, meyvelerde (kapsül) ise çürümeler gözlemlenmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3). Yapılmış birçok çalışmada yer fıstığı bitkilerinde sorun olan toprak kökenli fungal hastalık etmenlerinin oluşturduğu belirtiler ile söz konusu tipik belirtiler benzer bulunmuştur (Punja, 1985; Backman ve Brenneman, 1997; Puppala ve ark., 2018).

Sörveylerden elde edilen 144 farklı şüpheli/hastalık belirtisi gösteren yer fıstığı bitkilerinin kök, meyve ve gövde kısımlarından öncelikle PSA besi ortamı üzerinde izolasyonlar yapılmıştır. Bu bitkilerden yapılan izolasyonlar sonucunda toplam 180 adet temsili fungal izolat elde edilmiştir (Çizelge 4.1). Yapılan izolasyonlardan aynı bitkiye ait hastalıklı bitki dokularının tek fungal etmenin (Şekil 4.4) yanı sıra farklı fungal etmenleri ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5). İnkubasyon sonrası gelişen farklı yapılarıdaki koloniler seçilmiş, kesin tür teşhislerinin yapılması amacıyla PSA içeren 6 cm'lik petri kaplarına aktarılmıştır (Şekil 4.5). Bu süre sonunda gelişen fungal izolatlar koloni gelişimi ve morfolojik yapılarına göre gruplandırılmıştır. Gruplandırılan izolatlardan her bölge/tarla/petriyi temsil edecek şekilde seçilen saf izolatlar ile patojenite çalışmaları yürütülmüştür. Elde edilen izolatlar kesin tür teşhisleri yapıncaya kadar +4°C'de saklanmıştır.



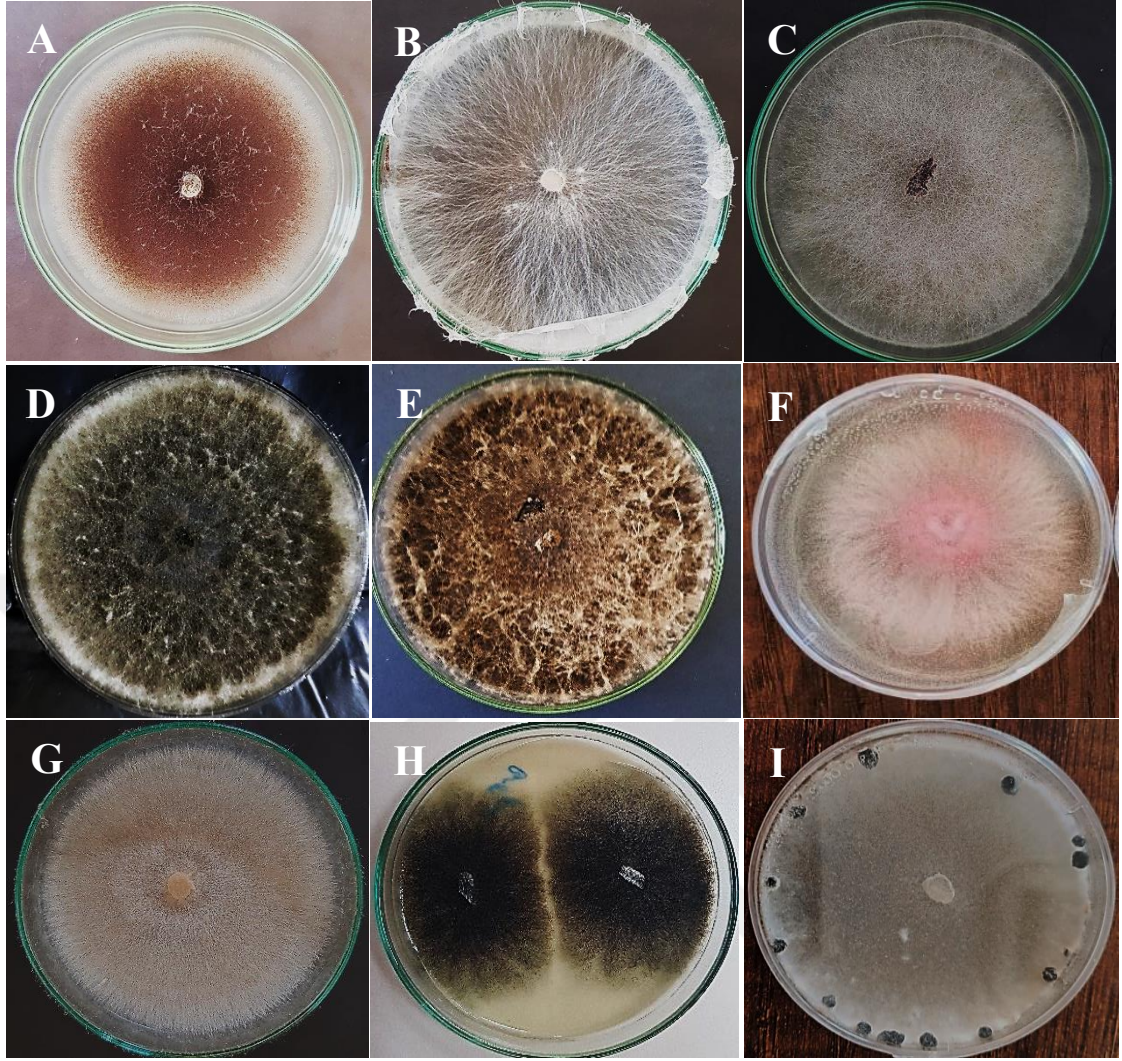
Şekil 4.1. Osmaniye ilinin farklı ilçelerinde yapılan sörveylerde hastalık belirtisi gösteren yer fıstığı bitkilerinin kök, kök boğazı ve gövdelerinde tespit edilen tipik hastalık belirtileri (ok). (A-C) *A. niger*, (D-F) *S. rolfsii*, (G-I) *R. solani* tarafından neden olunan hastalık belirtileri (ok)



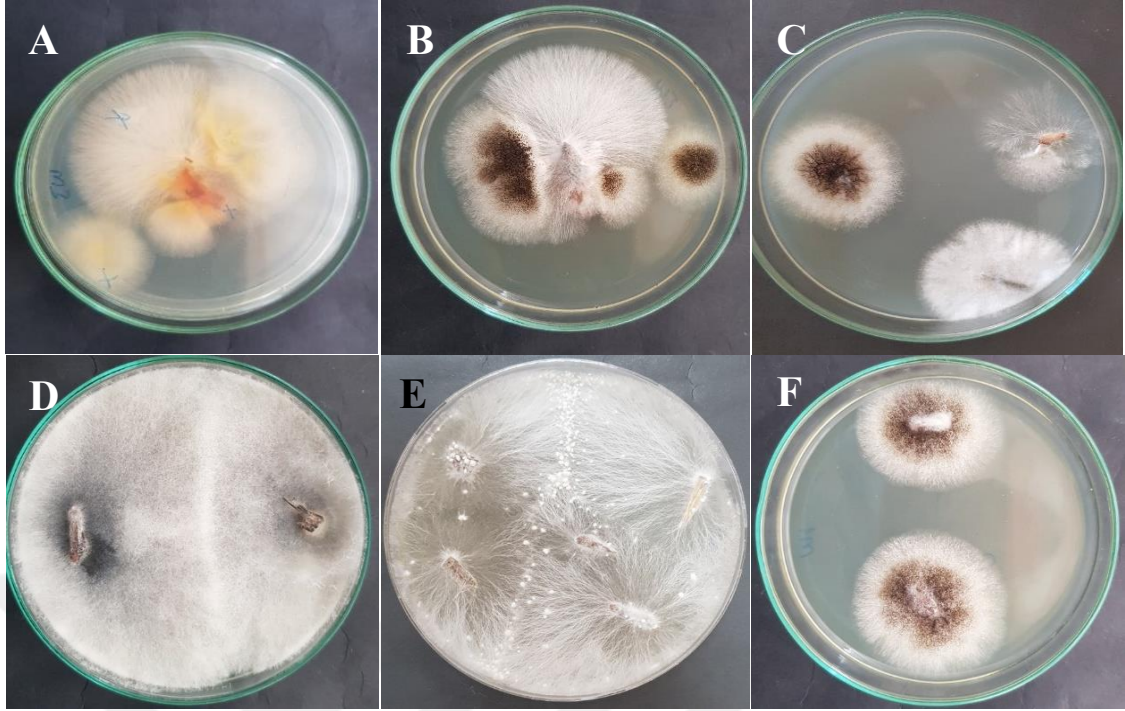
Şekil 4.2. Osmaniye ilinin farklı ilçelerinde yapılan sörveylerde hastalık belirtisi gösteren yer fıstığı bitkilerinin kök, kök boğazı ve gövdelerinde tespit edilen tipik hastalık belirtileri (ok)



Şekil 4.3. Sörvey yapılan tarlalardan her bir farklı hastalık belirtisi gösteren şüpheli/hasta bitkilerin ayrı ayrı kese kağıtlarına konulması ve laboratuvarında izolasyonlarının yapılması



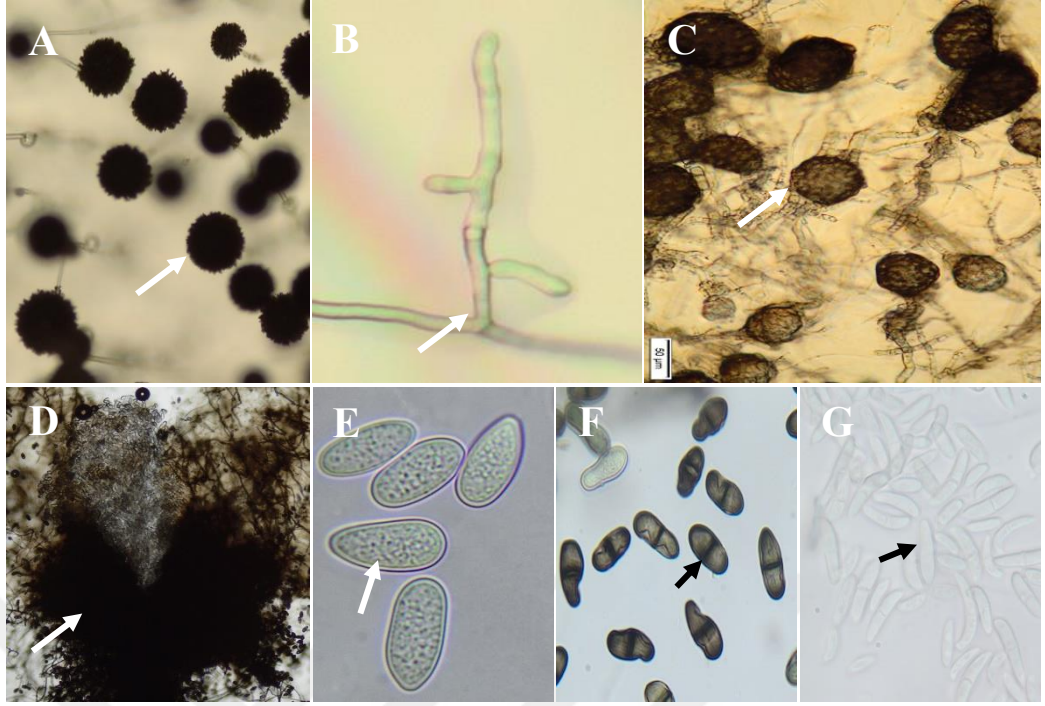
Şekil 4.4. Hastalıklı bitki örneklerinden elde edilen hastalık etmenlerin tek spor izolatlarına ait saf fungus kültürleri. (A) *Aspergillus niger*, (B) *Sclerotium rolfsii*, (C) *Rhizopus stolonifer*, (D) *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, (E) *Lasiodiplodia theobromae* (F) *Fusarium oxysporum*, (G) *Rhizoctonia solani*, (H) *Macrophomina phaseolina*, (I) *Sclerotinia sclerotiorum*



Şekil 4.5. Hastalıklı bitki örneklerinden gelişen hastalık etmenlerine ait (A-C) karışık ve (D-F) saf fungal türleri

4.3. Fungal Hastalık Etmenlerin Tanımlamaları

Yer fıstığı bitkilerinin kök ve kök boğazı çürüklüğü ve incelmesi, kök boğazına yakın gövdelerin iletim demetlerindeki kararmalardan PSA ve sonrasında CLA besi yerleri üzerine yapılan izolasyonlardan gelişen fungal hastalık etmenleri, besi yerinde türe özgü yapılarına göre (konidi, konidiyofor ve hif yapıları, misel gelişimleri ve misellerinin rengi, sklerot oluşturup oluşturmadığı vb.) ön tanımlamaları yapılmıştır (Şekil 4.6). Yapılan ön tanımlamalar sonucunda fungal izolatlara spesifik tanı anahtarları baz alınarak ışık mikroskobu altında doğrudan morfolojik olarak *Aspergillus niger* (Ahmed ve ark., 1993), *Rhizopus stolonifer* (Liou ve ark., 2007), *Rhizoctonia solani* (Van der Plaats-Niterink, 1981), *Macrophomina phaseolina* (Holliday ve Punithalingam, 1970), *Sclerotium rolfsii* (Mordue, 1974), *Sclerotinia sclerotiorum* (Mordue ve Holliday, 1976), *Lasiodiplodia* spp. (Alves ve ark., 2008), ve *Fusarium* spp.'e (Leslie ve Summerell, 2006; Nelson ve ark., 1983) ait olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.6. Petrilerde gelişen bazı fungusların türlerine özgü yapılar (ok). (A) *A. niger* sporangiofor, (B) *R. solani* hifi, (C) *M. phaseolina* sklerotları, (D-F) *Lasiodiplodia* sp. konidomata ve konidileri (G) *Fusarium* spp makrokonidiler

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi yer fıstığı bitkisinin tüm vejetasyon periyodu boyunca düzenli aralıklarla yapılan arazi gözlemlerinde en fazla sıklıkta (yaygın) karşılaşılan fungal hastalık etmenlerinin *Aspergillus niger* (%37.5-100.0), *Rhizopus stolonifer* (%0.0-100.0), *Sclerotium rolfsii* (%0.0-100.0), *Lasiodiplodia* spp. (%0.0-100.0), *Fusarium* spp. (%0.0-44.4), *Rhizoctonia solani* (%0.0-50.0), *Macrophomina phaseolina* (%0.0-16.6), *Sclerotinia sclerotiorum* (%0.0-6.2) gibi kök çürüklüğü, sap çürüklüğü ve kurumalara neden olan toprak kökenli hastalık etmenleri olduğu belirlenmiştir.

Hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlardan elde edilen 180 izolatın morfolojik yapılarına göre ön teşhisleri sonucunda; en yaygın olarak rastlanan fungal hastalık etmeni %35.5 rastlama sıklığı ile *Aspergillus niger* (64 izolat) olmuştur. Bu hastalık etmenini %24.4 rastlama sıklığı ile *Rhizopus stolonifer* (44 izolat), %16.6 rastlama sıklığı ile *Lasiodiplodia* spp. (30 izolat), %11.6 rastlama sıklığı ile *Sclerotium rolfsii* (21 izolat), %8.3 rastlama sıklığı ile *Fusarium* spp. (15 izolat), %1.6 rastlama sıklığı ile *Macrophomina phaseolina* (3 izolat), %1.1 rastlama sıklığı ile *Rhizoctonia solani* (2 izolat) ve %0.55 rastlama sıklığı ile *Sclerotinia sclerotiorum* (1 izolat) gibi

hastalık etmenleri takip etmiştir (Çizelge 4.1) Aynı bitkiden yapılan izolasyonlarda bitkilerin birden fazla fungal etmenle bulaşık olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.5A-C). İzolasyonlar sırasında bir *Rhizopus stolonifer*'in çoğu petride diğer hastalık etmenlerinin yanı sıra sonradan "sekonder fırsatçı patojen" olarak gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Kökboğazı çürüklüğü olarak da bilinen *Aspergillus niger* çoğu bitkide hastalıklara sebep olan önemli fungal hastalıklardan biridir. Hastalık etmeni, yer fıstığı bitkilerinin fide döneminde çıkış öncesi çürüklük meydana getirebileceği gibi yetiştirme sürecinin herhangi bir döneminde de bitkinin ölümüne sebep olabilmektedir. En yaygın tür olarak belirlenen *Aspergillus niger* kolonilerinin PSA ortamında başlangıçta beyaz renkli ve sonrasında koyu kahverengiden siyaha dönüşebilen, yoğun konidi tabakasıyla kaplandığı gözlenmiştir. Konidilerin küresel ya da yarı küresel, renginin koyu kahverengiden siyaha ve pürüzlü yapıda hücre duvarlarının olduğu belirlenmiştir. Morfolojik özelliklerine göre temsili izolat *Aspergillus niger* olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.4A ve 4.6A).

Yapılan sörveylerde elde edilen ve bir diğer yaygın tür *Sclerotium rolfsii* tarafından neden olunan hastalıktır. *S. rolfsii* yer fıstığında sap çürüklüğü, beyaz çürüklük ve güney yanıklığı olarak da bilinmektedir. Hastalık etmeni birçok üründe kök, sap ve gövde çürüklüğü meydana getirmektedir. Etmen aynı zamanda bitkinin yaprak, çiçek ve meyvelerinde de zarar oluşturmaktadır. Hastalıklı bitkilerde sararma, solgunluk ve kurumalar, gövdenin toprağa yakın kısımlarında önceleri açık daha sonra koyu kahverengine dönüşen lezyonlar meydana gelmektedir. Sörvey alanlarında gövde ve saplarında beyaz çürüklük belirtilerine sahip, toprağa yakın kısımlarında beyaz misellerle kaplanmış ve sklerot oluşturmuş bitkilerin ön morfolojik tanımları yapılmış olup (Mordue, 1974) PSA besi yeri üzerindeki fungal özellikleri ışık mikroskopunda incelenmiştir. *S. rolfsii* izolatlarının petride gelişen koloni morfolojisi incelendiğinde petrilerin yoğun, pamuksu beyaz renkli misellerle kaplı olduğu gözlemlenmiştir. İzolasyonlardan ortalama 5-7 gün sonra yoğun sklerot oluşturduğu ve ilk oluşan sklerotların boyutlarının küçük, renklerinin beyaz olduğu ve bu sklerotların 10. günden itibaren (yaşlandıkça) renklerinin kahverengiye dönüştüğü gözlemlenmiştir (Şekil 4.4B). Saf izolatların sklerot oluşturma hızının daha düşük olduğu belirlenmiştir. Patojen kısı enfektelenmiş bitki dokularında ve toprakta miselyum veya sklerot olarak geçirir (Mahadevakumar ve ark., 2016; Mahadevakumar ve ark., 2018).

A. niger ve *S. rolfsii* dünyanın farklı bölgelerinde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinde en fazla sıklıkla bildirilen başlıca toprak kökenli hastalık etmenleridir. Hindistan'da kök çürüklüğünün %25'e (Mayee ve Datar, 1988), yaka çürüklüğünün %40'a varan verim kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir (Chohan ve Singh, 1973). Nyguen ve ark. (2004), Vietnam'da yer fıstığı veriminin *Sclerotium rolfsii* ve *Aspergillus niger* gibi toprak kökenli patojenlerden etkilendiğini bildirmişlerdir. *Sclerotium rolfsii*'nin yer fıstığının en önemli toprak kökenli fungal patojenleri arasında olduğu, ABD ve Vietnam da dahil olmak üzere yer fıstığı üreticisi ülkelerde yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Branch ve Breneman 2009; Le ve ark. 2011). Mayee ve Datar (1988), bu hastalıktan kaynaklanan tipik verim kayıplarının %25'in üzerinde olduğu ve şiddetli koşullar altında bunun %80'e kadar çıkabileceğini bildirmişlerdir. Hindistan'da *S. rolfsii*'nin neden olduğu kök çürüklüğünün yer fıstığında %30'a varan verim kaybına neden olduğu (Anonymous, 2012), Orta Vietnam'da, hastalık görülme sıklığının çiçeklenme aşamasında %5-20 olduğunu bildirmişlerdir (Le ve ark., 2011). Ganesan ve ark. (2007) Hindistan'da yer fıstığı bitkilerine çok sayıda patojenin saldırdığını, bunların arasında *S. rolfsii*'nin neden olduğu kök çürüklüğünün en yaygın hastalık olduğunu bildirmişlerdir. Geniş bir konukçu aralığına sahip bu patojenin kalıcı sklerotları sayesinde toprakta ve bitki artıklarında uzun süre hayatta kalabileceği bildirilmiştir (Coleysmi ve Cooke 1971; Punja 1985). *S. rolfsii*'nin 200'den fazla bitki türünde gövde ve baklada sklerotium çürüklüklerine neden olduğu bildirilmektedir (Ahmad ve ark., 2019).

Aspergillus niger tarafından neden olunan yer fıstığı taç çürüklüğü hastalığının Mısır ve diğer bazı ılıman ülkelerde ciddi verim ve ürün kayıplarına neden olduğu bildirilmiştir (Haggag ve AboSedera 2000; Elwakil 2003; Carina ve ark. 2006). *A. niger*'in verimde ortalama %5 kayba neden olabildiği gibi bazı bölgelerde yer fıstığında gözlenen kaybın %40'a kadar yükselebildiği, kumlu topraklarda yetişen yer fıstığı bitkilerinde daha ciddi sorun olduğunu bildirmişlerdir (Gibson, 1953; Chohan, 1965). Hindistan'da *A. niger* nedeniyle bitki ölümleri açısından kayıpların yüzde 40 ila 50'ye kadar çıkabildiğini bildirmişlerdir (Aulakh ve Sandhu, 1970; Ghewande ve ark., 2002). Söz konusu iki fungal hastalık etmeni ile enfektelenmiş yer fıstığı tohumlarında çökme, tohum boyutunda azalma, tohum çürümesi, tohum nekrozu, tohum rengine bozulma, çimlenme kapasitesinde azalma ve tohumda fizyolojik değişiklikler gibi belirtiler bildirilmiştir (Elwakil, 2003).

Ülkemizde yer fıstığında sorun olan fungal hastalıkların belirlenmesine yönelik oldukça kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Gözüyeşil (2014) Osmaniye ilinde yer fıstığı yetiştiriciliği ile ilgili sorunların saptanması konulu lisansüstü çalışmasında Osmaniye’de 100 çiftçi ile anket çalışması gerçekleştirmiştir. Elde ettiği sonuçlara göre fungal hastalıklardan kaynaklı zararların, %56 kök boğazı çürüklüğü (*Aspergillus niger*), %41 sap çürüklüğü (*Sclereotium rolfsii*) ve %3 yaprak leke hastalığından (*Cercospora arachidicola* ve *Cercosporidium personatum*) kaynaklı olduğunu bildirmiştir. Lavkor ve Biçici (2015) Osmaniye ilinde 2010-2011 yıllarında 6 farklı çiftçi tarlasında sörvey ve tarla denemeleri şeklinde çalışmalar yürütmüşlerdir. Yer fıstığı yetiştiriciliğinin yapıldığı deneme ve sörvey alanlarının tamamında kök boğazı çürüklüğü (*A. niger*), gövde çürüklüğü (*S. rolfsii*) ve yaprak leke hastalığı (*C. personatum*) belirlemişlerdir. Enfekteli bitkilerin tamamında *S. rolfsii* (%17.0-30.0), *A. niger* (%18.0-29.0), *R. solani* (%7.8.0-28.0), *F. solani* (%7.0-20.0) hastalık etmenlerinin varlığı yapılan izolasyonlarla ortaya konulmuştur. Keleş (2020) tarafından Adana ili ve ilçelerinde yer fıstığı ekilişinin yoğun olduğu alanlarda *Sclerotium rolfsii*’nin yaygınlığının belirlenmesi amacıyla sörveyler gerçekleştirilmiştir. Yapılan sörveyler neticesinde, incelemelerinin yapıldığı tüm yer fıstığı tarlalarında gövde çürüklüğü hastalığı gözlemlenmiş ve hastalığın yaygınlık durumu %100 olarak belirlenmiştir.

Yapılan sörveylerde sıklıkla rastlanılan bir diğer fungal hastalık etmeni *Lasiodiplodia* spp. olarak belirlenmiştir. Yer fıstığı bitkilerinde koyu kahverengi gövde çürüklüğü, sararmış (klorotik) yapraklar, solgunluk ve nihai olarak tüm bitki ölümü dahil olmak üzere “yaka çürüklüğü” hastalığı ile uyumlu belirtiler gözlenmiştir. PSA besi ortamında gelişen 30 izolat başlangıçta yoğun grimsi beyaz renkli, kabarık, havai miselyum şeklinde gelişme sergilemiş, 10-14 günlük inkübasyondan sonra besi yeri üzerinde fungal kültürün soluk gri renge dönüştüğü gözlenmiştir. Fungal izolatlar PSA besi ortamında kolayca sporlanmadığından, misel diskleri sterilize edilmiş kındıra bitki yaprakları ile kaplanmış %2’lik WA üzerine transfer edilerek besi ortamında piknit ve konidi üretimi teşvik edilmiştir. İnokulasyondan 10-15 gün sonra kındıra bitki yapraklarının ana damarlarının yüzeyinde görülen konidiyomatalar, uniloküler özellikte, koyu kahverengiden siyaha kadar değişen renklerde olmuştur. Konidiojen hücreler arasında ortaya çıkan bölmeli veya bölmesiz parafizler şeffaf, silindirik ve yuvarlak uçludur. Elipsoidal olgunlaşmamış konidiler (n=50) şeffaf ve bölmesiz, 22.5-30.5×13.5-

17.5 µm boyutlarındadır. Olgun konidiler (n=50) koyu kahverengi ve tek bölmeli olup, 22.5-32.0×12.5-14.5 µm ölçülerinde uzunlamasına şeritlere sahiptir (Şekil 4.4D-E ve Şekil 4.6D-F). Bu morfolojik özellikler *Lasiodiplodia pseudotheobromae* A.J.L. Phillips, A. Alves & Crous ve *L. theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl için tanımlananlara çok benzer bulunmuştur (Alves ve ark., 2008).

Lasiodiplodia pseudotheobromae'nin yer fıstığı izolatları diğer *Lasiodiplodia* spp. benzer morfolojik özellikler paylaşırsa da, konidilerinin şekli, boyutu ve parahiz özelliklerine göre ayırt edilebilirler (Alves ve ark. 2008; Pipattanapuckdee ve ark. 2019). Çeşitli konukçu bitkilerden izole edilen *L. theobromae*'nin subovoid ile elipsoid-ovoid şekilli konidilerinin, *L. pseudotheobromae*'nin elipsoidal konidilerinden daha küçük boyutta olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, *L. theobromae*'nin parafizleri bölmeli iken, *L. pseudotheobromae*'nin parafiz hücreleri çoğunlukla bölmesizdir. Çalışmalarda elde edilen 30 izolattan 24 izolatin parafiz hücreleri bölmesiz (*L. pseudotheobromae*), 6 izolatin ise bölmeli (*L. theobromae*) olduğu gözlenmiştir. Her iki türe ait izolat elde edilmiş olup, temsili seçilen izolatların tür ayrımları moleküler analizler sonucunda teyit edilmiştir. *Lasiodiplodia* spp. ait izolatların enfekteli yer fıstığı bitkilerinde koyu kahverengi gövde çürüklükleri, klorotik yapraklar, solgunluk ve ölmüş bitkiler şeklinde belirtilere neden olduğu bildirilmiştir (Phipps ve ark., 1998). Yer fıstığı bitkilerinde yaka çürüklüğüne neden olan *L. pseudotheobromae*'nin farklı ülkelerde görüldüğü önceden bildirilmiştir (Phipps ve Porter, 1998; Ataga ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2022a;). *L. pseudotheobromae* tropik ve subtropik ülkelerde geniş bir konukçu yelpazesine sahip yaygın bir patojendir (Adeniyi ve Asogwa, 2023). Hastalık etmeni yer fıstığı dışında Pakistan (Alam ve ark., 2021), Çin (Chen ve ark., 2021) ve Tayland'da (Pipattanapuckdee ve ark., 2019) mango, narenciye ve longan meyvelerinde çürümelere ve *Ormosia pinnata*'da ölümlere neden olduğu rapor edilmiştir (Li ve ark., 2020).

Sörvey yapılan alanlarda tespit edilen bir diğer yaygın izolatlar *Fusarium* spp., *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, ve *S. sclerotiorum* olarak belirlenmiştir. Söz konusu hastalık etmenlerinden *R. solani* kolonileri başlangıçta beyaz renkli ve radyal, hifleri bölmeli, bazal daralmayla neredeyse dik açılı dallanmalara sahiptir. Hif büyüdükçe sklerotlar üretmiştir. Sklerotlar ilk önce beyaz daha sonra koyu kahverengiye dönüşmüştür (Şekil 4.4G, Şekil 4.6B). Bir diğer hastalık etmeni *S. sclerotiorum*'un başlangıçta beyaz renkli olan fungus kolonileri sonrasında griye dönüşmüş; daha ileri

süreçte koloni kenarlarındada siyah, düzensiz sklerotlar gözlemlenmiştir (Şekil 4.4I). *Fusarium* spp.'ye ait izolatların CLA ve PSA besisi yerinde kolonilerin pigment renkleri, muz şeklindeki tipik makrokonidilerinin yanı sıra mikro konidi ve klamidospore yapılarına göre ön tanımlamaları yapılmıştır. *Fusarium* spp. tür düzeylerindeki kesin tanımları yapılan detaylı moleküler çalışmalarla tamamlanmıştır.

Fusarium spp. (March ve Marinelli, 1998; Osuinde ve ark. 1999; Ahmed ve ark. 2012; Gebru ve ark, 2019; Thirumalaisamy ve ark., 2019) *Macrophomina phaseolina* (Martinez-Salgado ve ark., 2021), *Rhizoctonia solani* (Chi ve ark., 2016), ve *S. sclerotiorum* (Zhang ve ark., 2022b) hastalık etmenlerinin yer fıstığı yetiştiriciliğinin yapıldığı dünyanın birçok ülkesinde çalışmalarımızda gözlenen belirtilere benzer hastalıklara neden olduğu yakın zamanda yapılan birçok çalışmada da bildirilmiştir.

4.4. Patojenite Çalışmaları

Patojenite çalışmalarında her bölgeyi/tarlayı hastalık şiddeti açısından temsil eden farklı morfolojik yapıya sahip fungal türlere ait temsili izolatların tek spor/misel izolatlarından elde edilen izolatlar kullanılmıştır. Hastalık etmenlerin tamamı yer fıstığı fidelerine inoküle edildiği noktalarda tarla koşullarında gözlenen belirtilere benzer belirtilere neden olduğu gözlenmiştir. Yapılan re-izolasyonlar sonucu hastalıklı fidelerden orijinal izolatlarla benzer izolatlar (re-izolat) elde edilmiş, yapılan mikroskopik gözlemlerde morfolojik yapıların orijinal izolatlarla aynı olduğu gözlenmiştir.

4.5. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Teşhisi

Morfolojik olarak ön teşhisleri yapılmış izolatlarla patojenisite testlerinde hastalık belirtileri oluşturmuş, enfeksiyon noktalarından tekrar elde edilmiş re-izolatların morfolojik tanımlamaları MALDI-TOF MS ile teyit edilmiştir. Yapılan teşhisler sonucunda MALDI-TOF MS kütüphanesinde yer alan türlerden *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Lasiodiplodia* spp., *Fusarium* spp. (*Fusarium oxysporum*, *F. incarnatum*, *F. verticillioides* ve *F. solani*) türleri teşhis edilmiştir (Şekil 4.7).

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Aspergillus niger M14 RLH	2.147	5061
2 (++)	Aspergillus niger DSM 22593 DSM	2.146	5061
3 (++)	Aspergillus niger M10 RLH	2.143	5061
Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Rhizopus stolonifer 111116_03 IMD	2.003	4846
2 (+)	Rhizopus stolonifer DSM 855 DSM	1.996	4846
3 (+)	Rhizopus stolonifer F40 LLH	1.872	4846
Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	Fusarium oxysporum_20160509	2.415	100134258
2 (++)	Fusarium oxysporum D_16_256_7_8 LLH	2.274	126754417
3 (+)	Fusarium oxysporum DSM 21729 DSM	1.727	126754417
Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+)	Lasioidiplodia sp DSM 832 DSM mod	1.999	66739
2 (-)	Arthrinium arundinis 17122069 LMU	1.011	335852
3 (-)	Trichophyton rubrum DSM 19616 DSM	0.916	5551

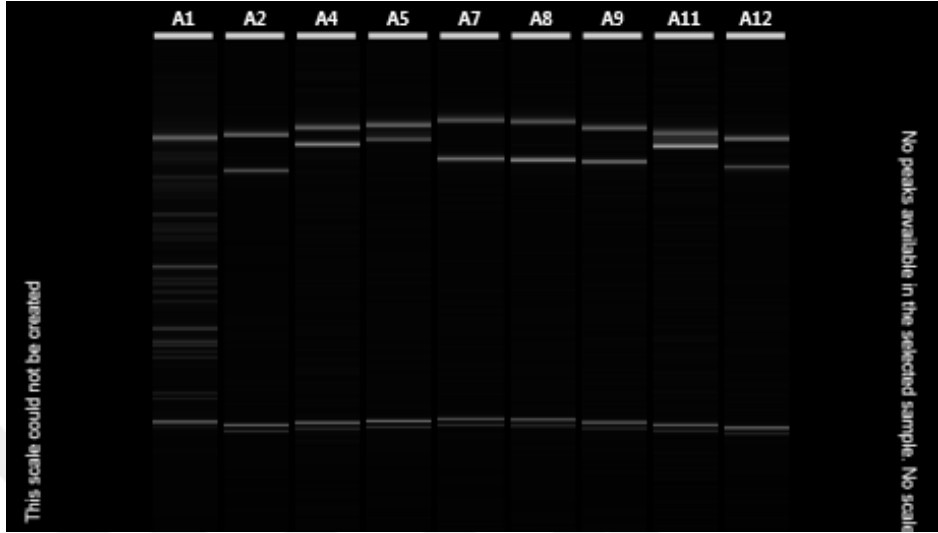
Şekil 4.7. Hastalıklı bitkilerden elde edilen *A. niger*, *R. stolonifer*, *F. oxysporum* ve *Lasioidiplodia* spp ait izolatların MALDI-TOF tanı raporu

MALDI-TOF yapılan tanılama çalışmalarında izolatların tanılama güvenilirlik skor değerleri *A. niger* için 2.147, *R. stolonifer* için 2.003, *F. oxysporum* için 2.415 ve *Lasioidiplodia* spp. için 1.999 olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.7).

4.6. Toprak Kökenli Fungal Patojenlerin Moleküler Tanılanması

İzole edildikleri bölgeyi temsil edecek şekilde seçilmiş, morfolojik ve MALDI-TOF MS ile tanılanması yapılmış, patojenite çalışmaları sonucunda tipik hastalık belirtilerine neden olmuş tüm fungal izolatlar moleküler tanılama çalışmasında kullanılmak üzere seçilmiştir. Moleküler tanılama çalışmalarında kullanılan tüm fungal izolatların tanısı öncelikle ITS1/4 veya ITS4/5 primer çiftinin (White ve ark., 1990) kullanıldığı Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA gen bölgelerinin baz dizilimlerine bağlı moleküler yöntemler ile teyit edilmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.8). ITS dizi analiz sonucunda Türkiye’de yetişen yer fıstığı bitkilerinde yeni hastalık etmeni türler olarak belirlenen *Lasioidiplodia theobromae* ve *Lasioidiplodia pseudotheobromae* izolatlarının moleküler tanısı ayrıca translation elongation factor-1 α (*TEF-1 α*) gen bölgesine spesifik EF-1688F/EF11251R ile *tub2* gen bölgesine spesifik Bt2a/Bt2b primer çiftleri

kullanılarak teyit edilmiştir. *Fusarium solani*, *F. equiseti* ve *F. brachygibbosum* izolatlarının da moleküler tanılamaları *TEF-1 α* gen bölgesine spesifik EF1/EF2 primer çifti kullanılarak kesin tür tanımları yapılmıştır.



Şekil 4.8. Fungal etmenlerin genomik DNA larının ITS1-4, primerleri ile çoğaltılması sonucunda oluşan bandların genel görünüşleri. Elde edilen gen bölgeleri sekans dizilimleri belirlenmek amacıyla firmaya gönderilmiştir.

Yapılan BLAST tarama sonuçlarına göre yer fıstığından izole edilen *Aspergillus niger* Sum8 (ITS GenBank erişim no: **PP790942**); *Sclerotium rolfsii* M39KB (ITS GenBank erişim no: **PP780303**); *Sclerotinia sclerotiorum* K3-2 (ITS GenBank erişim no: **PP776530**); *Macrophomina phaseolina* M5 (ITS GenBank erişim no: **PP776535**); *Rhizoctonia solani* T5-2 (ITS GenBank erişim no: **PP778676**); *Fusarium equiseti* K1-1 (ITS GenBank erişim no: **PP779878**, *TEF-1 α* GenBank erişim no: **PP816298**); *Fusarium solani* K18 (ITS GenBank erişim no: **PP778690**, *TEF-1 α* GenBank erişim no: **PP816296**); *Fusarium brachygibbosum* M19 (ITS GenBank erişim no: **PP778692**, *TEF-1 α* GenBank erişim no: **PP816297**); *Lasioidiplodia pseudotheobromae* K22 (ITS GenBank erişim no: **OR610757**); *tub2* GenBank erişim no: **OR620962**; *TEF-1 α* GenBank erişim no: **PP066970**); *Lasioidiplodia pseudotheobromae* B1 (ITS GenBank erişim no: **OR610719**; *tub2* GenBank erişim no: **OR620961**; *TEF-1 α* GenBank erişim no: **PP066969**); *Lasioidiplodia theobromae* K26 (ITS GenBank erişim no: **OR902160**; *tub2* GenBank erişim no: **OR933967**; *TEF-1 α* GenBank erişim no: **PP066971**) izolatların moleküler tanımları yapıldıktan sonra farklı gen bölgelerine spesifik nükleotid dizileri Gen Bankasına

kayıt edilmiş farklı konukçulardan (Domates, Yonca, Çilek, Biberiye, Patetes, Güngüzeli, çiçeği, Hibiscus, Hurma, Pamuk, Antepfıstığı, Badem, Longan meyvesi, Avokado, Mango, Kakao, Ejder meyvesi, Dut gibi) izole edilen aynı türler ile %99.06 ila %100 oranında benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.2). Detaylı blast taraması sonucunda yer fıstığı izolatlarımızın Gen Bankasında kayıtlı yer fıstığına akraba olan soya fasulyesi, nohut, fasulye gibi (Fabaceae) baklagiller ailesinden birçok konukçu bitkiden izole edilen aynı türe ait izolatlar ile de % 98.73 ila % 100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Ülkemiz için yeni kaydolarak bildirilen *L. pseudotheobromae* izolatlarının daha önceden yer fıstığında rapor edilen izolatlarla %99.06 ila %100 oranında benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Özkaya ve ark., 2024).

Çizelge 4.2. Yer fıstığı bitkilerinden izole edilen fungal izolatların farklı gen bölgelerine ait dizi analizlerine bağlı tanılama sonuçları

Tanısı yapılan fungal izolatlar (Gen bölgesi)	Eşleştigi Erişim Numarası Benzerlik Oranı (%) Konukçu bitkisi	GenBankası Erişim Numaraları
<i>Aspergillus niger</i> Sum8 (ITS)	MK989635 (%100) Domates	PP790942
<i>Sclerotium rolfsii</i> M39KB (ITS) (Syn. <i>Agroathelia rolfsii</i>)	MT812692 (%99.06) Yonca	PP780303
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> K3-2 (ITS)	MK429979 (%100) Çilek	PP776530
<i>Macrophomina phaseolina</i> M5 (ITS)	MT735239 (%100) Biberiye	PP776535
<i>Rhizoctonia solani</i> T5-2 (ITS)	ON055272 (%100) Patates	PP778676
<i>Fusarium equiseti</i> K1-1 (ITS)	MF667967 (%99.19) Güngüzeli	PP779878
<i>Fusarium equiseti</i> K1-1 (TEF-1 α)	ON246159 (%99.84) Hibiscus	PP816298
<i>Fusarium solani</i> K18 (ITS)	MZ675606 (%100) Hurma	PP778690
<i>Fusarium solani</i> K18 (TEF-1 α)	MN689879 (%100) Pamuk	PP816296
<i>Fusarium brachygibbosum</i> M19 (ITS)	OM416259 (%100) AntepFıstığı	PP778692
<i>Fusarium brachygibbosum</i> M19 (TEF-1 α)	KX421378 (%99.69) Badem	PP816297
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> K22 (ITS)	MK368390 (%100) Longan	OR610757
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> K22 (tub2)	OM743237 (%100) Avokado	OR620962
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> K22 (TEF-1 α)	KU507443 (%100) Mango	PP066970

Çizelge 4.2. (Devamı) Yer fıstığı bitkilerinden izole edilen fungal izolatların farklı gen bölgelerine ait dizi analizlerine bağlı tanılama sonuçları

Tanısı yapılan fungal izolatlar (Gen bölgesi)	Eşleştigi Erişim Numarası Benzerlik Oranı (%) Konukçu bitkisi	GenBankası Erişim Numaraları
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> B1 (ITS)	OP999707 (%100) Avokado	OR610719
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> B1 (<i>tub2</i>)	MK693702 (%100) Kakao	OR620961
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i> B1 (<i>TEF-1α</i>)	OQ680029 (%100) Ejder meyvesi	PP066969
<i>Lasiodiplodia theobromae</i> K26 (ITS)	MK696037 (%100) Dut	OR902160
<i>Lasiodiplodia theobromae</i> K26 (<i>tub2</i>)	KX034537 (%100) Mango	OR933967
<i>Lasiodiplodia theobromae</i> K26 (<i>TEF-1α</i>)	KJ641537 (%100) Çilek	PP066971

4.7. Bakterilerin İzolasyonu ve Seçimi

Hastalık sorveylerinde hasta bitkilerin yanındaki sağlıklı yer fıstığı bitkilerinin kök, kökboğazı, gövde, nodül, meyve, sağlıklı bakla gibi farklı kısımlarından antagonist/PGPB karakterli epifitik ve endofitik bakteriler izole edilmiştir. Yapılan izolasyonlar neticesinde 121 adet bakteri izolatu elde edilmiş olup bunların arasından farklı petrilere farklı görünüme sahip 63 adet temsili bakteri izolatu seçilmiştir. Temsili olarak seçilen 63 aday bakteri izolatları tütün bitkisinde aşırı duyarlılık (HR) ve patates yumrusunda yumuşak çürüklük testlerine tabi tutulmuştur. Gerek tütünde HR gerekse patates yumuşak çürüklüğü testinde negatif sonuç veren izolatların insan patojeni olup olmadığının belirlenmesi için 43 adet izolat TSA besi yerine çizildikten sonra 37 °C’de en az 48-72 saat inkübasyona bırakılmış, burada gelişmeyen 43 adet bakteri izolatu etkinlik çalışmalarında kullanılmıştır.

4.8. Bakteri İzolatlarının Tanılanması

Tütün HR, patates yumuşak çürüklük testi ve 37 °C’de negatif sonuç veren bakteri izolatları MALDI-TOF cihazı ile tür düzeylerinde tanılanarak Çizelge 4.3’de verilmiştir. MALDI-TOF ile yapılan tanılama sonucunda 43 izolatın 34 adeti Gram pozitif, 9 adetinin ise Gram negatif izolat olduğu belirlenmiştir. Gram pozitif izolatların, 29 adeti farklı

Bacillus türlerine ait olup, 2 izolat *Paenobacillus* spp., 1'er izolat ise *Microbacterium arborescens*, *Staphylococcus warneri*, *Lactobacillus paracaesi* olarak tanımlanmıştır. *Bacillus* spp. içinde en fazla tespit edilen tür 6 izolatla *Bacillus cereus* olup, bu türü 5'er izolatla *B. megaterium* ve *B. amyloliquefaciens*, 3 izolatla *B. subtilis*, 1'er izolatla *B. licheniformis*, *B. simplex*, *B. pseudomyoides*, *B. infantis*, *B. mojavensis*, *B. atrophaeus*, *B. altitudinus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis spizizenii* ve *B. amyloliquefaciens plantarum* takip etmiştir. Gram negatif olarak belirlenen 9 izolatın ise *Microbacterium testaceum* (2 adet), *Pseudomonas aeruginosa* (2 adet), *Enterobacter bugandensis*, *Arthrobacter globiformis*, *Rhizobium radiobacter*, *Pseudomonas oryzae* ve *Clostridium rovyi* olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. MALDI-TOF ile tanısı yapılan bakteri izolatlarına ait tür tanı sonuçları

İzolat Adı	Gram Reaksiyon	MALDI Benzerlik İndeksi
<i>Arthrobacter globiformis</i> SÇ24ep	-	2.13
<i>Bacillus altitudinus</i> SÇ39en	+	2.05
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> SÇ42en	+	2.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ27ep	+	1.86
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ29en	+	2.40
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ33ep	+	2.15
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ3ep	+	2.07
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	+	1.91
<i>Bacillus atrophaeus</i> SÇ35en	+	2.04
<i>Bacillus cereus</i> SÇ10en	+	2.38
<i>Bacillus cereus</i> SÇ14ep	+	2.47
<i>Bacillus cereus</i> SÇ1en	+	2.47
<i>Bacillus cereus</i> SÇ38en	+	2.40
<i>Bacillus cereus</i> SÇ7ep	+	2.39
<i>Bacillus cereus</i> SÇ8en	+	2.37
<i>Bacillus infantis</i> SÇ26en	+	2.45
<i>Bacillus licheniformis</i> SÇ6ep	+	1.92
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ17ep	+	2.02
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ18en	+	2.04

Çizelge 4.3. (Devamı) MALDI-TOF ile tanısı yapılan bakteri izolatlarına ait tür tanı sonuçları

İzolat Adı	Gram Reaksiyon	MALDI Benzerlik İndeksi
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ20en	+	2.10
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ2en	+	2.16
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ37ep	+	2.19
<i>Bacillus mojavensis</i> SÇ30ep	+	2.02
<i>Bacillus pseudomyoides</i> SÇ15ep	+	2.08
<i>Bacillus simplex</i> SÇ11en	+	1.89
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ16ep	+	1.99
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ19en	+	2.10
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ31en	+	2.35
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> SÇ41en	+	2.15
<i>Bacillus thuringiensis</i> SÇ40en	+	2.31
<i>Clostridium rovyi</i> SÇ32en	-	2.11
<i>Enterobacter bugandensis</i> SÇ13en	-	2.49
<i>Lactobacillus paracaesi</i> SÇ34ep	+	2.23
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ12ep	+	2.327
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ25ep	-	2.21
<i>Microbacterium testaceum</i> SÇ22en	-	1.74
<i>Paenobacillus illinoisensis</i> SÇ4ep	+	2.04
<i>Paenobacillus massiliensis</i> SÇ5ep	+	1.91
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ36en	-	2.35
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ43en	-	2.12
<i>Pseudomonas oryzihabitants</i> SÇ21en	-	2.2
<i>Rhizobium radiobacter</i> SÇ28ep	-	2.08
<i>Staphylococcus warneri</i> SÇ23en	+	2.17

Bitkilerin toprak altı (rizosfer) ve toprak üstü kısımlarının farklı türleri barındıran birçok PGPB'lere ev sahipliği yaptığı iyi bilinmektedir. Bitkilerin rizosfer bölgesinde epifit olarak yaşamlarını sürdüren türlerin zamanla bitki dokuları içine girerek endofitik özellik gösterebilir. Son yıllarda, bitkinin iç kısmının çoğunlukla rizosferden gelen bir dizi endofit tarafından kolonize edildiği, çoğunun hastalık etmenlere karşı bitkileri koruduğu gibi bitki büyümesini veya sağlığını da iyileştirdiği bildirilmiştir (Sturz ve

Nowak, 2000; Hardoim ve ark., 2008). *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* ve *Serratia* gibi çeşitli bakteri türlerini barındıran gerek rizosferik (PGPR) gerekse filosferik (PGPB) bakteri izolatları fitopatogenlerin biyolojik mücadelesinde rol oynayarak farklı konukçu bitkilerde sorun olan çeşitli fungal hastalıkların ortaya çıkışını ve gelişimini engellediği yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir (Siddiqui, 2006; Sayyed ve Chincholkar, 2009; Sayyed ve Patel, 2011; Saharan ve Nehra, 2011; Sayyed ve ark., 2012; Sayyed ve ark., 2013).

4.9. Bakteri İzolatlarının Bölgede Yaygın Görülen Fungal Hastalık Etmenine Karşı *in vitro* Antagonistik Etkinliğinin İkili Kültür Testleri ile Belirlenmesi

Sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen ve tanılaması yapılan aday bakteri izolatlarının sörveylerde yaygın olarak görülen fungal hastalık etmenlerinden *S. rolfsii*, *A. niger* ve *L. pseudotheobromae* izolatlarının misel gelişimini engellemedeki (antagonistik) potansiyelleri ikili kültür testleriyle belirlenmiştir (Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11). Antagonist bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde fungal etmenlerin misel gelişimi (mm) üzerine antagonistik etkinlikleri Çizelge 4.4, Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'de verilmiştir.

4.9.1. Bakteri İzolatlarının *S. rolfsii* Etmenine Karşı *in vitro* Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi

İkili kültür testlemeleri sonucunda 43 farklı bakteri izolatının fungal etmenleri misel gelişimini engelleme düzeyleri açısından değerlendirildiğinde; 10 izolat (%23.25) *S.rolfsii*'nin misel gelişimini **zayıf düzeyde** engellerken, 17 izolatın (%39.53) **orta düzeyde** engellediği, geri kalan 16 izolatın (%37.20) ise **güçlü düzeyde** engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Yapılan istatistik analiz sonucunda izolatlar arasında önemli farklılıkların olduğu, Gram pozitif bakteri türlerinin (özellikle *Bacillus* spp.'ye bağlı izolatlar) hastalık etmeninin misel gelişimini oldukça yüksek düzeylerde engellediği tespit edilmiştir. *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep izolatı tarafından hastalık etmeninin misel gelişimi %80.83 engelleme oranı ile en güçlü bir şekilde engellenirken, bu izolatları

sırasıyla %77.50 ve %73.33 engelleme oranlarıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ27ep ve *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatları izlemiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.9). Yapılan istatistik analiz sonucunda izolatlar arasında antagonistik etkinlikler açısından istatistiksel bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Misel gelişimini engellemede farklı türlere ait bakteri izolatlar ile aynı türe ait izolatlar arasında istatistiksel olarak önemli düzeylerde farklılıklar kayıt edilmiştir (Çizelge 4.4).



Şekil 4.9. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni *S. rolfsii*'nin misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine antagonistik etkinlikleri.

Çizelge 4.4. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen antagonist bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *S. rolfsii* etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

İzolat	MG (mm)	MGE (%)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	7.67 ^a	80.83
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ27ep	9.00 ^{ab}	77.50
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ19en	10.67 ^{a-c}	73.33
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ29en	13.33 ^{a-d}	66.67
<i>Bacillus cereus</i> SÇ14ep	14.00 ^{a-e}	65.00
<i>Bacillus subtilis</i> spizizenii SÇ41en	15.00 ^{a-f}	62.50
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ16ep	16.00 ^{b-g}	60.00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ36en	16.52 ^{b-g}	58.70
<i>Bacillus lichoniformis</i> SÇ6ep	16.67 ^{b-g}	58.33
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ3ep	17.00 ^{c-g}	57.50
<i>Bacillus cereus</i> SÇ7ep	17.00 ^{c-g}	57.50

Çizelge 4.4. (Devamı) Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen antagonist bakteri izolatların in vitro ikili kültür testlerinde *S. rolfsii* etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

<i>İzolat</i>	MG (mm)	MGE (%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ43en	17.33 ^{c-g}	56.67
<i>Bacillus cereus</i> SÇ8en	17.67 ^{c-g}	55.83
<i>Staphylococcus warneri</i> SÇ23en	18.00 ^{c-g}	55.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ33ep	18.33 ^{c-h}	54.17
<i>Enterobacter bugandensis</i> SÇ13en	19.33 ^{d-i}	51.67
<i>Lactobacillus paracaesi</i> SÇ34ep	20.33 ^{d-j}	49.17
<i>Arthrobacter globiformis</i> SÇ24ep	21.00 ^{d-k}	47.50
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ25ep	21.00 ^{d-k}	47.50
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ20en	21.33 ^{e-k}	46.67
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ2en	22.00 ^{f-k}	45.00
<i>Clostridium rovyi</i> SÇ32en	22.33 ^{f-k}	44.17
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> SÇ42en	22.33 ^{f-k}	44.17
<i>Bacillus cereus</i> SÇ1en	22.67 ^{f-l}	43.33
<i>Bacillus cereus</i> SÇ10en	23.00 ^{g-l}	42.50
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ12ep	23.00 ^{g-l}	42.50
<i>Bacillus simplex</i> SÇ11en	23.67 ^{g-m}	40.83
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ17ep	23.67 ^{g-m}	40.83
<i>Bacillus atrophaeus</i> SÇ35en	26.00 ^{h-n}	35.00
<i>Bacillus infantis</i> SÇ26en	26.67 ^{i-o}	33.33
<i>Microbacterium testaceum</i> SÇ22en	27.33 ^{j-p}	31.67
<i>Rhizobium radiobacter</i> SÇ28ep	28.00 ^{j-r}	30.00
<i>Bacillus altitudinus</i> SÇ39en	28.67 ^{k-s}	28.33
<i>Bacillus mojivensis</i> SÇ30ep	30.33 ^{l-s}	24.17
<i>Paenobacillus illinoisensis</i> SÇ4ep	31.00 ^{m-t}	22.50
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ31en	31.33 ^{m-t}	21.67
<i>Pseudomonas oryzihabitants</i> SÇ21en	32.33 ^{n-u}	19.17
<i>Paenobacillus massiliensis</i> SÇ5ep	34.00 ^{o-u}	15.00
<i>Bacillus cereus</i> SÇ38en	35.00 ^{p-u}	12.50
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ18en	35.33 ^{r-u}	11.67
<i>Bacillus thuringiensis</i> SÇ40en	35.33 ^{r-u}	11.67
<i>Bacillus pseudomycoides</i> SÇ15ep	36.00 ^{s-u}	10.00
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ37ep	38.67 ^{tu}	3.33
Kontrol	40.00 ^u	-

MG: Misel Gelişimi; **MGE:** Misel Gelişiminin Engellenme oranı (%)

^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P<0.05$)

Çalışmalarımızda *S. rolfsii*'nin misel gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen antagonist bakteri türü olan *Bacillus amyloliquefaciens*'in biyokontrol etkinliği üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır.

Abd-Allah, (2005) yer fıstığı tohumlarının *Bacillus subtilis* ile ön muamelesi sonucunda *S. rolfsii*'ye karşı koruma sağladığı ve bakla sayısını önemli ölçüde arttırdığını bildirmiştir.

Lu ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada, *Bacillus amyloliquefaciens* 41B-1 izolatının yer fıstığı bitkilerinde *S. rolfsii*'nin misel gelişimini önemli ölçüde engellediğini, yapılan mikroskopik gözlemlerde antagonist bakteri izolatının fungus misellerinin morfolojik yapılarında ciddi tahribatlara neden olmalarının yanı sıra petrilerde sklerot sayısının da ciddi düzeyde baskılandığı bildirilmiştir.

Ahmad ve ark. (2019) *B. subtilis*'in B4, B7, B8 ve B10 kodlu dört izolatını, yer fıstığında sorun olan *R. solani* ve *S. rolfsii*'nin *in vitro* misel büyümesinin engellenmesi üzerindeki antagonistik etkinliklerini incelemişlerdir. Yapmış oldukları ikili kültür testlerinde *B. subtilis* izolatlarının antagonistik etkinlikleri arasında önemli bir farkın olmadığını, *B. subtilis* B4 izolatının *S. rolfsii*'nin misel gelişimini %54.7 düzeyinde engellemek suretiyle en yüksek antagonistik etkiye sahip izolat olduğunu bildirmişlerdir.

Rakh ve ark. (2020) *S. rolfsii*'nin mikrobiyolojik kontrolü için sağlıklı bitkilerin farklı rizosferik bölgelerinden 189 *Bacillus* spp. izole ederek ikili kültür tekniği ile *S. rolfsii*'ye karşı *in vitro* antagonistik etkinliklerini belirlemişlerdir. Yapılan testlerde *Bacillus* spp.'ye ait RRR6, RRR 15, RRR 16, RRR 18, RRR 19, RRR 20, RRR 26, RRR 29, RRR 30, RRR 31, RRR 33, RRR 34, RRR 36, RRR 37, RRR 38, RRR 39, RRR 40, RRR 41, RRR 53 ve RRR 57 izolatlarının diğer *Bacillus* türlerinin aksine yer fıstığı kök çürüklüğü etmeni *S. rolfsii*'nin misel gelişimini %78.37-92.30 aralığında değişen oranlarda engellemek suretiyle oldukça etkili antagonistik etkinlik gösterdiğini, moleküler tanılamalar sonucunda etkili izolatların *Bacillus amyloliquefaciens* ve *B. mojavensis* olarak tanımladıklarını bildirmişlerdir.

Akash ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada yer fıstığı rizosfer toprağından izole edilen 111 bakteri ve 9 *Trichoderma* izolatının antagonistik etkisini yer fıstığı kök çürüklüğü patojeni *S. rolfsii*'ye karşı *in vitro* koşullarda değerlendirmişlerdir. İzolatlar arasından 16S rDNA ve ITS rDNA tabanlı dizi analizleri sonucunda *B. subtilis* (6 izolat), *B. amyloliquefaciens* (1 adet) ve *Trichoderma asperellum* (1 adet) olarak tanımlanan

izolatlar ikili kültür testinde diğer izolatlarla kıyasla oldukça yüksek düzeyde antagonistik etkinlik göstermiştir.

Sunkad ve ark. (2023) PGPR ve antagonist karakterli 19 farklı yerli *Bacillus* spp.'ye ait izolatların yer fıstığında bitki büyümesini teşvik etmek ve *S. rolfsii* tarafından neden olunan hastalık çıkışını baskılamak için test etmişlerdir. Yapmış oldukları *in vitro* ve *in vivo* testlerde *Bacillus* spp. izolatlarının tamamının *S. rolfsii*'ye karşı antagonistik etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Patojen üzerinde daha yüksek düzeyde engelleme gösteren beş *Bacillus* spp. izolatını moleküler yöntemlerle tanılamışlar, sonuç olarak izolatların *B. subtilis*, *B. pacific*, *B. cereus* ve *B. tropicus*'a ait olduğunu belirlemişlerdir.

Bacillus spp.'ye ait izolatların *S. rolfsii*'ye karşı antagonistik aktivitelerinin araştırıldığı birçok çalışmada saksı deneylerinde kök çürüklüğü hastalık çıkışı ve şiddetinin kullanılan izolatlar tarafından önemli düzeylerde baskılandığı bildirilmiştir (Yang ve ark., 2017; Li, 2018; Chen ve ark., 2020a; Jia ve ark., 2023).

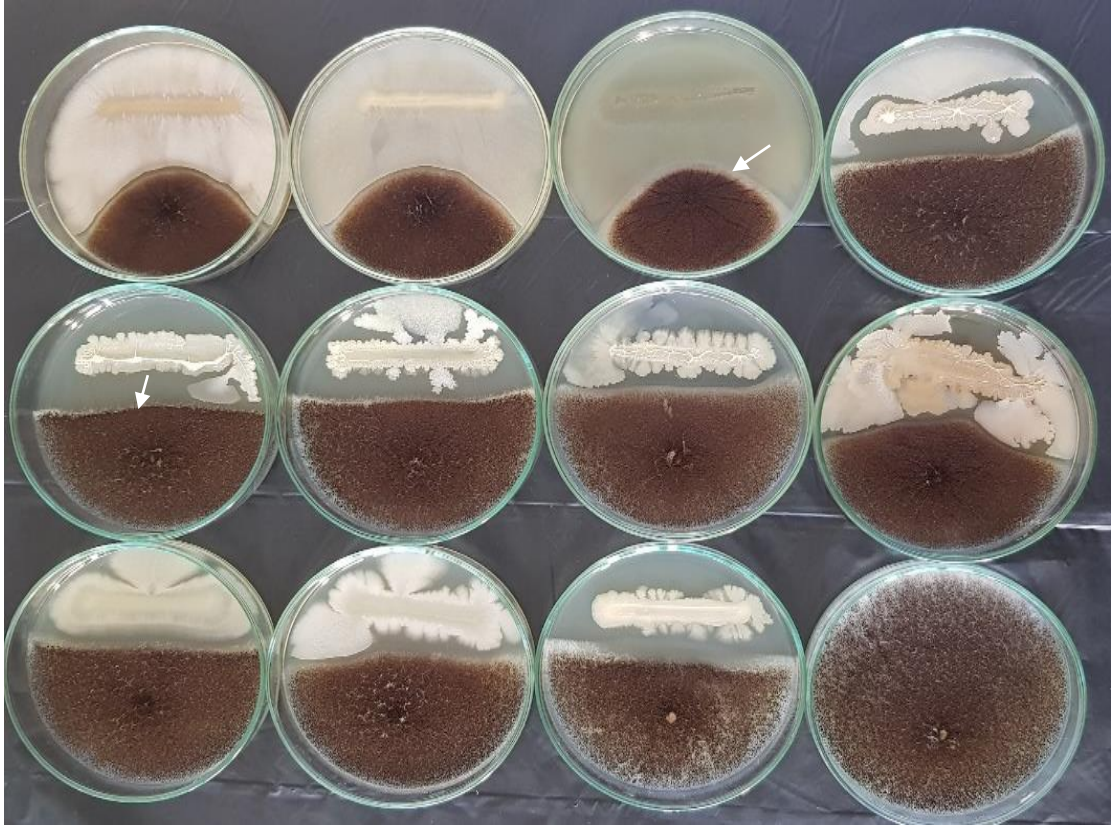
S. rolfsii'nin biyolojik kontrolü üzerine yapılan çalışmalarda *Bacillus* spp.'nin yanı sıra *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerin de *in vitro* misel büyümesini kısıtlayabildiği bildirilmiştir (Ganesan ve Gnanamanickam, 1987; Kishore ve ark., 2005a; Ganesan ve ark., 2007; Curtis ve ark., 2010; Pastor ve ark., 2010; Tonelli ve ark., 2010).

Ülkemizde yer fıstığında sorun olan *S. rolfsii*'ye karşı fungal antagonist *T. harzianum* içerikli ticari preparatın kullanıldığı biyolojik mücadele çalışmasının yanı sıra (Keleş, 2020), antagonist floresan *Pseudomonas* (Doğan, 1995) ve aktinomiset bakteri izolatlarının (Şengül, 1995) biyokontrol etkisinin belirlenmesine yönelik yapılmış oldukça kısıtlı sayıda çalışmalar bulunmaktadır.

4.9.2. Bakteri İzolatlarının *A. niger* Etmenine Karşı *in vitro* Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi

Bakterilerin *in vitro* biyokontrol potansiyelleri bir diğer yaygın fungal hastalık etmeni *A. niger*'e karşı test edilmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.10). Test edilen 43 izolat arasında 5 izolatın (%11.62) *A. niger*'in misel gelişimini hiç engellemediği, 7 izolatın (%16.27) misel gelişimini %6.11-23.89 engelleme oranlarında **zayıf düzeyde**, 8 izolatın (%18.60) misel gelişimini %32.78-49.44 engelleme oranlarında **orta düzeyde**, geriye kalan 23 izolatın (%53.48) ise misel gelişimini >%50 oranlarda olmak üzere **güçlü**

düzeyde engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.10). Yapılan istatistik analiz sonucunda izolatlar arasında önemli farklılıklar olduğu, Gram pozitif bakteri türlerinin (özellikle *Bacillus* spp bağlı izolatlar) hastalık etmeninin misel gelişimini oldukça yüksek düzeylerde engellediği tespit edilmiştir. Hastalık etmeninin misel gelişimini, %84.44 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ3ep izolatı en yüksek düzeyde engellerken, bu izolatı sırasıyla %83.89 engelleme oranıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ33ep ve %77.78 engelleme oranlarıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ29en ve *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatları izlemiştir (Çizelge 4.5). Misel gelişimini engellemede farklı türlere ait bakteri izolatları arasında olduğu kadar aynı türe ait bakteri izolatların antagonist etkinliklikleri arasında istatistiksel olarak önemli düzeylerde farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4.10. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni *A. niger*'in misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine antagonistik etkinlikleri.

Çizelge 4.5. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *A. niger* etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

İzolat	MG (mm)	%MGE
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ3ep	9.33 ^a	84.44
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ33ep	9.67 ^{ab}	83.89
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ29en	13.33 ^{a-c}	77.78
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ36en	13.33 ^{a-c}	77.78
<i>Lactobacillus paracaesi</i> SÇ34ep	14.33 ^{a-d}	76.11
<i>Clostridium rovyi</i> SÇ32en	14.67 ^{b-d}	75.56
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ43en	15.33 ^{c-e}	74.44
<i>Bacillus mojavensis</i> SÇ30ep	16.00 ^{c-f}	73.33
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	18.00 ^{c-g}	70.00
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ31en	19.00 ^{d-h}	68.33
<i>Bacillus cereus</i> SÇ38en	19.00 ^{d-h}	68.33
<i>Bacillus atrophaeus</i> SÇ35en	20.00 ^{e-i}	66.67
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ19en	21.00 ^{f-j}	65.00
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ16ep	21.00 ^{f-j}	65.00
<i>Bacillus cereus</i> SÇ10en	21.00 ^{f-j}	65.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> SÇ42en	21.33 ^{g-j}	64.44
<i>Bacillus cereus</i> SÇ1en	22.67 ^{g-j}	62.22
<i>Bacillus cereus</i> SÇ14ep	23.00 ^{g-j}	61.67
<i>Bacillus altitudinus</i> SÇ39en	23.67 ^{h-j}	60.56
<i>Bacillus cereus</i> SÇ7ep	24.67 ^{ij}	58.89
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ18en	35.67 ^{m-o}	58.89
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> SÇ41en	25.33 ^{jk}	57.78
<i>Bacillus cereus</i> SÇ8en	25.33 ^{jk}	57.78
<i>Bacillus simplex</i> SÇ11en	50.00 ^{pr}	49.44
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ37ep	31.67 ^{lm}	47.22
<i>Enterobacter bugandensis</i> SÇ13en	33.33 ^{l-n}	44.44
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ2en	35.00 ^{l-n}	41.67
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ20en	35.33 ^{l-o}	41.11
<i>Bacillus thuringiensis</i> SÇ40en	24.67 ^{ij}	40.56
<i>Bacillus lichoniformis</i> SÇ6ep	37.33 ^{no}	37.78
<i>Microbacterium testaceum</i> SÇ22en	40.33 ^o	32.78
<i>Arthrobacter globiformis</i> SÇ24ep	45.67 ^p	23.89
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ27ep	48.33 ^p	19.44
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ17ep	30.33 ^{kl}	16.67
<i>Paenobacillus massiliensis</i> SÇ5ep	50.33 ^{pr}	16.11
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ12ep	54.33 ^{rs}	9.44
<i>Paenobacillus illinoisensis</i> SÇ4ep	55.67 st	7.22
<i>Staphylococcus warneri</i> SÇ23en	56.33 st	6.11
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ25ep	60.00 ^t	0.00

Çizelge 4.5. (Devamı) Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *A. niger* etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

İzolat	MG (mm)	%MGE
<i>Bacillus infantis</i> SÇ26en	60.00 ^t	0.00
<i>Rhizobium radiobacter</i> SÇ28ep	60.00 ^t	0.00
<i>Pseudomonas oryzae</i> SÇ21en	60.00 ^t	0.00
<i>Bacillus pseudomycoloides</i> SÇ15ep	60.00 ^t	0.00
Kontrol	60.00 ^t	-

MG: Misel Gelişimi; **MGE:** Misel Gelişiminin Engellenme oranı (%)

^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P<0.05$)

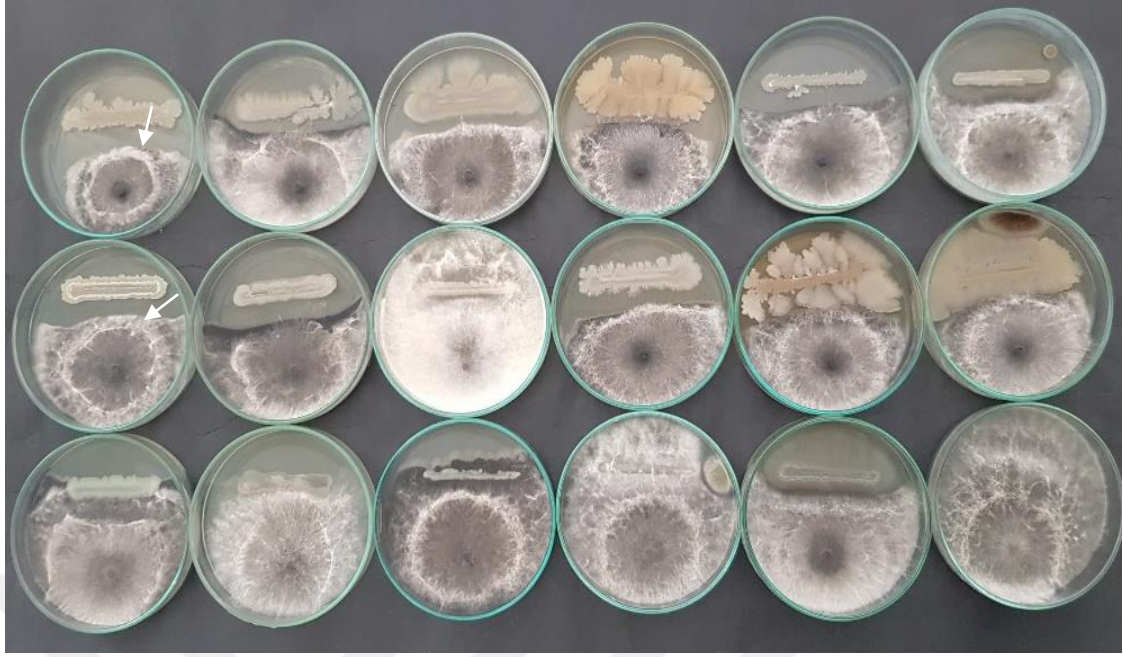
Yer fıstığı kök ve kökboğazı çürüklük hastalık etmeni *A. niger*'e karşı antagonistik bakterilerin biyokontrol etkinliği daha önceden yapılmış kısıtlı sayıda çalışmalarda bildirilmiştir. Ziedan (2006) *A. niger* ve *Fusarium oxysporum* tarafından neden olunan yer fıstığı kök ve bakla çürüklüğü hastalıklarının yer fıstığı verimini etkileyen en ciddi hastalıklar olduğunu bildirmiştir. Yer fıstığı kök ve bakla çürüklüğünün epidemik olduğu Mısır'ın Nobaria ilinde yer fıstığı sağlıklı köklerinin iç dokularından izole edilmiş 25 farklı endofitik bakteri izolatı arasından *Bacillus subtilis*'in 3 izolatı ile *Pseudomonas fluorescens* izolatının *in vitro* da patojenlere karşı yüksek düzeylerde antagonistik etki gösterdiğini saptamıştır. Çalışmanın sonucunda bakteri izolatlarının kök ve bakla çürüklüğü hastalıklarının kontrolünde biyokontrol etmeni olarak kullanılma potansiyelinin olduğunu vurgulamıştır.

Mirabile ve ark. (2022) tarafından yapılan çalışmada *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 (BaAG1) izolatının *in vitro* antagonistik etkinliği 7 farklı *Aspergillus* spp.'ye karşı değerlendirilmiştir. Antagonist bakteri izolatının test edildiği *Aspergillus* spp.'nin misel gelişimini kontrollere kıyasla %46.53-60.92 engelleme oranlarında baskıladığını bildirmişlerdir.

Yapılan literatür taramasında yer fıstığında *A. niger*'in biyolojik mücadelesine yönelik ülkemizde yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ülkemizde antagonist bakterilerin *A. niger*'e karşı yüksek seviyede biyokontrol etkinliğe sahip olduğunu gösteren ilk çalışma niteliğindedir.

4.9.3. Bakteri İzolatlarının *L. pseudotheobromae* Etmenine Karşı *in vitro* Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi

Bakterilerin yer fıstığından izole edilen ve ülkemiz için yeni bir tür olarak belirlenen *Lasioidiplodia pseudotheobromae*'e karşı biyoetkinlikleri *in vitro* koşullarda test edilmiştir. Test edilen 43 izolat arasında fungal hastalık etmeni *L. pseudotheobromae*'in misel gelişimini 15 izolatın hiç egellemediği (%34.88), 3 izolatın (%6.97) %7.78-20.56 gibi değişen oranlarında **zayıf düzeyde**, 5 izolatın (%11.62) misel gelişimini %36.11-49.44 gibi değişen oranlarda **orta düzeyde**, geri kalan 20 izolatın (%46.51) ise misel gelişimini >%50 oranlarda olmak üzere **güçlü düzeyde** engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.6, Şekil 4.11). Yapılan istatistik analiz sonucunda izolatlar arasında önemli farklılıkların olduğu, Gram pozitif bakteri türlerinin (özellikle *Bacillus* spp bağlı izolatlar) hastalık etmeninin misel gelişimini oldukça yüksek düzeylerde engellediği tespit edilmiştir. Hastalık etmeninin misel gelişimi %86.11 engelleme oranı ile en güçlü şekilde *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatı tarafından engellenirken, bu izolatı %65.56 engelleme oranıyla *Bacillus atrophaeus* SÇ35en ve *Bacillus cereus* SÇ8en, %64.44 engelleme oranıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ33ep izolatları izlemiştir (Çizelge 4.6). Diğer fungal türlerde olduğu gibi *L. pseudotheobromae*'nin misel gelişimini engellemede farklı türlere ait antagonist bakteri izolatlar arasında olduğu kadar aynı türe ait antagonist bakteri izolatların antagonist etkinliklikleri arasında istatistiksel olarak önemli düzeylerde farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4.11. Farklı epifit ve endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde fungal hastalık etmeni *L. pseudotheobromae*'nin misel gelişiminin engellenmesi (ok) üzerine antagonistik etkinlikleri.

Çizelge 4.6. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *pseudotheobromae* etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

İzolat	MG (mm)	%MGE
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ19en	8.33 ^a	86.11
<i>Bacillus atrophaeus</i> SÇ35en	20.67 ^b	65.56
<i>Bacillus cereus</i> SÇ8en	20.67 ^b	65.56
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ33ep	21.33 ^b	64.44
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	21.67 ^{bc}	63.89
<i>Bacillus cereus</i> SÇ14ep	21.67 ^{bc}	63.89
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ3ep	22.33 ^{b-d}	62.78
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ16ep	22.33 ^{b-d}	62.78
<i>Bacillus cereus</i> SÇ10en	23.33 ^{b-e}	61.11
<i>Lactobacillus paracaesi</i> SÇ34ep	23.67 ^{b-e}	60.56
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantorum</i> SÇ42en	24.67 ^{c-f}	58.89
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ29en	25.33 ^{d-g}	57.78
<i>Bacillus mojavensis</i> SÇ30ep	25.33 ^{d-g}	57.78
<i>Bacillus cereus</i> SÇ38en	25.67 ^{e-h}	57.22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ36en	27.67 ^{f-i}	53.89
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> SÇ41en	28.33 ^{g-j}	52.78
<i>Clostridium rovyi</i> SÇ32en	28.67 ^{h-j}	52.22
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ43en	28.67 ^{h-j}	52.22

Çizelge 4.6. (Devamı) Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *L. pseudotheobromae* etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

İzolat	MG (mm)	%MGE
<i>Bacillus cereus</i> SÇ7ep	28.67 ^{h-j}	52.22
<i>Bacillus altitudinus</i> SÇ39en	29.67 ^{ij}	50.56
<i>Bacillus cereus</i> SÇ1en	30.33 ^{i-k}	49.44
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ31en	31.33 ^{j-l}	47.78
<i>Enterobacter bugandensis</i> SÇ13en	33.33 ^{kl}	44.44
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ27ep	33.67 ^l	43.89
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ17ep	59.00 ^p	36.11
<i>Microbacterium testaceum</i> SÇ22en	47.67 ⁿ	20.56
<i>Rhizobium radiobacter</i> SÇ28ep	49.67 ⁿ	17.22
<i>Paenobacillus massiliensis</i> SÇ5ep	55.33 ^o	7.78
<i>Bacillus pseudomycoides</i> SÇ15ep	58.33 ^{op}	2.78
<i>Pseudomonas oryzihabitants</i> SÇ21en	58.67 ^p	2.22
<i>Bacillus simplex</i> SÇ11en	38.33 ^m	1.67
<i>Arthrobacter globiformis</i> SÇ24ep	59.00 ^p	1.67
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ25ep	59.33 ^p	1.11
<i>Bacillus lichoniformis</i> SÇ6ep	59.67 ^p	0.56
<i>Paenobacillus illinoisensis</i> SÇ4ep	59.67 ^p	0.56
<i>Staphylococcus warneri</i> SÇ23en	59.67 ^p	0.56
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ37ep	60.00 ^p	0.00
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ2en	60.00 ^p	0.00
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ20en	60.00 ^p	0.00
<i>Bacillus thuringiensis</i> SÇ40en	21.33 ^b	0.00
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ12ep	60.00 ^p	0.00
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ18en	60.00 ^p	0.00
<i>Bacillus infantis</i> SÇ26en	60.00 ^p	0.00
Kontrol	60.00 ^p	-

MG: Misel Gelişimi; MGE: Misel Gelişiminin Engellenme oranı (%)

^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P<0.05$)

Yapılan literatür taramasında dünyada ve ülkemizde antagonist bakterilerin yer fıstığında sorun olan *L. pseudotheobromae*'ya karşı biyolojik mücadele etkinliğinin belirlenmesi üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Ülkemizde yer fıstığında sorun olan toprak kökenli fungal hastalık etmeni olarak ilk kez çalışmamızda belirlediğimiz *L. pseudotheobromae*'ya karşı *in vitro* ikili kültür testlerde antagonist bakterilerin biyoetkinliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Farklı bitkilerden elde edilmiş antagonist bakteri izolatlarının *Lasioidiplodia* spp.'ne (*Lasioidiplodia pseudotheobromae* ve *Lasioidiplodia theobromae*) karşı *in vitro* biyokontrol etkinliği farklı ülkelerde yapılmış çalışmalarda bildirilmiştir. Chukeatirote ve ark. (2018) tarafından yapılan çalışmalarda kök bölgelerinden izole edilen 890 kök bakterisinin antagonistik etkinliği *Lasioidiplodia theobromae*'ya karşı ikili kültür testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçta 149 izolatin fungal gelişimini engelleme etkinliği gösterdiği saptanmıştır. Antagonist bakterilerin hücresiz kültür süpernatantlarının antagonistik etkinliği test edildiğinde, 78 bakteri izolatının hücre kültürlerinin değişen oranlarda antagonistik etki gösterdiği, en yüksek etkinliğin %60'lık engelleme oranı ile JN15 kodlu bakteri izolatı tarafından gösterildiği bildirilmiştir. Sinameki ağacından (*Senna siamea*) izole edilen JN15 bakteri izolatının morfolojik, biyokimyasal profiller ve 16S rRNA gen dizisi analizlerine göre *Bacillus amyloliquefaciens* olduğu belirlenmiştir.

Pipattanapuckdee ve ark. (2023) sağlıklı longan meyvesinden izole ettikleri antagonist bakteri izolatını morfolojik, biyokimyasal ve moleküler karakterizasyona dayalı olarak *Bacillus siamensis* olarak tanımlamışlardır. *Bacillus siamensis* RFCD306 izolatının ikili kültür yöntemi ile fungus misel gelişimini %94.40 oranında engellediğini saptamışlardır. *B. siamensis* RFCD306'nın misel gelişimi ve konidi çimlenmesinin engellenmesinde ortaya çıkan morfolojik değişiklikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) altında incelediklerinde, konidi çim borucukları ve misellerin morfolojik yapılarında ciddi bozukluklarının olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca, *B. siamensis* RFCD306'dan *srfA*, *ituA*, *bacD* ve *bymA*'dan oluşan dört antibiyotik sentezi ile ilişkili genin varlığını moleküler analizlerle tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda, söz konusu bu genlerin antagonist bakterinin antifungal aktivitesinde rol oynayabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca, hasat edilen longan meyvelerinde *B. siamensis* RFCD306'nın hastalık kontrol etkinliği değerlendirilmiş ve bakterinin meyve çürüklüğü hastalığının görülme sıklığını istatistiksel olarak önemli düzeyde azalttığı belirlenmiştir.

Li ve ark. (2023) hastalığın görüldüğü avokado ağaçlarının köklerinden izole ettikleri fungal hastalık etmenini *Lasioidiplodia theobromae* olarak tanımlamışlardır. Aynı zamanda, sağlıklı avokado bitkilerinin rizosferik toprağından izole ettikleri *Bacillus velezensis*'in üç izolatının (YK194, YK201 ve YK268) antagonistik etkinliğini *L. theobromae*'ye karşı test etmişlerdir. Yapmış oldukları *in vivo* etkinlik çalışmalarında

yaprak, kısmi dal ve ağaçların tamamına YK194, YK201 ve YK268 izolatlarını uygulamışlar, elde ettikleri gözlemlerde bakteri uygulamalarının yapıldığı avokado yapraklarının yanı sıra dallarda hastalık geliştirmedeği gibi ağaçlarda da hastalık çıkışının önemli ölçüde baskılandığını belirlemişlerdir. Dal denemelerinde, YK201, YK194, YK268 izolatlarının biyolojik kontrol etkinliği sırasıyla %52.70, %62.07 ve %72.45 oranlarında, bahçe denemelerinde ise sırasıyla %63.43, %63.85 ve %73.86 oranlarında olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlarda bu üç izolatın avokado dal yanıklığı üzerinde önemli biyolojik kontrol etkilerine sahip olduğunu saptamışlardır. Antagonistik izolatların etki mekanizması üzerine yapmış oldukları araştırmada, *B. velezensis* YK268'in *L. theobromae*'nin spor çimlenmesini önemli ölçüde engelleyebilen lipopeptidler: surfactin, fengycin ve iturin üretebildiğini ve bu üç izolatın *L. theobromae*'ye karşı biyokontrol etmenleri olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Parmar ve ark. (2024) yaptıkları araştırmada farklı biyolojik mücadele etmeni (BCA) *L. theobromae*'ye karşı önleyici aktivitesini değerlendirmişlerdir. *Trichoderma viride* NAU, *T. harzianum* NAU, *Pseudomonas fluorescens* NAU, *Bacillus subtilis* NAU izolatlarının yanı sıra rizosferik aktinobakteriler gibi farklı BCA'lar ikili kültür tekniği ile test edilmiştir. Farklı BCA'lar arasından en yüksek engelleme etkinliğini *T. viride* izolatının (%71.47) gösterdiğini, bu izolatı *T. harzianum* (%67.15) ve rizosferik aktinobakterilerin (%47.84) izlediğini, *P. fluorescens* (%3.46) izolatının ise patojene karşı etkinliğinin olmadığını bildirmişlerdir. Sonuçta, tüm BCA'lar arasında fungal antagonist *T. viride*'nin *L. theobromae*'ye karşı en etkili izolat olduğunu belirlemişlerdir.

Suksakol ve ark. (2024) longan meyvesinde sorun olan fungal hastalık etmeni *P. oxanthi* ve *L. pseudotheobromae*'ye karşı sağlıklı longan yapraklarından ve köklerinden izole edilmiş iki farklı bakteriyel izolatın (UP-JLS050 ve UP-JLS067) yüksek antagonistik etkinliğe sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bakteri izolatları ile yapılan ikili kültür testlerinde, UP-JLS050 ve UP-JLS067 izolatlarının fungus misel gelişimini engellenmesinde sırasıyla %72.67 ve 70.37 engelleme oranlarında antagonistik etkinlik sergilediğini bildirmişlerdir. İzolatlar ile yapılan morfolojik, biyokimyasal ve 16S rDNA geni dizilimi (moleküler) analizleri sonucunda, antagonist bakteri izolatlarını *Bacillus subtilis* UP-JLS050 ve *Bacillus amyloliquefaciens* UP-JLS067 olarak tanılamışlardır. Longan meyvesi üzerinde yapılan *in vivo* testlerde, 10^8 CFU/mL

konsantrasyonda uygulanan antagonist bakterilerin, 9 günlük inkübasyonun ardından *B. subtilis* UP-JLS050 ve *B. amyloliquefaciens* UP-JLS050 izolatlarının uygulama yapıldıkları meyveler üzerinde hastalık görülme sıklığını sırasıyla %45 ve %32.5 oranlarında baskıladığını bildirmişlerdir.

Sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden izole edilmiş 43 adet bakteri izolatının *Sclerotium rolfsii*, *Aspergillus niger* ve *Lasiodiplodia pseudotheobromae* fungal hastalık etmenlerinin misel gelişmelerini engellemede göstermiş oldukları antagonistik etkileri toplu olarak değerlendirildiğinde (Çizelge 4.7); bakteri izolatların *S. rolfsii*'nin misel gelişimini %3.33-80.83 aralığında engellediği, engelleme ortalamasının ise %42.68 olduğu görülmüştür. *A. niger* için yapılan değerlendirmede misel gelişimi %0.00-84.44 aralığında engellendiği, engelleme ortalamasının ise %46.69 olduğu gözlenmiştir. Test edilen bakterilerin *L. pseudotheobromae* etmenine karşı diğer iki türe kıyasla daha düşük etkinlik gösterdiği gözlenmiştir. *L. pseudotheobromae*'nin misel gelişimi %0.0-86.11 oranında engellendiği, engelleme ortalamasının %35.93 olduğu tespit edilmiştir.

Söz konusu 3 farklı hastalık etmeninin misel gelişimini güçlü düzeyde (>%50) engelleme etkinliği gösteren 12 izolatın olduğu tespit edilmiş olup, 4 farklı izolatın (*Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep, *Bacillus subtilis* SÇ19en, *Bacillus cereus* SÇ14ep, *Bacillus subtilis* SÇ16ep gibi) misel gelişiminin engellenmesi üzerinde oldukça yüksek düzeyde ($\geq$ %60) antagonistik etkinlik gösterdiği çalışmamızda belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Test edilen 26 bakteri izolatı (*Bacillus amyloliquefaciens* SÇ27ep, *Bacillus subtilis* spizizenii SÇ41en, *Bacillus lichoniformis* SÇ6ep, *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ3ep, *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ33ep, *Lactobacillus paracaesi* SÇ34ep, *Arthrobacter globiformis* SÇ24ep, *Bacillus megaterium* SÇ20en, *Bacillus megaterium* SÇ2en, *Clostridium rovyi* SÇ32en, *Bacillus amyloliquefaciens* plantorum SÇ42en, *Microbacterium arborescens* SÇ12ep, *Bacillus simplex* SÇ11en, *Bacillus megaterium* SÇ17ep, *Rhizobium radiobacter* SÇ28ep, *Paenobacillus illinoisensis* SÇ4ep, *Bacillus cereus* SÇ38en, *Bacillus thuringiensis* SÇ40en, *Bacillus megaterium* SÇ37ep, *Bacillus subtilis* SÇ19en, *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ29en, *Staphylococcus warneri* SÇ23en, *Bacillus altitudinus* SÇ39en, *Bacillus mojivensis* SÇ30ep, *Bacillus subtilis* SÇ31en, *Bacillus megaterium* SÇ18en) 3 farklı hastalık etmeninin misel gelişimini engellemede istatistiksel olarak “önemli düzeyde” antagonistik farklılık göstermiştir (Çizelge 4.7).

Antagonist bakteriler arasında 4 izolatın (*Paenobacillus illinoisensis* SÇ4ep, *Pseudomonas oryzihabitans* SÇ21en, *Paenobacillus massiliensis* SÇ5ep, *Bacillus pseudomyoides* SÇ15ep) test edildikleri 3 farklı fungusun misel gelişimini engellemede %24.99'un altında engelleme oranları göstermek suretiyle düşük (zayıf) etkinlik gösterdiği belirlenmiştir.

Test edilen 43 izolatın 24 tanesi endofit, 19 tanesi ise epifit karakterde bakteri izolatıdır. Bu izolatların fungal etmenlerin misel gelişimini engellemede gösterdiği antagonistik etkinlik değerlerinin ortalaması ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Test edilen 24 endofit bakteri izolatının *S. rolfsii*'nin misel gelişimini ortalama %41.34, *A. niger* misel gelişimini %52.36, *L. pseudotheobromae* etmeninin misel gelişimini ise %39.38 oranlarında engellediği belirlenmiştir.

Test edilen 19 epifit bakteri izolatının *S. rolfsii*'nin misel gelişimini ortalama %44.39, *A. niger* misel gelişimini %39.53, *L. pseudotheobromae* etmeninin misel gelişimini ise %31.58 oranlarında engellediği belirlenmiştir.

Endofit bakteri izolatlarının 3 farklı hastalık etmenine karşı göstermiş olduğu ortalama antagonistik etkinlik %44.36 olarak belirlenirken, epifit özellikteki izolatların ortalama antagonistik etkinlik değeri ise %38.50 olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde test edilen hastalık etmenlerinin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

Bakteri izolatı	Antagonistik Etki ^a		
	<i>S.rolfsii</i>	<i>A.niger</i>	<i>L. pseudotheobromae</i>
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	80.83 ^{aA}	70.00 ^{c-gB}	63.89 ^{bcB}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ27ep	77.50 ^{abA}	19.44 ^{pC}	43.89 ^{lB}
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ19en	73.33 ^{a-cB}	65.00 ^{f-jC}	86.11 ^{aA}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ29en	66.67 ^{a-dB}	77.78 ^{a-cA}	57.78 ^{d-gC}
<i>Bacillus cereus</i> SÇ14ep	65.00 ^{a-eA}	61.67 ^{g-jB}	63.89 ^{bcB}
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> SÇ41en	62.50 ^{a-fA}	57.78 ^{jkB}	52.78 ^{g-jC}
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ16ep	60.00 ^{b-gB}	65.00 ^{f-jA}	62.78 ^{b-dB}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ36en	58.70 ^{b-gB}	77.78 ^{a-cA}	53.89 ^{f-iB}
<i>Bacillus lichoniformis</i> SÇ6ep	58.33 ^{b-gA}	37.78 ^{noB}	0.56 ^{pC}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ3ep	57.50 ^{c-gC}	84.44 ^{aA}	62.78 ^{b-dB}
<i>Bacillus cereus</i> SÇ7ep	57.50 ^{c-gA}	58.89 ^{ijA}	52.22 ^{h-jB}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ43en	56.67 ^{c-gB}	74.44 ^{c-eA}	52.22 ^{h-jB}
<i>Bacillus cereus</i> SÇ8en	55.83 ^{c-gB}	57.78 ^{jkB}	65.56 ^{bA}

Çizelge 4.7. (Devamı) Farklı yer fıstığı bitkilerinden elde edilen bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde test edilen hastalık etmenlerinin misel gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

Bakteri izolatı	Antagonistik Etki ^a		
	<i>S.rolfsii</i>	<i>A.niger</i>	<i>L. pseudotheobromae</i>
<i>Staphylococcus warneri</i> SÇ23en	55.00 ^{c-gA}	6.11 ^{stB}	0.56 ^{pC}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ33ep	54.17 ^{c-hB}	83.89 ^{abA}	64.44 ^{bC}
<i>Enterobacter bugandensis</i> SÇ13en	51.67 ^{d-iA}	44.44 ^{l-nB}	44.44 ^{klB}
<i>Lactobacillus paracaesi</i> SÇ34ep	49.17 ^{d-jC}	76.11 ^{a-dA}	60.56 ^{b-eB}
<i>Arthrobacter globiformis</i> SÇ24ep	47.50 ^{d-kA}	23.89 ^{pB}	1.67 ^{pC}
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ25ep	47.50 ^{d-kA}	0.00 ^{tB}	1.11 ^{pB}
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ20en	46.67 ^{e-kA}	41.11 ^{l-oB}	0.00 ^{pC}
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ2en	45.00 ^{f-kA}	41.67 ^{l-nB}	0.00 ^{pC}
<i>Clostridium rovyi</i> SÇ32en	44.17 ^{f-kC}	75.56 ^{b-dA}	52.22 ^{h-jB}
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantorum</i> SÇ42en	44.17 ^{f-kC}	64.44 ^{g-jA}	58.89 ^{c-fB}
<i>Bacillus cereus</i> SÇ1en	43.33 ^{f-lB}	62.22 ^{g-jA}	49.44 ^{i-kB}
<i>Bacillus cereus</i> SÇ10en	42.50 ^{g-lB}	65.00 ^{f-jA}	61.11 ^{b-eA}
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ12ep	42.50 ^{g-lA}	9.44 ^{rsB}	0.00 ^{pC}
<i>Bacillus simplex</i> SÇ11en	40.83 ^{g-mB}	49.44 ^{prA}	1.67 ^{mC}
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ17ep	40.83 ^{g-mA}	16.67 ^{klC}	36.11 ^{pB}
<i>Bacillus atrophaeus</i> SÇ35en	35.00 ^{h-nB}	66.67 ^{e-iA}	65.56 ^{baA}
<i>Bacillus infantis</i> SÇ26en	33.33 ^{i-oA}	0.00 ^{tB}	0.00 ^{pB}
<i>Microbacterium testaceum</i> SÇ22en	31.67 ^{j-pA}	32.78 ^{oA}	20.56 ^{nB}
<i>Rhizobium radiobacter</i> SÇ28ep	30.00 ^{j-rA}	0.00 ^{tC}	17.22 ^{nB}
<i>Bacillus altitudinis</i> SÇ39en	28.33 ^{k-sC}	60.56 ^{h-jA}	50.56 ^{ijB}
<i>Bacillus mojavensis</i> SÇ30ep	24.17 ^{l-sC}	73.33 ^{c-fA}	57.78 ^{d-gB}
<i>Paenobacillus illinoisensis</i> SÇ4ep	22.50 ^{m-tA}	7.22 ^{stB}	0.56 ^{pC}
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ31en	21.67 ^{m-tC}	68.33 ^{d-hA}	47.78 ^{j-lB}
<i>Pseudomonas oryzihabitants</i> SÇ21en	19.17 ^{n-uA}	0.00 ^{tB}	2.22 ^{pB}
<i>Paenobacillus massiliensis</i> SÇ5ep	15.00 ^{o-uA}	16.11 ^{prA}	7.78 ^{oB}
<i>Bacillus cereus</i> SÇ38en	12.50 ^{p-uC}	68.33 ^{d-hA}	57.22 ^{e-hB}
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ18en	11.67 ^{r-uC}	58.89 ^{m-oB}	64.44 ^{paA}
<i>Bacillus thuringiensis</i> SÇ40en	11.67 ^{r-uC}	40.56 ^{ijB}	0.00 ^{baA}
<i>Bacillus pseudomycolides</i> SÇ15ep	10.00 ^{s-uA}	0.00 ^{tB}	2.78 ^{opB}
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ37ep	3.33 ^{tuB}	47.22 ^{lmA}	0.00 ^{pC}
Kontrol	-	-	-

^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer küçük harfler ile aynı satır içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer büyük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P<0.05$).

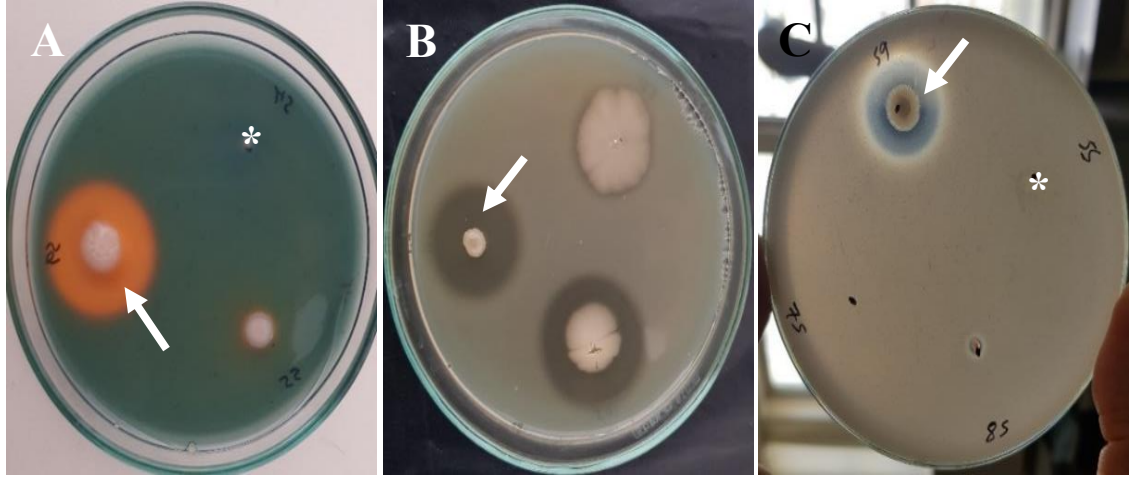
Günümüzde, endofitik ve epifitik bakterilerin biyolojik mücadele etmeni (BCA) olarak uygulanması, bazı bitki hastalıklarının yönetiminde cazip bir seçenek olarak büyük

ilgi görmektedir. Endofitik BCA izolatlar sağlıklı bitki dokularında yaşayan ve konukçularına görünürde zarar vermeyen kültüre alınabilir mikroorganizmalardır. Potansiyel endofit BCA izolatların litik enzim ve antibiyotiklerin sentezi, mikoparazitizm ve bitki savunmasının teşvik edilmesini içeren çeşitli mekanizmalarla hastalıkların çıkışını ve gelişimini baskıladığı birçok konukçu-patojen ilişkilerinde *in vivo* ve *in vitro* koşullarda incelenmiş olup, günümüzde çalışılmayan diğer konukçu-patojen kombinasyonlarda incelenmeye devam edilmektedir (Yadav ve Meena, 2023). Nitekim antagonist BCA izolatların *L. pseudotheobromae*'ya karşı biyokontrol potansiyelleri ilk kez yapılan bu çalışmada ele alınmış olup, *in vitro* ve *in vivo* etkinlik sonuçlarının gelecekte hastalık etmeni üzerine yapılacak birçok çalışmaya kaynak olacağı değerlendirilmiştir.

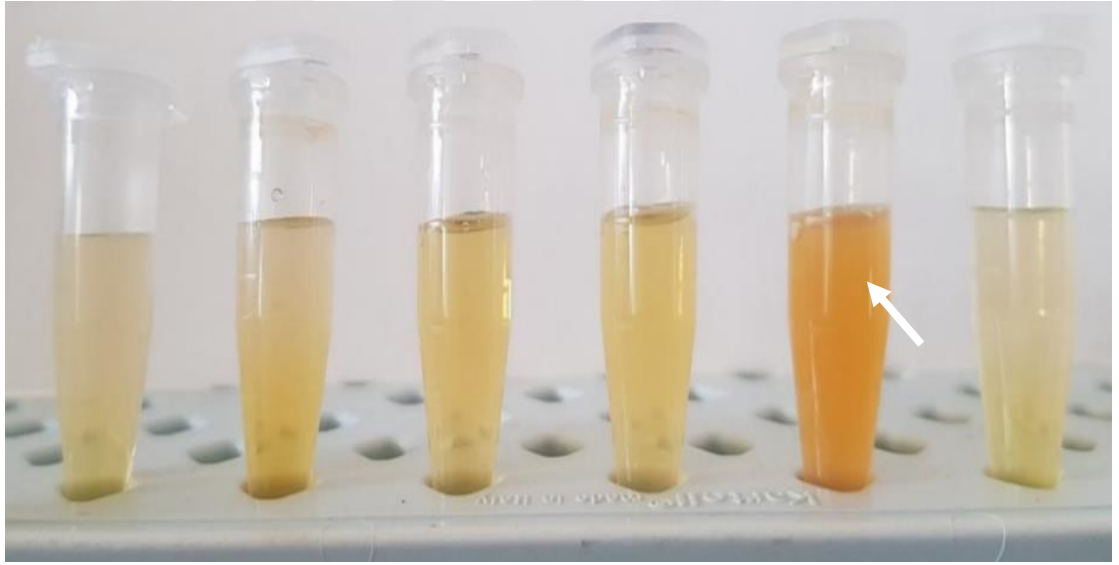
BCA izolatları kimyasal fungusitlere karşı çevre dostu etkili alternatiflerdir (Djordje ve ark., 2018). *Bacillus* spp. günümüzde birçok bitki hastalığına karşı yaygın olarak kullanılan önemli BCA mikroorganizmalardan birisidir (Jia ve ark., 2023). BCA izolatları arasında *Bacillus* cinsine bağlı türlerin bitki patojenlerine karşı geniş spektrumlu antagonistik aktiviteleri (Djordje ve ark., 2018), bitkilerde hastalıklara karşı dayanıklılığı ve gelişimi teşvik edici etkileri ve bitki verimini artırma yetenekleri nedeniyle en yararlı "probiyotik mikroorganizmalar" olarak kabul edilmektedir (Djordje ve ark., 2018; Saxena ve ark., 2020; Lu ve ark., 2021; Pan ve ark., 2022).

4.10. Bakteri İzolatlarının Hastalık Etmenlerini Engellemede Kullandıkları Biyokontrol ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Belirlenmesi

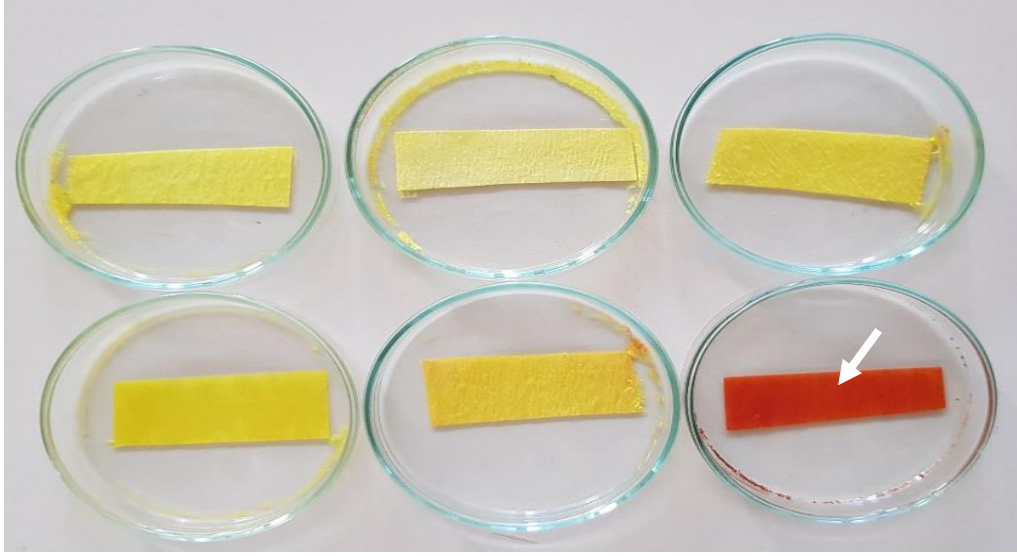
Çalışmalarımızda kullanmış olduğumuz izolatlar arasından farklı alanlardan elde edilen, farklı türleri temsilen 15 adet bakteri izolatı seçilmiş olup, seçilen izolatların antagonistik ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmaları ayrıca uygun yöntemler kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiş, Çizelge 4.9'da toplu olarak verilmiştir. Bakteri izolatların fungal etmenin misel gelişiminin engellenmesinden (antagonistik) sorumlu biyokontrol etki mekanizmalarından siderofor (Şekil 4.12A), proteaz enzimi üretme (Şekil 4.12B), amonyak (NH₃) üretme (Şekil 4.13) ve hidrojen siyanür (HCN) (Şekil 4.14) kapasiteleri spesifik besi yerleri üzerinde araştırılmıştır.



Şekil 4.12. Bakteri izolatlarının özel besi yerleri üzerinde (A) siderofor, (B) proteaz ve (C) fosfor çözme etkinliklerinin belirlenmesi. Besi yerlerinde temizleme bölgeleri (ok) oluşturmak suretiyle etkinlik gösteren izolatlar ile etkinlik göstermeyen (*) izolatlar (A) CAS Agar, (B) SMLB Agar ve (C) Pikavskaya Agar üzerindeki etkinlikleri.



Şekil 4.13. Farklı bakteri izolatlarının amonyak üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Bakteri antagonist izolatlarınca besi yeri içerisinde oluşturulan amonyak üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan koyu sarı-kahverengine (ok) dönüşmesiyle belirginleşmiştir.



Şekil 4.14. Bakterilerin glycine içeren TSA besiyerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri. Bakteri izolatı tarafından artan şiddette üretilen HCN sonucu petri kapağındaki filtre kâğıdı kırmızı-turuncu renge (ok) dönüşmüştür.

Çizelge 4.8. Farklı antagonist bakteri izolatlarının hastalık etmenlerini engellemede kullandıkları olası biyokontrol mekanizmaları^a

Bakteri İzolatı	Sid-Ind	Pro-Ind	NH ₃	HCN
<i>Enterobacter bugandensis</i> SÇ13en	2.47 ^e	0.00a	++	-
<i>Bacillus mojavensis</i> SÇ30ep	1.97 ^d	3.11 ^g	+	-
<i>Bacillus cereus</i> SÇ14ep	1.84 ^d	1.48 ^{cd}	+++	-
<i>Bacillus thuringiensis</i> SÇ40en	1.62 ^d	1.61 ^{c-e}	+	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	1.36 ^c	1.35 ^{bc}	+++	-
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ2en	1.29 ^c	1.91 ^e	+	-
<i>Bacillus altitudinis</i> SÇ39en	1.28 ^c	1.56 ^{c-e}	+	-
<i>Lactobacillus paracaesi</i> SÇ34ep	1.22 ^c	1.06b	+	±
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ36en	1.20 ^c	1.75 ^{de}	+++	+++
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ19en	1.12 ^b	1.24 ^b	++	-
<i>Bacillus atrophaeus</i> SÇ35en	0.00 ^a	3.68 ^h	±	±
<i>Paenobacillus illinoisensis</i> SÇ4ep	0.00 ^a	0.00 ^a	±	+
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ25ep	0.00 ^a	2.54 ^f	±	-
<i>Bacillus infantis</i> SÇ26en	0.00 ^a	1.72 ^{c-e}	+	-
<i>Bacillus simplex</i> SÇ11en	0.00 ^a	1.07 ^b	+	-

Sid-Ind: Siderofor; **Pro-Ind:** Protease; **NH₃:** Amonyak; **HCN:** Hidrojen Siyanür; -, renk değişimi olmadığını, ±, +, ++, +++ ise HCN veya amonyak konsantrasyonunun artışına paralel renk değişim şiddetindeki artışını gösterir.

^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki aynı küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P < 0.05$)

Elde edilen sonuçlara göre, test edilen 15 izolat arasında 10 izolatın CAS besi yeri üzerinde 1.12-2.47 indeks değerleri aralığında “siderofor” oluşturduğu belirlenmiştir. Siderofor oluşturan türlere bakıldığında farklı türlerin siderofor üretme potansiyelleri açısından istatistiksel olarak birbirlerinden önemli düzeyde farklılık gösterdikleri belirlenmiştir. Çizelge 4.8’de sunulduğu gibi *Enterobacter bugandensis* SÇ13en izolatı 2.47 indeks değeri ile en yüksek siderofor etkinliği gösteren bakteri olduğu belirlenmiştir. Bu izolatı 1.97 indeks değeri ile farklı istatistik grubuna düşen *Bacillus mojavensis* SÇ30ep, 1.84 indeks değeri ile *Bacillus cereus* SÇ14ep ve 1.62 indeks değeri ile *Bacillus thuringiensis* SÇ40en izolatı izlemiştir. *In vitro* ikili kültür testlerinde test edilen fungal izolatlarla karşı yüksek düzeyde antagonistik etkinlik gösteren bazı izolatların (*Paenobacillus illinoisensis* SÇ4ep, *Bacillus simplex* SÇ11en, *Bacillus infantis* SÇ26en, *Microbacterium arborescens* SÇ25ep, *Bacillus atrophaeus* SÇ35en) yapılan testlerde siderofor üretmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Bir diğer antagonistik etki mekanizmalarından olan proteaz enzim etkinliği test edilen 15 izolat arasında 13 izolatın SMLBA besi yeri üzerinde 1.06-3.68 indeks değerleri aralığında proteaz enzimi üretmek suretiyle proteolitik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Proteaz oluşturan türlere bakıldığında farklı türlerin proteaz üretme potansiyelleri açısından istatistiksel olarak birbirlerinden önemli düzeyde farklılık gösterdikleri belirlenmiştir. Çizelge 4.8’de sunulduğu gibi *Bacillus atrophaeus* SÇ35en izolatı 3.68 indeks değeri ile en yüksek proteaz etkinliği gösteren bakteri izolatı olduğu belirlenmiştir. Bu izolatı 3.11 indeks değeri ile farklı istatistik grubuna düşen *Bacillus mojavensis* SÇ30ep, 2.54 indeks değeri ile *Microbacterium arborescens* SÇ25ep ve 1.75 indeks değeri ile *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatları izlemiştir. Test edilen bakteriler arasında antagonistik etkinliği nispeten düşük olarak belirlenen *Enterobacter bugandensis* SÇ13en ile *Paenobacillus illinoisensis* SÇ4ep izolatların proteolitik etkinlik göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Çalışmalarda kullanılan 15 izolat amonyak üretme etkinliği yönünden de test edilmiştir. Test edilen 15 izolat arasında *Bacillus atrophaeus* SÇ35en, *Microbacterium arborescens* SÇ25ep ve *Paenobacillus illinoisensis* SÇ4ep izolatları düşük düzeyde amonyak üretirken, test edilen diğer 11 izolatın tamamı amonyak etkinliği gösterdiği belirlenmiştir. Aralarında *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en, *Bacillus cereus* SÇ14en ve *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep gibi özellikle antagonistik etkisi yüksek izolatların

aynı zamanda yüksek düzeylerde amonyak üretme potansiyellerinin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.13).

Çalışmalarda kullanılan 15 izolatın bir diğer antagonistik etki mekanizmalarından olan hidrojen siyanür (HCN) üretme etkinliğinin belirlendiği çalışmalarda ise 15 izolat arasında *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en ve *Paenobacillus illinoisensis* SÇ4ep izolatlarının belirgin düzeyde, *Lactobacillus paracaesi* SÇ34ep ve *Bacillus atrophaeus* SÇ35en izolatların ise düşük düzeyde HCN aktivitesine sahip olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.14).

Denemelerde farklı antagonistik etkinliklere sahip, temsili olarak seçilmiş 15 izolatın bitki büyümesini teşvik etmekten sorumlu olabilecek olası etki mekanizmalarından indol asetik asit (IAA) üretme (Şekil 4.15) ve besi yerinde fosforu çözme potansiyelleri (Şekil 4.12C) *in vitro* koşullarda belirlenmiş olup elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9'da sunulmuştur. Bitki gelişimini teşvik eden hormonlardan IAA üretimi test edilen 15 izolatın tamamı 1.68-55.30 µg/ml (ppm) konsantrasyonunda IAA üretildiği belirlenmiştir. En yüksek IAA üretimi 55.30 ppm konsantrasyonu ile *Bacillus megaterium* SÇ2en izolatına ait olurken, bu izolatı 26.59 ppm konsantrasyonu ile *Enterobacter bugandensis* SÇ13en ve 25.63 ppm konsantrasyonu ile *Bacillus thuringiensis* SÇ40en izolatlarının takip ettiği belirlenmiştir.



Şekil 4.15. Bakteri izolatlarının LB besi ortamı içinde IAA üretim durumları ve üretilen IAA oranlarına göre kırmızıdan pembeye doğru renk değişimi (ok).

Bakteri izolatların bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası mekanizmalardan biri olan “fosfor çözme potansiyelleri” tri kalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besi yeri üzerinde oluşturmuş oldukları engelleme bölgelerine göre kantitatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.12C). Elde edilen sonuçlara göre test edilen 15 izolat arasından sadece 7 izolatın fosfor çözme etkinliği gösterdiği görülmüştür (Çizelge 4.9). Test edilen izolatlar arasında en yüksek etkinlik 3.01 indeks değeri ile *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatı tarafından gösterilmiştir (Çizelge 4.9). Bu izolatı 2.00 indeks değerleri ile *Microbacterium arborescens* SÇ25ep ve *Enterobacter bugandensis* SÇ13en izolatları takip etmiştir. Aralarında güçlü antagonistik etkinlik gösteren izolatlarında bulunduğu birçok izolatın aynı zamanda PVK besi yeri üzerinde fosforu çözme etkinliği gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Farklı bakteri izolatların bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası mekanizmaları^a

Bakteri İzolatı	Bitki büyümesini teşvik eden mekanizmalar ^a	
	IAA (µg/ml)	Fosfor Çözme İndeksi
<i>Bacillus megaterium</i> SÇ2en	55.30 ^e	1.14 ^b
<i>Enterobacter bugandensis</i> SÇ13en	26.59 ^d	2.00 ^d
<i>Bacillus thuringiensis</i> SÇ40en	25.63 ^d	0.00 ^a
<i>Microbacterium arborescens</i> SÇ25ep	13.05 ^c	2.00 ^d
<i>Bacillus altitudinus</i> SÇ39en	12.70 ^c	1.10 ^b
<i>Bacillus mojavensis</i> SÇ30ep	8.75 ^b	0.00 ^a
<i>Bacillus atrophaeus</i> SÇ35en	7.91 ^b	0.00 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SÇ36en	7.48 ^b	3.01 ^e
<i>Paenobacillus illinoisensis</i> SÇ4ep	7.00 ^b	1.33 ^c
<i>Bacillus infantis</i> SÇ26en	6.94 ^b	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> SÇ19en	6.71 ^b	0.00 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	5.95 ^b	0.00 ^a
<i>Bacillus simplex</i> SÇ11en	2.63 ^a	0.00 ^a
<i>Lactobacillus paracaesi</i> SÇ34ep	1.75 ^a	1.08 ^b
<i>Bacillus cereus</i> SÇ14ep	1.68 ^a	0.00 ^a

^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki aynı küçük harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P < 0.05$)

PGPB izolatlarının azot fiksasyonu (Kloepper ve ark. 1989), IAA, oksin, sitokinin gibi fitohormonların üretimi (Patten ve Glick 1996; Gutierrez ve ark. 2001), siderofor üretimi (Sayyed ve Chincholkar 2009; Sayyed ve Patel 2011), etilen konsantrasyonunun

düşürülmesi (Madhaiyan ve ark. 2007; Chinnadurai ve ark. 2009), fosfor ve diğer çeşitli bitki besini minerallerini çözme gibi (Sayyed ve ark. 2007; Sharma ve ark. 2013) farklı mekanizmalar yoluyla bitki gelişimine neden olduğu bildirilmiştir. *Actinomyces*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Sthaphylococcus* gibi birçok bakteri cinsine ait türlerin, yapılan çalışmalarda bakteri izolatlarının bitki büyümesini teşvik eden, en önemli oksin hormonu olan IAA'ı yüksek düzeylerde üretmek suretiyle bitki gelişiminin artışında rol oynadığı bildirilmiştir (Hayat ve ark., 2010; Bhattacharyya ve ark., 2012; Oliveira ve ark., 2013; Zheng ve ark., 2013; Rangjaroen ve ark., 2015).

Biyogübre olarak kullanılan *Bacillus* türleri muhtemelen bitki büyüme hormonlarının sentezi yoluyla bitki büyümesi üzerinde doğrudan etkilere sahiptir (Amer ve Utkhede, 2007). Fosfor çözen bakterilerin bulunduğu biyo-gübreler toprakta biriken fosfatların kullanılabilirliğini artırmaya yardımcı olabildiği gibi biyolojik olarak azot fiksasyonunun verimliliğini ve bitki büyümesini teşvik eden demir (Fe) ve çinko (Zn) gibi maddelerin üretimi yoluyla topraktaki bağlı mineral maddelerin kullanılabilirliğini artırarak bitki büyümesini geliştirebilir (Sivasakthi ve ark., 2014). *Pseudomonas* ve *Bacillus* tarafından bitki gelişiminin teşvik edilmesi ve hastalık etmenlerin kontrol altında tutulması, bazı fitohormonların (IAA, oksin, sitokinin ve gibberellinler) sentezi, 1 - amino siklopropan - 1 - karboksilat (ACC) deaminazın teşviki, siderofor, antibiyotik, hidrojen siyanür (HCN) ve uçucu bileşiklerin üretimi gibi doğrudan ve dolaylı birçok etki mekanizmaları içeren birbiriyle ilişkili karmaşık süreçlerden oluşur (Abbasdokht ve Gholam, 2010).

BCA izolatlarının bitkiyi hastalıklara karşı korumada antagonizm, hiperparatizm, besin ve yer açısından rekabet, bitkilerde dayanıklılığın teşvik edilmesi gibi farklı mekanizmalarından birini veya birkaçını birlikte kullanır. Mikroorganizmalar antibiyosis, rekabet, parazitizm, detoksifikasyon ve inhibisyon gibi mekanizmalarla toprağın mikrobiyolojik dengesine katkı sağlamak suretiyle bitkisel gelişmeyi dolaylı olarak etkilemektedir. Hastalıklardan korunma mekanizmalarından biri de sistemik kazandırılmış dayanıklılık (SAR) olarak adlandırılan, PGPR ve PGPB izolatlar tarafından bitkinin fiziksel ve biyokimyasal etkilenmesi olayıdır (Van Loon ve ark., 1998). PGPB

ve PGPR izolatları çok önemli olan sekonder metabolitleri üretmek suretiyle bitki hastalıklarının baskılanmasında sistemik kazandırılmış dayanıklılığı (SAR) teşvik edebilir.

Çalışmalarda etkili olarak belirlenen *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp.'ye bağlı bakteri izolatlarının gerek antagonist gerekse bitki gelişimini teşvik etmede siderofor, proteaz, amonyak, HCN gibi antagonistik; fosforu çözme, IAA üretme gibi mekanizmaları kullanmak suretiyle bitki hastalıklarını engellediği, bitki gelişimine katkı sunduğu yapılan birçok çalışmada rapor edilmiştir (Mohanty ve ark., 2021). Etkili biyokontrol etmenleri olarak bildirilen *Bacillus* türlerinin çoğu *Bacillus subtilis* kompleksine aittir ve tipik olarak toprak/rizosfer nişinde yaşarlar (Cawoy ve ark., 2011; Fan ve ark., 2017). Bu türler arasında *B. velezensis*, bitkiyle ilişkili basiller için model olarak kabul edilir. Farklı yaşam döngüleri ve virülans modları (biyotrofik, hemi-biyotrofik veya nekrotrofik) olan çok çeşitli patojenlerin neden olduğu hastalıkları azaltmak için mikrobiyal aşılama olarak en iyi şekilde değerlendirilir (Fira ve ark., 2018; Miljaković ve ark., 2020; Saxena ve ark., 2020). Ülkemizde yapılan genelde *Pseudomonas* ve *Bacillus* türlerine ait olan PGPB ve PGPR izolatlarının başta toprak kökenli olmak üzere birçok önemli fungal hastalık etmenlerinin engellenmesinde ve bitki gelişimini teşvik etmede siderofor, proteaz, amonyak, HCN gibi antagonistik; fosforu çözme, IAA üretme gibi mekanizmalar ile etkili olduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Soylu ve ark., 2005; Yıldız ve ark. 2012; İmriz ve ark., 2014; Atay ve ark., 2020; Aktan ve Soylu, 2020; Kara ve ark., 2020; Soylu ve ark., 2020; Soylu ve ark., 2021; Soylu ve ark., 2022; Kara ve Soylu, 2022)

Rajaratham ve ark. (1995) topraktan elde ettikleri izolatlar arasında *Bacillus megaterium*, *B. polymyxa* ve *Pseudomonas stutzeri*'nin fosforu çözebilen en etkili bakteriler olduğunu tespit etmişlerdir.

Chakraborty ve ark. (2006) çay rizosferinden izole edilen *Bacillus megaterium* izolatının fosfatın çözünmesi ve IAA, siderofor ve antifungal metabolit üretimi gibi farklı mekanizmalar kullanarak bitki büyümesinin teşvik edilmesine ve hastalık yoğunluğunun azaltılmasına yardımcı olduğunu bildirmişlerdir.

Samuel ve Muthukkaruppan (2011) pirinç tarlası ile Mangrov bitkilerinden elde ettikleri *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Phosphobacteria*, *Glucanacetobacter*, *Aspergillus niger* ve *Penicillium* türlerine ait izolatların etki

mekanizmalarını araştırdıkları çalışmalarında tüm izolatların IAA, amonyak ve katalaz üretimi bakımından pozitif olduğunu, ancak hiçbir izolatın HCN üretemediğini bildirmişlerdir.

Bishi ve Vakharia (2015), *Pseudomonas*ların *S. rolfsii*'ye karşı *in vitro* antagonistik potansiyelinin biyokimyasal temelini belirlemek amacıyla, 11 floresan *Pseudomonas* izolatını (SKPf1- SKPf11) biyokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Test edilen izolatlar arasından SKPf5 izolatının antifungal metabolitler, siderofor, salisilik asit (SA) ve indol asetik asit (IAA) gibi büyümeyi teşvik eden bileşikler üretebilen en etkili izolat olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan biyokimyasal analiz çalışmalarında, SKPf5 izolatının kitinaz, β -1,3 glukanaz ve proteaz gibi litik enzimleri erettiği, diğer izolatlarla kıyasla fungal etmenin poligalakturonaz ve selüloz aktivitesini engellediğini tespit etmişlerdir. Potansiyel olarak etkili *Pseudomonas* izolatlarının daha fazla kitinaz ve β -1,3 glukanaz üretimi yoluyla fungusların hücre duvarını bozmalarının yanı sıra yüksek miktarda salisilik asit (SA) ve IAA üretebildiğini bildirmişlerdir.

Ferchichi ve ark (2019), acı bakla nodüllerinden elde edilen bakteriyel endofitlerin fosfor çözünürleştirme etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında, izolatlar arasından en yüksek fosfor çözünürleştirme etkinliğini *Pseudomonas brenneri* izolatının gösterdiğini, bu izolatı sırasıyla *Bacillus subtilis* ve *Burkholderia gramini* izolatlarının izlediğini bildirmişlerdir.

4.11. Bakteriyel İzolatların *in vivo* Koşullarda Hastalık Çıkışı Üzerine Olan Etkinliklerinin Belirlenmesi

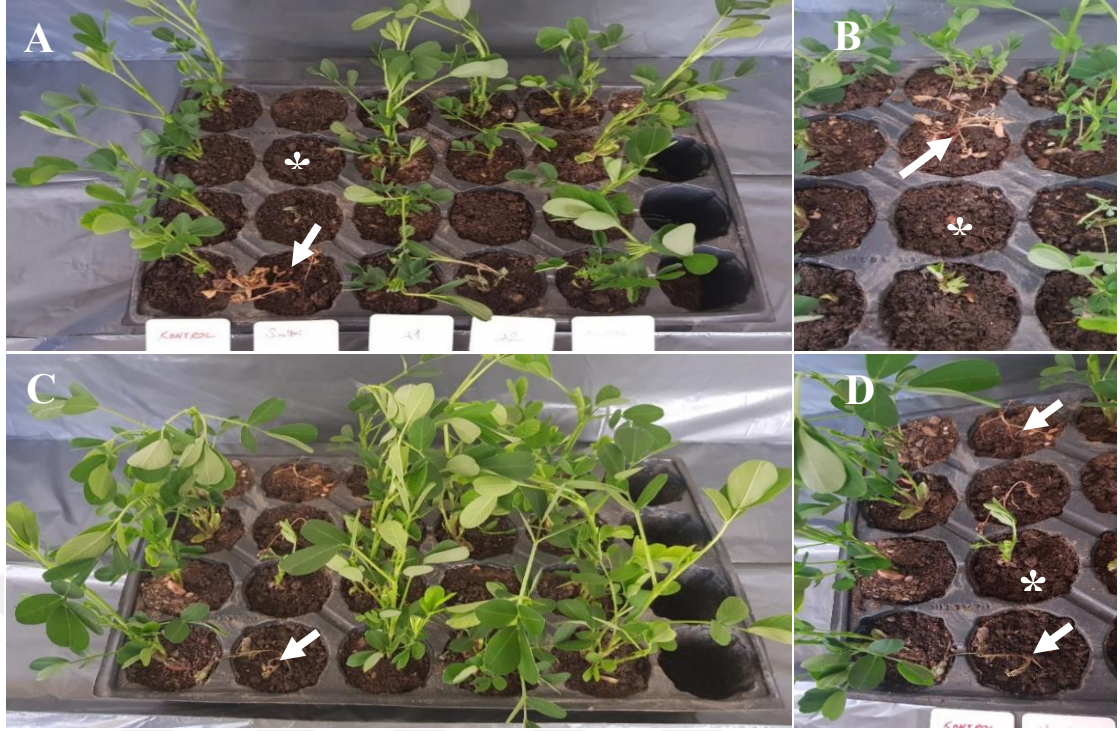
Antagonist bakteri izolatların *in vivo* etkinlik çalışmalarındaki biyoetkinlikleri sorveylerde en yaygın türler olarak tespit edilen *S. rolfsii* ile *A. niger* izolatlarına karşı araştırılmıştır. Çalışmalarda virülensliği en yüksek düzeyde olan *S. rolfsii* M39KB ile *A. niger* Sum8 izolatları kullanılmıştır. Bakteri izolatları arasından her iki hastalık etmenine karşı *in vitro* etkinlikleri ve etki mekanizmaları göz önüne alınarak farklı türlere ait *Bacillus subtilis* SÇ19en, *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep ve *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatları kullanılmıştır.

Test edilen izolatlar arasında *S. rolfsii*'ye karşı *in vitro* antagonist etkinliği en yüksek olan *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep izolatı *in vivo* koşullarda hastalık çıkışını

%86.21 oranında engellemek suretiyle en yüksek etkinlik gösteren izolat olarak belirlenmiştir. Bu izolatu %79.31 engelleme oranıyla *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en, %65.52 engelleme oranıyla *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatları takip etmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.16A-B). Yapılan istatistik analiz sonucunda, test edilen antagonist bakteri izolatları arasında en yüksek etkinlik gösteren *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep izolatu ile *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en arasındaki biyoetkinlik farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenirken, test edilen diğer izolat olan *Bacillus subtilis* SÇ19en ile arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir.

A. niger'e karşı antagonist bakteri izolatların etkinlikleri göz önüne alındığında *in vitro* etkinliği yüksek olan izolatlar arasından *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatının *in vivo* koşullarda hastalık çıkışı üzerinede en yüksek etkinlik göstererek hastalık çıkışını %83.87 oranında engellediği belirlenmiştir. Bu izolatu %74.19 engelleme oranıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep, %61.29 engelleme oranıyla *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatu izlemiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.16C-D). Yapılan istatistik analiz sonucunda, test edilen antagonist bakteri izolatlar arasında en yüksek etkinlik gösteren *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep izolatu ile *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en arasındaki biyoetkinliğin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. *Bacillus subtilis* SÇ19en ile *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatu tarafından gösterilen biyoetkinlikler arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir.

Her iki hastalık etmenine karşı *B. amyloliquefaciens* SÇ9ep ve *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatlarının *in vitro* etkinlik değeri *in vivo* biyoetkinlik değeri ile karşılaştırıldığında, iki izolatın test edildiği her iki fungal hastalık etmeni tarafından neden olunan hastalık çıkışının engellenmesinde gösterdikleri *in vivo* antagonistik etkinliğin *in vitro* etkinlik değerine kıyasla daha yüksek düzeyde gerçekleştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.10).



Şekil 4.16. Bakteri izolatlarının *S. rolfii* (A-B) ve *A. niger* (C-D) ile bulaşık topraklarda hastalık çıkışı üzerine *in vivo* etkinliği. Pozitif kontrol uygulamalarında hastalık etmeni kurumlara (ok) veya bitki çıkışı engellenirken (*), bakteri uygulanmış tohumlardan değişen sayıda sağlıklı fide gelişimleri gözlenmiştir.

Çizelge 4.10. Bakteri izolatların *in vivo* koşullarda hastalık çıkışı ve gelişiminin engellenmesi üzerine antagonistik etkinlikleri

Uygulamalar	<i>S. rolfii</i>				<i>A. niger</i>			
	<i>in vitro</i> etki ^a	Hİ ^b	HŞ	% Etki	<i>in vitro</i> etki ^a	Hİ ^b	HŞ	% Etki
<i>B. subtilis</i> SÇ19en	73.33	0.83 ^c	20.83	65.52↓	65.00	1.00 ^c	20.00	61.29↓
<i>B. amyloliquefaciens</i> SÇ9ep	80.83	0.33 ^{ab}	8.33	86.21↑	70.00	0.67 ^{bc}	13.33	74.19↑
<i>P. aeruginosa</i> SÇ36en	58.70	0.50 ^{bc}	12.50	79.31↑	77.78	0.42 ^{ab}	8.33	83.87↑
Pozitif Kontrol	-	2.42 ^d	60.42	-	-	2.58 ^d	51.67	-
Negatif Kontrol	-	0.0 ^a	-	-	-	0.0 ^a	-	-

Hİ: Hastalık indeksi; HŞ: Hastalık şiddeti

^a İzolatların *in vitro* etkinlik değerleri Çizelge 4.8'den alınmıştır.

^b Denemeler, endofit ve epifit bakteri izolatı için 3 tekrarlı, her tekrarda 4 bitki (toplam 12 bitki) olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmış ve deneme 2 kez tekrarlanmıştır. Çizelge içinde yer alan ortalama hastalık indeks değerlerin yanındaki farklı harfler, izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P < 0.05$)

^c ↑: *in vitro* etkinliğe göre engelleme etkinliğinin arttığını gösterir

↓: *in vitro* etkinliğe göre engelleme etkinliğinin azaldığını gösterir.

Ziedan (2006) yer fıstığı (cv. Giza4) tohumlarının ekimden önce 12 saat boyunca bakteri süspansiyonlarında bekletilmesi şeklinde yapılan uygulamanın tarla koşullarında kök ve bakla çürüklüğü hastalıklarının görülme sıklığını ve şiddetini önemli ölçüde azalttığını, bitki taze ağırlığı, bakla/bitki sayısı ve tane verimini önemli ölçüde arttırdığını bildirmiştir. Bakteriler arasından *Bacillus subtilis* izolatı (No. 1) kök çürüklüğü çıkışını önemli ölçüde azaltan, verim bileşenlerini diğer uygulamalardan daha fazla arttıran en etkili izolat olarak belirlenmiştir. Endofitik bakteri izolatlarından olan *B. subtilis* (No. 1) ve *Pseudomonas fluorescens* izolatlarının, hasattan 30 gün sonra depo koşullarında bekletilen yer fıstığı tohumlarında patojen bulaşmasını tamamen ortadan kaldırdığı, yer fıstığı kök dokusunda etkili bir şekilde kolonize olan, bitki savunma reaksiyonlarını uyaran, yer fıstığı tohumlarında fungal patojen enfeksiyonunu baskılayan çok etkili ve önemli izolatlar olduğunu bildirmiştir. Çalışmanın sonucunda, endofitik bakterilerin yer fıstığının toprak kökenli hastalıklarına karşı biyokontrol etmeni olarak yararlı olduğu vurgulanmıştır.

Lu ve ark. (2016) sera koşullarında yapmış oldukları çalışmada, *Bacillus amyloliquefaciens* 41B-1 izolatının yer fıstığı bitkilerinin köklerinde iyi kolonize yeteneğine sahip olduğunu, bakteri ile muamele edilen bitkilerde *S. rolfsii* tarafından neden olunan hastalık belirtilerini %90'dan fazla oranda baskıladığını bildirmişlerdir. *B. amyloliquefaciens* 41B-1 izolatının, *S. rolfsii*'nin neden olduğu yer fıstığı kök çürüklüğü hastalığını kontrol etmek için umut verici çevre dostu BCA izolat olduğunu belirlemişlerdir.

Zhao ve ark. (2021) BCA izolatlarının yer fıstığı kök hastalıkları ve verimi üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla tarla koşullarında etkinlik çalışmaları yapmışlardır. Çalışmalarda BCA izolatları olarak *Bacillus amyloliquefaciens* ve *Paenibacillus polymyxa*, fungal BCA (TB) ve %25 fludioxon içeren fungusitler olmak üzere altı uygulama denemişlerdir. Test edilen tüm BCA izolatların yer fıstığı verim artışı, yer fıstığı kök çürüklüğü ve *Sclerotium* yanıklığı üzerinde belirgin etkilerinin olduğu, en fazla fide çıkışının (%94.35) ve verim artışının (%23.15) *B. amyloliquefaciens* ve fungal BCA (TB) izolatlarının uygulandığı tohumlarda gözlemlendiğini, fide çıkışından otuz gün sonra yer fıstığı bitkilerinde kök çürüklüğü hastalık belirtilerinin %76.95 oranında engellendiğini saptamışlardır. Uygulamadan 60 gün sonra ise bakteriyel ve fungal BCA izolatlarının antifungal etkinliğinin %83.54'e ulaştığını bildirmişlerdir.

Kimyasal pestisitlerin çevreye ve insan sağığına olan zararlı etkileri göz önüne alındığında, sürdürülebilir tarımda hastalık yönetimi için biyolojik mücadele gibi çevre dostu alternatiflerin uygulanması tercih edilmelidir (Korangi Alleluya ve ark., 2023). Kimyasal pestisitlere alternatif, üretim sistemlerinin daha sürdürülebilir olması için bitki hastalıkları ile mücadelede bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin (PGPR ve PGPB) tercih edilmesi en verimli yöntemdir (Ruzzi ve Aroca, 2015; Kumar ve ark., 2019; Basu ve ark., 2021). Çoklu etki mekanizmalarına sahip olan antagonistik ve bitki gelişimini teşvik edici özellikteki BCA bakteriler bitkilerin kök bölgesini etkili bir şekilde kolonize etme yetenekleri ile özellikle toprak kaynaklı patojenleri baskılamada kimyasallara alternatif güçlü bir strateji olarak bildirilmiştir (Rakh ve ark., 2020).



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yer fıstığı içerdiği yağ, protein, karbonhidrat, vitaminler ve mineral maddeler ile insanlar ve hayvanlar için değerli bir besin kaynağıdır. Ülkemizde yer fıstığı üretimi farklı illerde yapılmakta olup üretimin %26'sı Osmaniye ilinden karşılanmaktadır. Bu çalışmada Osmaniye ilinin Merkez, Toprakkale, Kadirli, Sumbas, Düziçi ve Bahçe ilçelerinde 95 farklı tarlada yetişen yer fıstığı bitkilerinin farklı fenolojik dönemlerinde hastalık sürveyleri yapılmıştır.

Sörveyler sırasında hastalık belirtisi gösteren toplam 144 yer fıstığı bitki örneğinden 180 adet temsili fungal izolat elde edilmiştir. Hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlarda elde edilen 180 izolatın morfolojik yapılarına göre ön teşhisleri sonucunda; en yaygın olarak rastlanan fungal hastalık etmeni %35.5 rastlama sıklığı ile *Aspergillus niger* (64 izolat) olmuştur. Bu hastalık etmenini %24.4 rastlama sıklığı ile *Rhizopus stolonifer* (44 izolat), %16.6 rastlama sıklığı ile *Lasiodiplodia* spp. (30 izolat), %11.6 rastlama sıklığı ile *Sclereotium rolfsii* (21 izolat), %8.3 rastlama sıklığı ile *Fusarium* spp. (15 izolat), %1.6 rastlama sıklığı ile *Macrophomina phaseolina* (3 izolat), %1.1 rastlama sıklığı ile *Rhizoctonia solani* (2 izolat) ve %0.55 rastlama sıklığı ile *Sclerotinia sclerotiorum* (1 izolat) gibi hastalık etmenleri takip etmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.5). Aynı bitkiden yapılan izolasyonlarda bitkilerin birden fazla farklı türlere ait fungal etmenle bulaşık olduğu gözlenmiştir. İzolasyonlar sırasında bir *Rhizopus stolonifer*'in çoğu petride diğer hastalık etmenlerinin yanı sıra sonradan "sekonder fırsatçı patojen" olarak gelişme gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen fungal hastalık etmeni izolatlar PSA ve CLA besi yeri üzerinde morfolojik ve moleküler yöntemlerle tanımlanmıştır. Fungal hastalık etmeni izolatların morfolojik tanımlamaları MALDI-TOF MS ile teyit edilmiştir. Yapılan MALDI-TOF MS cihazının kütüphanesinde yer alan türlerle eşleşen izolatların *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Lasiodiplodia* spp., *Fusarium* spp. (*Fusarium oxysporum*, *F. equiseti*, *F. verticillioides* ve *F. solani*) olduğu belirlenmiştir. Elde edilen fungal hastalık etmenlerini temsili seçilen tüm izolatların tanımlamaları moleküler yöntemlerle teyit edilmiştir. Moleküler çalışmalar neticesinde yaygın olarak tespit edilen izolatlar *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Sclereotium rolfsii*, *Sclerotinia*

sclerotiorum, *Fusarium equiseti*, *Fusarium solani*, ve *Fusarium brachygibbosum*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Lasiodiplodia pseudotheobromae* olarak tanımlanmışlardır.

Çalışmamızda yaygın olarak belirlemiş olduğumuz türler arasında *S. rolfsii*, *A. niger*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *M. phaseolina*, *R. stolonifer* ve *R. solani* gibi türlerin Çukurova bölgesinde ve Osmaniye ilinde varlığı önceden yapılmış olan çalışmalarda (Biçici, 1980; Lavkor, 2013; Gözüyeşil, 2014; Lavkor ve Biçici, 2015) bildirilmiş olup, bu türler dışında kalan *Fusarium* spp. (*Fusarium brachygibbosum*, *F. verticillioide*s), *Sclerotinia sclerotiorum*, *Lasiodiplodia theobromae* ve *L. pseudotheobromae* (Özkaya ve ark., 2024) gibi türlerin ülkemizde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerde hastalık etmeni olduğu ilk kez bu çalışmayla ortaya konulmuştur.

Osmaniye ili yer fıstığı ekim alanlarında sorun olan toprak kökenli fungal hastalık etmenlerin sorveyi, tanımlanması, bölgedeki yaygınlığının belirlenmesinin yanı sıra, çalışmanın bir diğer aşaması olan, bölgede yaygın olarak belirlenen toprak kökenli fungal hastalık etmenleriyle biyolojik mücadele imkânları araştırılmıştır. Hastalığın görüldüğü tarlalardaki sağlıklı bitkilerin kök, gövde, yaprak ve tohum gibi farklı organlarındaki bakteriyel antagonist/PGPB türleri izole edilmiş, tanımlanmış, bölgede yaygın hastalık etmenlerine karşı *in vitro* ve *in vivo* biyolojik mücadele etkinlikleri ve hastalığı engellemede ve bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası etki mekanizmaları belirlenmiştir.

Sörveylerde hastalığın gözlemlendiği tarlalardan sağlıklı yer fıstığı bitkilerinden yapılan izolasyonlar neticesinde 121 adet bakteri izolatu elde edilmiş olup bunların arasından 63 adet farklı morfolojik görünüşe sahip aday antagonist bakteri izolatu seçilmiştir. Bu izolatlardan tütünde aşırı duyarlılık ve patates yumuşak çürüklük testlerinde, insan patojeni olmadığı belirlenen 43 adet epifit ve endofit bakteri izolatının tanımlanması MALDI-TOF MS ile yapılmıştır.

Tanımlaması yapılan 43 aday bakteri izolatının *in vitro* koşullarda antagonistik etkinlikleri öncelikle bölgede yaygın görülen fungal hastalık etmenlerinden *Sclerotium rolfsii*, *Aspergillus niger* ve *Lasiodiplodia pseudotheobromae*'nin misel gelişimini engellenmesi üzerine ikili kültür testleri ile belirlenmiştir. Yapılan *in vitro* ikili kültür testlerinde söz konusu 3 farklı hastalık etmeninin misel gelişimi üzerinde oldukça güçlü düzeyde (>%60) engelleme etkinliği gösteren toplam izolat sayısının 4 adet (*Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep, *Bacillus subtilis* SÇ19en, *Bacillus cereus* SÇ14ep, *Bacillus*

subtilis SÇ16ep gibi) olduğu tespit edilmiştir. Test edilen 43 izolat arasında 19 izolatın 3 farklı hastalık etmeninin misel gelişimini engellemede istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Fungal hastalık etmeni *S. rolfsii*'nin misel gelişimini engellemede en yüksek antagonistik etkinlik %80.83 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep izolatı tarafından gösterilmiş olup, bu izolatı sırasıyla %77.50 ve %73.33 engelleme oranlarıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ27ep ve *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatları izlemiştir.

Hastalık etmeni *Aspergillus niger*'in misel gelişimini engellemede en yüksek düzeyde antagonistik etkinlik %84.44 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ3ep izolatı tarafından gösterilmiş olup, bu izolatı sırasıyla %83.89 engelleme oranıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ33ep ve %77.78 engelleme oranlarıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ29en ve *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatları izlemiştir.

Ülkemizde yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinde hastalık etmeni olduğu ilk kez bu çalışmayla ortaya konulmuş olan *L. pseudotheobromae*'in misel gelişimi *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatı tarafından %86.11 oranı ile en yüksek düzeyde engellenirken, bu izolatı %65.56 engelleme oranıyla *Bacillus atrophaeus* SÇ35en ve *Bacillus cereus* SÇ8en, %64.44 engelleme oranıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ33ep izolatları izlemiştir. Yapılan bu çalışma ile gerek ülkemizde gerekse dünyada yer fıstığında hastalık etmeni olarak belirlenen *L. pseudotheobromae*'nın antagonist bakteri izolatları ile biyolojik mücadele imkanları ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Test edilen 43 izolatın 24 tanesi endofit, 19 tanesi ise epifit karakterde bakteri izolatıdır. Endofit bakteri izolatlarının 3 farklı hastalık etmenine karşı göstermiş olduğu ortalama antagonistik etkinlik %44.36 olarak belirlenirken, epifit özellikteki izolatların ortalama antagonistik etkinlik değeri ise %38.50 olarak tespit edilmiştir. Bu durumda endofit karakterli bakteri izolatlarının yer fıstığı bitkilerinde sorun toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine karşı nispeten daha yüksek oranda biyoetkinlik göstermiştir.

Çalışmalarımızda kullanmış olduğumuz antagonist bakteri türleri temsilen seçilen 15 farklı bakteri izolatı, siderofor, proteaz, hidrojen siyanür (HCN), amonyak (NH₃), IAA üretimi ve fosforu çözme etkinlikleri gibi antagonistik ve bitki gelişimini teşvik eden etki mekanizmaları bakımından istatistiksel olarak farklılıklar göstermiştir. Temsili olarak seçilen bakteri izolatlarından, 10 tanesi siderofor, 13 tanesi proteaz, 15 tanesi amonyak,

4 tanesi ise hidrojen siyanür (HCN) üretimi açısından pozitif olarak kaydedilmiştir. *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep, *Bacillus cereus* SÇ19en ve *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en gibi *in vitro* antagonistik etkinliği yüksek bakteri izolatların siderofor, proteaz, HCN ve amonyak üretimi gibi antagonistik mekanizmalardan bir veya birkaçını kullandığı belirlenmiştir. Test edilen 15 bakteri izolatın tamamı 1.68-55.30 µg/ml konsantrasyon aralığında değişen miktarda IAA üretmiş olup, 7 izolatın fosforu çözebilme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. İzolatlar arasında en yüksek IAA üretiminin *Bacillus megaterium* SÇ2en izolatınca, en yüksek şiddette fosfor çözen bakteri izolatın ise *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak siderofor, proteaz, amonyak ve HCN gibi antagonistik, IAA ve fosforu çözme gibi bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalar bakımından etkinlik gösteren bakteri izolatlarından *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Enterobacter* spp.'ye ait antagonist ve PGPB izolatlarının yer fıstığında sorun olan toprak kökenli fungal hastalıklarla mücadelede biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılma potansiyelinde olduğu belirlenmiştir.

Antagonist bakteri izolatların *in vivo* etkinlik çalışmaları sürveylerde en yaygın hastalıklar olarak tespit edilen *S. rolfii* ve *A. niger* hastalık etmenlerine karşı araştırılmıştır. Bakteri izolatları arasından her iki hastalık etmenine karşı *in vitro* etkinlikleri ve etki mekanizmalarındaki özellikleri göz önüne alınarak *Bacillus subtilis* SÇ19en, *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep ve *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en gibi farklı izolatlar kullanılmıştır.

S. rolfii'ye karşı *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep izolatı *in vivo* koşullarda hastalık çıkışını %86.21 oranında engellemek suretiyle en yüksek etkinlik gösteren izolat olarak belirlenmiştir. Bu izolatı %79.31 engelleme oranıyla *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en, %65.52 engelleme oranıyla *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatları takip etmiştir.

A. niger'e karşı *Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en izolatı hastalık çıkışını %83.87 oranında engellemek suretiyle en yüksek etkinlik gösteren izolat olarak belirlenmiştir. Bu izolatı %74.19 engelleme oranıyla *Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep, %61.29 engelleme oranı ile *Bacillus subtilis* SÇ19en izolatı izlemiştir.

Sağlıklı bitkilerden izole edilen endofit ve epifit karakterli antagonist bakteri izolatların antagonist etkinlikleri değerlendirildiğinde, aynı türe ait bakteri izolatların test edildikleri fungal etmenlere karşı göstermiş oldukları antagonistik etkinlikler arasında istatistiksel farklılıklar gözlenmiştir. Söz konusu farklılıkların antagonist bakteri

izolatların izole edildikleri yer fıstığı bitkilerinin yetiştiği alanlardaki çevre koşullarının ve genetik koşulların etkide bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Epifitik ve endofitik kökenli bakterilerin toprak kökenli hastalık etmenlere karşı *in vitro* antagonistik etkinlik gösterdiği, genelde endofit karakterli antagonist izolatların etkinliğinin epifit karakterdeki izolatlara kıyasla daha yüksek düzeyde antagonistik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Antagonistik etkinlik gösteren izolatlar ve etki mekanizmaları birlikte değerlendirildiğinde, etkili antagonist bakteri izolatların hastalık etmenlerinin engellemesinde antagonistik, parazitik ve PGPB etki mekanizmalarından bir veya birkaçını birden kullanmak suretiyle etkili olduğu görülmüştür. *In vitro* koşullarda yüksek etkinlik gösteren izolatların *in vivo* koşullarda da etkili olduğu belirlenmiş olup, test edilmeyen ikili kültür çalışmalarında düşük antagonistik etkinliği olan izolatların bitki dayanıklılığını teşvik edebilme potansiyelinin olabileceği gerçeğinin de göz ardı edilmemesi gerekmektedir.

Sonuç olarak biyokontrol etmeni olarak kullanılan bakteriyel izolatlar entegre mücadele programı kapsamında pestisitlerin çevre üzerindeki olası olumsuzlukların azaltılmasında rol oynayabilirler. Güçlü antagonistik (siderofor, proteaz, amonyak üretimi) ve bitki gelişimini teşvik edici (IAA ve fosfor çözme) etkinlikleri gösteren, özellikle *Bacillus* spp. (*Bacillus amyloliquefaciens* SÇ9ep), *Pseudomonas* spp. (*Pseudomonas aeruginosa* SÇ36en) ve *Enterobacter* spp. ait antagonist ve PGPB izolatların teksele veya karışım halinde geliştirilecek biyopreparatların özellikle toprak kökenli hastalık etmenlerine karşı fungusitlere alternatif olarak değerlendirilebileceği kanaatine varılmıştır. Söz konusu bakterilerden uygun formülasyon tiplerinde geliştirilecek biyopreparatların tohumlara kaplama şeklinde ekim öncesinde uygulanabileceği gibi, preparatların damla sulama ile kök bölgesine verilmesinin oldukça uygun olduğu değerlendirilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abbasdokht, H., and Gholami, A., 2010. The effect of seed inoculation (*Pseudomonas putida*+*Bacillus lentus*) and different levels of fertilizer on yield and yield components of wheat (*Tritium aestivum* L.) cultivars. **International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering**, 4: 678–682.
- Abd-Allah, E.F., 2005. Effect of a *Bacillus subtilis* isolate on southern blight (*Sclerotium rolfsii*) and lipid composition of peanut seeds. **Phytoparasitica**, 33:460-466.
- Abd-Elmagid, W.M.A., Aly, M.M.E.S., and El-Sharkawy, R.M., 2020. Control of peanut root and pod rots diseases using certain bioagents. **Journal of Phytopathology and Disease Management**, 7: 79-90.
- Adeniyi, D. O., and Asogwa, E. U., 2023. Dynamics of diseases and insect pests of cashew tree. **Forest Microbiology, Tree Diseases and Pests Academic Press**, 3: 265-284.
- Ahmad, A-G.M., Attia, A-Z.G., Mohamed, M.S., Elsayed, H.E., 2019. Fermentation, formulation and evaluation of PGPR *Bacillus subtilis* isolate as a bioagent for reducing occurrence of peanut soil-borne diseases. **Journal of Integrative Agriculture**, 18: 2080-2092.
- Ahmed, K. M., and Ravinder Reddy, C. H., 1993. A Pictorial Guide to the Identification of Seedborne Fungi of Sorghum, Pearl Millet, Finger Millet, Chickpea, Pigeonpea, and Groundnut. Information Bulletin no. 34. **International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics**.
- Ahmed, S., and Zaman, N., 2012. Evaluation of groundnut germplasm against root rot disease in agro-ecological conditions of district Chakwal, Punjab-Pakistan. **African Journal of Microbiology Research**, 6: 5862-5865.
- Akash, A. U., Ramya, V., Uma Devi, G., Pushpavalli, S. N. C. V. L., and Triveni, S., 2022. Antagonist activities of native rhizosphere micro-flora against groundnut stem rot pathogen, *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, 32: 133.
- Aktan, Z.C., 2018. Badem ağaçlarında sorun olan toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine karşı antagonist ve bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin *in vitro* etkinliklerinin belirlenmesi. **Yüksek Lisans Tezi (Tez No: 520325). Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma ABD. 102 sayfa.**
- Aktan, Z.C., ve Soylu, S., 2020. Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. **KSU Tarım ve Doğa Derg.** 23: 641-654.
- Alam, M. W., Malik, A., Rehman, A., Sarwar, M., Shafeeq, T., Hameed, A., Rajput, N. A., and Atiq, M., 2021. First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing stem end rot of mango fruit in Pakistan. **Plant Disease**, 105: 2249.
- Alves, A., Crous, P. W., Correia, A., and Phillips, A. J. L., 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. **Fungal Diversity**, 28: 1-13.
- Amer, A.G., and Utkhede R.S., 2007. Development of formulation of biological agents for management of root rot of lettuce and cucumber. **Canadian Journal of Microbiology**, 46:809-816.
- Anonymous, 2012. All India Coordinated Research Project on Groundnut Reports. Directorate of Groundnut research, Junagadh.

- Archana, T., Rajendran, L., Manoranjitham, S. K., Santhana Krishnan, V. P., Paramasivan, M., and Karthikeyan, G., 2020. Culture-dependent analysis of seed bacterial endophyte, *Pseudomonas* spp. EGN 1 against the stem rot disease (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) in groundnut. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, 30: 1-13.
- Arioğlu, H. H., 2014. Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı. **Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Adana.**
- Arora, N.K., Tewari, S., Singh S., Lal N. and Maheshwari D.K., 2012. PGPR for protection of plant health under saline conditions. **Bacteria in Agrobiolgy: Stress Management**, pp 239-258.
- Ataga, A. E., Ikechi-Nwogu, C. G., Iyanyi, N. G., and Ovbije, A. R., 2019. Molecular characterization of fungi from *Arachis hypogaea*. **Nigerian Journal of Botany**, 32: 1-9.
- Atay, M., Kara, M., Uysal, A., Soylu, S., Kurt, Ş. and Soylu, E.M., 2020. *In vitro* antifungal activities of endophytic bacterial isolates against postharvest heart rot disease agent *Alternaria alternata* in pomegranate fruits. **Acta Horticulturae**, 1289: 309-314.
- Aulakh, K.S., and Sandhu, R.S., 1970. Reaction of groundnut varieties against *Aspergillus niger*. **Plant Disease Reporter**, 54: 337-38.
- Awan, Q. N., Akgul, D. S., and Unal, G., 2016. First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing postharvest fruit rot of lemon in Turkey. **Plant Disease**, 100: 2327-2327.
- Aycock, R., 1966. Stem rot and other diseases caused by *Sclerotium rolfsii*. **Technical Bulletin, North Carolina Agricultural Experiment Station**, 174: 202.
- Babalola, O.O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology Letters**, 32: 1559–1570.
- Backman, P.A., and Brenneman, T.B., 1997. Stem rot. (N. Kokalis-Burelle, D. M. Porter, R. Rodríguez-Kábana, D. H. Smith, and P. Subrahmanyam, Editors). In: **Compendium of Peanut Diseases**. APS Press, 2nd edition. pp. 36–37, St. Paul, Minn, USA.
- Baird, R.E., Bell, D.K., Sumner, D.R., Mullinix, B.G., Culbreath, A.K., 1993. Survival of *Rhizoctonia-Solani* Ag-4 in residual peanut shells in soil. **Plant Disease**, 77: 973-975.
- Baird, R.E., Brenneman, T.B., Bell, D.K., Sumner, D.R., Minton, N.A., Mullinix, B.G., and Peery, A.B., 1995. Influence of crop rotation and flutolanil on the diversity of fungi on peanut shells. **Phytoprotection**, 76: 101-113.
- Baker, R., and Paulitz T.C., 1996. Theoretical basis for microbial interactions leading to biological control of soil borne plant pathogens. In: Hall R, ed., Principles and Practice of Managing Soil Borne Plant Pathogens. **The American Phytopathological Society**, pp. 50–79.
- Bakker, A, and Schippers B., 1987. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp.-mediated plant growth-stimulation. **Soil Biology and Biochemistry**, 19: 451-7.
- Bashan, Y., and Holguin, G., 1998. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growthpromoting bacteria) and PGPB. **Soil Biology and Biochemistry**, 30: 1225-1228.

- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., and El Enshasy, H., 2021. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. **Sustainability**, 13: 1140.
- Besson, F., and Michel, G., 1992. Biosynthesis of bacillomycin D activating enzymes by the use of affinity chromatography. **FEBS Letters** 308:18–21.
- Beute, M. K., 1997. *Pythium* diseases. (N. Kokalis-Burelle, D. M. Porter, R. Rodríguez-Kábana, D. H. Smith, and P. Subrahmanyam, Editors). In: **Compendium of Peanut Diseases**. APS Press, 2nd edition. pp. 27-30, St. Paul, Minn, USA.
- Bhardwaj, D., Ansari, M.W., Sahoo, R.K. and Tuteja, N., 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. **Microbial Cell Factories**, 13: 1-10.
- Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiol Biotechnol**, 28: 1327-1350.
- Biçici, M., 1980. Yerfıstığı (*Arachis hypoganea* L.) ürününde tarla, hasat, kurutma ve depo dönemlerinde *Aspergillus niger* Van Tieghem ve *Aspergillus flavus* Link tarafından Oluşturulan Hastalık ve Aflatoksin Üzerine Araştırmalar. **Ç.Ü. Fen Bilimleri Doktora Tezi**. 110 s, Adana.
- Biçici, M., Çınar, Ö., ve Erkılıç, A., 1994. Yer fıstığında *Sclerotium rolfsii* Sacc. gövde çürüklüğü hastalığının kültürel, kimyasal, fiziksel ve biyolojik yöntemlerle mücadelesi. **Turkish Journal of Agricultural and Forestry**, 18: 423-435.
- Bishi, S. K., and Vakharia, D. N. 2015. Secondary metabolites and lytic enzymes produced by fluorescent pseudomonads determine in-vitro antagonistic potential against *Sclerotium rolfsii* in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Journal of Pure and Applied Microbiology**, 9: 3283-3294.
- Bora, T. ve Karaca, İ. 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalığın ve Zararın Ölçülmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı No:167, 43 s, İzmir.
- Borriss, R. 2011. Use of plant-associated *Bacillus strains* as biofertilizers and biocontrol agents in agriculture. In: **Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses**, Chapter 3, pp. 41–76.
- Branch, W.D. and Brenneman, T.B. 2009. Field evaluation for the combination of white mould and tomato spotted wilt disease resistance among peanut genotypes. **Crop Protection**, 28: 595–598.
- Brenneman, T.B., 1997. *Rhizoctonia* diseases. (N. Kokalis-Burelle, D. M. Porter, R. Rodríguez-Kábana, D. H. Smith, and P. Subrahmanyam, Editors). In: **Compendium of Peanut Diseases**. APS Press, 2nd edition. pp. 29-31, St. Paul, Minn, USA.
- Brittenham, G.M., 1994. New advances in iron metabolism, iron deficiency and iron overload. **Current Opinion Hematology**, 1:549–556.
- Busso, G., Civitaresi, M., Geymonat, A., and Roig, R., 2004. Situacion socioeconomic de la produccion de mani'y derivados en la region sur de Cordoba. **Fundacion Mano Argentino-Universidad Nacional de Rio Cuarto**, 123-133.
- Butzler, T.M., Bailey, J. and Beute, M.K., 1998. Integrated management of *Sclerotinia* blight in peanut: utilizing canopy morphology, mechanical pruning, and fungicide timing. **Plant Disease**, 82: 1312–1318.
- Cappuccino, J.C. and Sherman, N., 1992. In: *Microbiology: A laboratory Manual*, 3rd ed. Benjamin Cummings Pub. Co, New York, pp. 125-179.

- Carina, M., Andrea, A., Lorena, P., Maria, G., Stella, C. and Ana, C., 2006. Ochratoxin A and the occurrence of ochratoxin A producing black aspergilli in stored peanut seeds from Cordoba, Argentina. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 86: 2369–2373.
- Castillo, S.R.M., 2023. A review of *Botryosphaerales* in Venezuela with special reference to woody plants. **Annual Forest Research**, 66:35-62.
- Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., and Ongena, M., 2011. Bacillus-based biological control of plant diseases. (London, UK: IntechOpen), 1849: 273-302.
- Chabot, R., Antoun, H., and Cescas, M.P. 1993. Stimulation of growth of maize and lettuce by inorganic phosphorus solubilizing microorganisms. **Canadian Journal of Microbiology**, 39: 941–47.
- Chaihan, M., Chunhaleuchanon, S., and Lumyong, S., 2009. Screening siderophore producing bacteria as potential biological control agent for fungal rice pathogens in Thailand. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 25: 1919–1928.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., Chowdhury, P. R., Tongden, C., and Basnet, M., 2006. Investigation on plant growth promoting rhizobacteria of tea rhizosphere. **6th ed. International Workshop on PGPR, IISR, Calicut, Kerala**, pp: 78-82.
- Chaur, T., 1998. General mechanisms of action of microbial biocontrol agents. **Plant Pathology Bulletin**, 7: 155-166.
- Chen, J., Zhu, Z., Fu, Y., Cheng, J., Xie, J., and Lin, Y., 2021. Identification of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing fruit rot of citrus in China. **Plants**, 10: 202.
- Chen, L., Wu, Y. D., Chong, X. Y., Xin, Q. H., Wang, D. X., and Bian, K., 2020. Seed-borne endophytic *Bacillus velezensis* LHSB1 mediate the biocontrol of peanut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Applied Microbiology**, 128: 803-813.
- Chi, Y. C., Xu, M. L., Yang, J. G., Wang, F. L., and Wu, J. X., 2016. First report of *Rhizoctonia solani* causing peanut pod rot in China. **Plant Disease**, 100: 1008-1008.
- Chinnadurai, C., Balachandar, D., Sundaram, S.P., 2009. Characterization of 1-aminocyclopropane-1- carboxylate deaminase producing methylobacteria from phyllosphere of rice and their role in ethylene regulation. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 25: 1403–1411.
- Chitarra, G.S., Breeuwer, P., Nout, M.J.R., Aelst, A.C., van Rombouts, F.M., Abee, T., 2003. An antifungal compound produced by *B. subtilis* YM 10-20 inhibits germination of *Penicillium roqueforti* conidiospores. **Journal of Applied Microbiology**, 94:159–166.
- Chohan, J.S., 1965. Collar-rot of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) caused by *Aspergillus niger* in the Punjab. **Journal of Research**, 2: 25-33.
- Chohan, J.S., and Singh, T., 1973. Biological control of seed borne pathogen of groundnut. **Indian Journal of Mycology and Plant Pathology**, 3: 193-194.
- Choi, Y.W., Hyde, K.D. and Ho, W.H., 1999. Single spore isolation of fungi. **Fungal Diversity** 3: 29-38.
- Chukeatirote, E., Phueaouan, T., and Piwkam, A., 2018. Screening of rhizosphere soil bacteria for biocontrol of *Lasiodiplodia theobromae*. **Agriculture and natural resources**, 52: 325-329.
- Coleysmi, J.R., and Cooke, R.C., 1971. Survival and germination of fungal sclerotia. **Annual Review of Phytopathology**, 9: 65–92.

- Compant, S., Clement, C., and Sessitsch, A., 2009. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. **Soil Biology and Biochemistry**, 42: 669-678.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., and Barka, E. A., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. **Applied Environmental Microbiology**, 71: 4951–4959.
- Constantinescu, F., 2001. Extraction and identification of antifungal metabolites produced by some *B. subtilis* strains. **Analele Institutului de Cercetari Pentru Cereale Protectia Plantelo**, 31:17–23.
- Cook, R.J., and Baker, K.F., 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. 2nd ed. **American Phytopathological Society**, Saint Paul, MN, USA.
- Costa, A., Corallo, B., Amarelle, V., Stewart, S., Pan, D., Tiscornia, S., and Fabiano, E., 2022. *Paenibacillus* sp. strain UY79, isolated from a root nodule of *Arachis villosa*, displays a broad spectrum of antifungal activity. **Applied and Environmental Microbiology**, 88: e0164521.
- Cronin, D., Möenne-Loccoz, Y., Fenton, A., Dunne, C., Dowling, D.N., and O’Gara, F., 1997. Role of 2, 4-diacetylphloroglucinol in the interactions of the biocontrol pseudomonad strain F113 with the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis*. **Applied Environmental Microbiology**, 63: 1357–1361.
- Curtis, F., Lima, G., Vitullo, D., and De Cicco, V., 2010. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* on tomato by delivering antagonistic bacteria through a drip irrigation system. **Crop Protection**, 29: 663–670.
- Dalal, J. and Kulkarni, N., 2013. Antagonistic and plant growth promoting potentials of indigenous endophytic bacteria of soybean (*Glycine max* (L) Merrill). **Current Research in Microbiology and Biotechnology**, 1: 62-69.
- Damicone, J. P., and Melouk, H. A., 2009. Soilborne Diseases of Peanut. Tech-Rep. EPP-7664, Oklahoma Cooperative Extension Service.
- Dean, R., Van Kan, J.A., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., and Foster, G.D., 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, 13: 414–430.
- Desbrosses, G. J., and Stougaard, J., 2011. Root nodulation: a paradigm for how plant-microbe symbiosis influences host developmental pathways. **Cell Host Microbe**, 10: 348–358.
- Deshwal, V.K., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K., 2003. Isolation of plant growth-promoting strains of *Bradyrhizobium* (*Arachis*) sp with biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut. **Current Science**, 84: 443-448.
- Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M., and Chauhan, S.M., 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. **Microbiological Research**, 159: 371- 394.
- Djordje, F., Ivica, D., Tanja, B., Jelena, L., and Slaviša, S., 2018. Biological control of plant pathogens by bacillus species. **Journal of Biotechnology**, 285: 44–55.
- Doğan, M.N., 1995. Yer fıstığında gövde çürüklüğü hastalığına karşı solarizasyon etkinliğinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi (38927) **Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma ABD**, 56 sayfa.

- Elwakil, M.A., 2003. Use of antioxidant hydroquinone in the control of seed-born fungi of peanut with special reference to the production of good quality seed. **Pakistan Journal of Plant Pathology**, 2: 75–79.
- Endes, A., and Kayim, M., 2022. Morphological and molecular characterization of Botryosphaeriaceae species associated with dieback and gummosis on plum trees in Turkey. **Proceedings of the Bulgarian Academy of Sciences**, 75: 295–302.
- Endes, A., Kayim, M., and Eskalen, A., 2016. First report of *Lasiodiplodia theobromae*, *L. pseudotheobromae*, and *Diplodia seriata* causing bot canker and gummosis of nectarines in Turkey. **Plant Disease**, 100: 2321–2321.
- Fan, B., Blom, J., Klenk, H. P., and Borriss, R., 2017. *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* form an “operational group *B. amyloliquefaciens*” within the *B. subtilis* species complex. **Frontiers Microbiology**, 8: 22.
- FAO, 2021. FAOSTAT, Word Production data. Accessed 21 October, 2023 <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.
- Ferchichi, N., Toukabri, W., Boularess, M., Smaoui, A., Mhamdi, R., and Trabelsi, D., 2019. Isolation, identification and plant growth promotion ability of endophytic bacteria associated with lupine root nodule grown in Tunisian soil. **Archives of Microbiology**, 201: 1333–1349.
- Fernando, D.W.G., Nakkeeran, S., and Zhang, Y., 2005. Biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases. In: Siddiqui ZA (ed) PGPR: **Biocontrol and Biofertilization**, Springer, Dordrecht, pp 67–109.
- Ferreira, L., Sánchez-Juanes, F., García-Fraile, P., Rivas, R., Mateos, P.F., Martínez-Molina, E., González-Buitrago, J.M., and Velázquez, E., 2011. MALDI-TOF mass spectrometry is a fast and reliable platform for identification and ecological studies of species from family Rhizobiaceae. **PLoS One**, 6: e20223.
- Figueredo, M.S., Tonelli, M.L., Taurian, T., Angelini, J., Ibañez, F., Valetti, L., Muñoz, V., Anzuay, M.S., Ludueña, L. and Fabra, A., 2014. Interrelationships between *Bacillus* sp. CHEP5 and *Bradyrhizobium* sp. SEMIA6144 in the induced systemic resistance against *Sclerotium rolfsii* and symbiosis on peanut plants. **Journal of Biosciences**, 39: 877–885.
- Fira, D., Dimkić, I., Berić, T., Lozo, J., and Stanković, S., 2018. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. **Journal of Biotechnology**, 285: 44–55.
- Frankowski, J., Lorito, M., Scala, F., Schmidt, R., Berg, G., and Bahl, H., 2001. Purification and properties of two chitinolytic enzymes of *Serratia plymuthica* HRO-C48. **Archives of Microbiology**, 176: 421–426.
- Fravel, D.R., 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, 4: 75–91.
- Ganesan, P., and Gnanamanickam, S.S., 1987. Biological control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. in peanut by inoculation with *Pseudomonas fluorescens*. **Soil Biology and Biochemistry**, 19: 35–38.
- Ganesan, S., Kuppusamy, R.G., and Sekar, R., 2007. Integrated management of stem rot disease (*Sclerotium rolfsii*) of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) using rhizobium and *Trichoderma harzianum* (ITCC-4572). **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, 31: 103–108.
- Gebbru, S.T., Mammel, M.K., Gangiredla, J., Tournas, V.H., Lampel, K.A., and Tartera, C., 2019. Draft genome sequences of 12 isolates from 3 *Fusarium* species recovered from moldy peanuts. **Microbiology Resource Announcements**, 8: 10–1128.

- Geiser, M.D., Jimenez-Gasco, M.D.M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kulda, G.A. and O'Donnell, K., 2004. FUSARIUM-ID v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. **European Journal of Plant Pathology**, 110(5): 473–479.
- Ghewande, M.P., Desai, S., and Basu, M.S., 2002. Diagnosis and management of major diseases of groundnut, **NRCG Bulletin**, 1: 8-9.
- Gibson, I.A.S. 1953. Crown rot seedling diseases of groundnut caused by *A. niger* II. Anomalous effect of orange mercurial seed dressings. **Transactions of the British Mycological Society**, 36: 324-334.
- Glass, A.D.M., 1989. Plant Mineral Nutrition: An Introduction to Current Concepts. **Boston: Jones Bartlett Publishers**, 234-239.
- Glass, N.L., and Donaldson, G. C., 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, 61: 1323–1330.
- Glick, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, 5: Article ID 963401.
- Glickman, E., and Dessaux, Y., 1995. A critical evaluation of the specificity of salkowski reagent for indole compounds produced by phytopathogenic bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, 61: 793–796.
- Gohel, V., Singh, A., Misuria, V., Phadnis, A., and Chhatpar, H.S., 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. **African Journal of Biotechnology**, 5: 54–72.
- Goidanich, G., 1947. A revision of the genus *Macrophomina* Petrak. Type Species: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) G. Goid. n. comb, nec *M. phaseoli* (Maulb.) Ashby. **Annali della Sperimentazione Agraria**, 1: 449-461.
- Gözüyeşil, R., 2014. Osmaniye ilinde yer fıstığı yetiştiriciliği ile ilgili sorunların saptanması. Yüksek Lisans Tezi (Tez No: 382521). **Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Hatay.
- Gupta, G., Parihar, S.S., Ahirwar, N.K., Snehi, S.K. and Singh, V., 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. **Journal of Microbiology, Biochemistry and Technology**, 7: 96-102.
- Gutierrez, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mehouchi, J., Tadeo, F.R., and Talon, M., 2001. The plant growthpromoting rhizobacteria *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. **Physiologia Plantarum**, 111: 206–211.
- Güven, B., 2007. Yer fıstığı ve biberde gövde çürüklüğü (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) hastalığına karşı bazı bitki materyalleri ve abiyotik uyarıcıların etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi (Tez No: 200337). **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana. 38 sayfa.
- Haggag, W. M., and AboSedera, S.A., 2000. Influence of iron sources and siderophores produced by *Pseudomonas* on crown-rot disease incidence and seed contamination of peanut with pathogenic *Aspergilli*. **Annals of Agricultural Science Moshtohor**, 38: 1933-1948.
- Halfeld-Vieira, B. de A., Romeiro, R. da S., Mounteer, A. and Mizubuti, E.S.G., 2008. Efficiency of phylloplane bacteria in controlling aerial tomato diseases under field conditions. **Summa Phytopathologica**, 34: 86-87.

- Halfeld-Vieira, B. de A., Vieira Junior, J.R., Romeiro, R. da S., Silva, H.S.A. and Baracat-Pereira, M.C., 2006. Induction of systemic resistance in tomato by the autochthonous phylloplane resident *Bacillus cereus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41: 1247-1252.
- Hallmann, J., Quadts-Hallmann, A., Mahaffee, W.F. and Kloepper, J.W., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, 43:895-914.
- Hardoim, P.R., van Overbeek, L.S., Elsas, J.D., 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. **Trends in Microbiology**, 16: 463-471.
- Hass, D., and Defago, G., 2005. Biological control of soil borne pathogens by fluorescent pseudomonads. **Nature Reviews Microbiology**, 3: 307-319.
- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R. and Ahmed, I., 2010. Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: A Review. **Annals of Microbiology**, 60: 579-598.
- Hider, R. C., and Kong X., 2010. Chemistry and biology of siderophores. **Natural Product Reports**, 27: 637-657.
- Holliday, P., and Punithalingam, E., 1970. *Macrophomina phaseolina*, [Descriptions of Fungi and Bacteria]. **IMI Descriptions of Fungi and Bacteria**, 28: 275.
- Hollowell, J. E., Shew, B. B., Beute, M. K., and Abad, Z. G., 1998. Occurrence of pod rot pathogens in peanuts grown in North Carolina. **Plant Disease**, 82: 1345-1349.
- Höfte, M., 1993. Classes of microbial siderophores. In: Barton LL, Hemming BC (eds) Iron chelation in plants and soil microorganisms. Academic, San Diego, pp 3-26.
- Hussien, Z.N., Mahmoud, E.Y., Metwaly A.H., and Sobhy, H.M., 2012. Effect of some antagonistic bacteria in reducing of peanut damping-off, root and pod rot incidence caused by *Rhizoctonia solani*. **Journal of Plant Protection and Pathology**, 3: 1173-1187.
- Idris, H.A., Labuschagne, N., and Korsten, L., 2007. Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and crown rot of sorghum in Ethiopia. **Biological control**, 40: 97-106.
- Illmer, P.A., and Schinner, F., 1992. Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil. **Soil Biology and Biochemistry**, 24: 389-395.
- Isalar, O. F., Ogbuji, N. G., Okungbowa, F. I., and Ataga, A. E., 2021. Fungal contaminants associated with groundnut (*Arachis hypogaea*) seeds. **Journal of Bioinformatics and Systems Biology**, 4: 182-193.
- Ismail, A. M., Cirvilleri, G., Polizzi, G., Crous, P. W., Groenewald, J. Z., and Lombard, L. L., 2012. *Lasiodiplodia* species associated with dieback disease of mango (*Mangifera indica*) in Egypt. **Australasian Plant Pathology**, 4: 649-660.
- İmriz, G., Özdemir, F., Topal, İ., Ercan, B., Taş, M. N., Yakışır, E., ve Okur, O., 2014. Bitkisel üretimde bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR)'ler ve etki mekanizmaları. **Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi**, 12: 1-19.
- İncekara, R., 2011. Hıyar kök ve kökboğazı çürüklüğü etmeni *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* 'a karşı bitki uçucu yağlarının antifungal etkileri. Yüksek Lisans Tezi ((Tez No: 287581). **Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Hatay.
- Jackson, C. R., and Bell, D. K., 1969. Diseases of peanut (groundnut) caused by fungi. Res. Bull. 56 Ga Agric. Exp. Stns. pp. 137.

- Jacob, S., Sajjalaguddam, R.R., Sudini, H.K., 2018. *Streptomyces* sp. RP1A-12 mediated control of peanut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Integrative Agriculture**, 17: 892-900.
- Jia, S., Song, C., Dong, H., Yang, X., Li, X., Ji, M., and Chu, J., 2023. Evaluation of efficacy and mechanism of *Bacillus velezensis* CB13 for controlling peanut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii*. **Frontiers in Microbiology**, 14: 1111965.
- Kadiroğlu, A., 2023. Yer fıstığı Yetiştiriciliği. Batı Akdeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitü Müdürlüğü, Antalya.
- Kamil, Z., Rizk, M., Saleh, M., and Moustafa, S., 2007. Isolation and identification of rhizosphere soil chitinolytic bacteria and their potential in antifungal biocontrol. **Global Journal of Molecular Sciences**, 2: 57–66.
- Kara, M., and Soylu, S., 2022. Isolation of endophytic bacterial isolates from healthy banana trees and determination of their *in vitro* antagonistic activities against crown rot disease agent *Fusarium verticillioides*. **Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi**, 27: 36-46.
- Kara, M., Soylu, S., Kurt, Ş., Soylu, E.M. and Uysal, A., 2020. Determination of antagonistic traits of bacterial isolates obtained from apricot against green fruit rot disease agent *Sclerotinia sclerotiorum*. **Acta Horticulturae**, 1290: 135-142.
- Karthikeyan, V., Sankaralingam, A., and Nakkeeran, S., 2006. Biological control of groundnut stem rot caused by *Sclerotium rolfsii* (Sacc.). **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 39: 239-246.
- Keleş, Y., 2020. Adana ili yerfıstığı alanlarında *Sclerotium rolfsii*'nin yaygınlığının belirlenmesi ve mücadele olanaklarının araştırılması. **Yüksek Lisans Tezi (Tez No: 620660). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. 64 sayfa.**
- Khan, Z., and Doty, S.L., 2009. Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. **Plant and Soil**, 322: 197–207.
- Kim, K.J., Yang, Y.J., and Kim, J.G., 2003. Purification and characterization of chitinase from *Streptomyces* sp. M-20. **Korean Society for Biochemistry and Molecular Biology**, 36: 185–189
- Kim, Y.C., Jung, H., Kim, K.Y., and Park, S.K., 2008. An effective biocontrol bioformulation against *Phytophthora blight* of pepper using growth mixtures of combine chitinolytic bacteria under different field conditions. **European Journal of Plant Pathology**, 120: 373–382.
- Kishore, G. K., Pande, S., and Podile, A. R., 2006. *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergillus niger* and activates defence-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. **Australasian Plant Pathology**, 35: 259-263.
- Kishore, G.K., and Pande, S., 2007. Chitin-supplemented foliar application of chitinolytic *Bacillus cereus* reduces severity of Botrytis gray mold disease in chickpea under controlled conditions. **Letters in Applied Microbiology**, 44: 98–105.
- Kishore, G.K., Pande, S., and Podile, A.R., 2005a. Biological control of collar rot disease with broad-spectrum antifungal bacteria associated with groundnut. **Canadian Journal of Microbiology**, 51: 123–132.
- Kishore, G.K., Podile, A.R., Pande, S., and Rao, J.N., 2005b. *Pseudomonas aeruginosa* inhibits the plant cell wall degrading enzymes of *Sclerotium rolfsii* and reduces the severity of groundnut stem rot. **European Journal of Plant Pathology**, 113: 315–320.

- Kloepper, J.W., and Schroth, M.N., 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie, INRA, Angers, France, 2: 879-882.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, R., and Zablutowicz, R.M., 1989. Free living bacterial inocula for enhancing crop productivity. **Trends in Biotechnology**, 7: 39–44.
- Kloepper, J.W., Tuzun, S., and Kuc, J., 1992. Proposed definitions related to induced disease resistance. **Biocontrol Science and Technology**, 2: 349–351.
- Kokalis-Burelle, N., Porter, D. M., Rodriguez-Kabana, R., Smith, D. H., and Subrahmanyam, P., 1997. **Compendium of Peanut Diseases**, (Second Edition). APS Press, 2nd edition. pp. 36–37, St. Paul, Minn, USA.
- Korangi Alleluya, V., Argüelles Arias, A., Ribeiro, B., De Coninck, B., Helmus, C., Delaplace, P., and Ongena, M., 2023. Bacillus lipopeptide-mediated biocontrol of peanut stem rot caused by *Athelia rolfsii*. **Frontiers in Plant Science**, 14: 1069971.
- Kortei, N.K., Tetteh, R.A., Wiafe-Kwagyan, M., Amon, D.N.K., and Odamtten, G.T., 2022. Mycobiota profile, phenology, and potential toxicogenic and pathogenic species associated with stored groundnuts (*Arachis hypogaea* L.) from the Volta Region, Ghana. **Food Science and Nutrition**, 10: 888-902.
- Kuklinsky-Sobral, W.L., Araujo, R., Mendes, I.O., Geraldi, A.A., and Pizzirani-Kleiner, J.L., 2004. Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. **Environmental Microbiology**, 6: 1244–1251.
- Kumar, A., Patel, J. S., Meena, V. S., and Srivastava, R., 2019. Recent advances of PGPR based approaches for stress tolerance in plants for sustainable agriculture. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 20: 101271.
- Kumar, P., Dubey, R.C., and Maheshwari, D.K., 2012. *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. **Microbiological Research**, 167: 493–499.
- Kurt, Ş., 2013. Bitki Fungal Hastalıkları. Mustafa Kemal Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Hatay.
- Lamont, J. R., Wilkins, O., Bywater-Ekegard, M., and Smith, D. L., 2017. From yogurt to yield: potential applications of lactic acid bacteria in plant production. **Soil Biology and Biochemistry**, 111: 1–9.
- Lavkor, I. ve Biçici, M., 2015. Yer fıstığı yetiştiriciliğinde besin elementlerinin fungal hastalıklara etkisi. **Bitki Koruma Bülteni**, 55: 53-71.
- Lavkor, I., 2013. Yer fıstığı tarımında uygun kültürel işlemler ve hastalık yönetim pratikleri ile hastalık ve aflatoksin oluşumunun önlenmesi. Doktora Tezi (Tez No: 327159). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma ABD. 319 sayfa.
- Le, C. N., Hoang, T.K., Thai, T.H., Tran, T.L., Phan T.P.N, and Raaijmakers J.M., 2018. Isolation, characterization and comparative analysis of plant-associated bacteria for suppression of soil-borne diseases of field-grown groundnut in Vietnam. **Biological Control**, 121: 256-262.
- Le, C. N., Mendes, R., Kruijt, M., and Raaijmakers, J. M., 2012. Genetic and phenotypic diversity of *Sclerotium rolfsii* in groundnut fields in central Vietnam. **Plant Disease**, 96: 389-397.

- Le, C. N., Thai, T. H., Nguyen, X. V., Nguyen, T. L., Tran, T. X. P., and Tran, T. P. N., 2019b. Biological control of groundnut stem rot by *Bacillus* sp. strain S20D12. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 52: 625-638.
- Le, C.N., Kruijt, M. and Raaijmakers, J.M., 2011. Involvement of phenazines and lipopeptides in interactions between *Pseudomonas* species and *Sclerotium rolfsii*, causal agent of stem rot disease on groundnut. **Journal of Applied Microbiology**, 112: 390-403.
- Le, C.N., Thai, T.H., Tran, D.H., Nguyen, T.L., La, T.T.H. and Nguyen, X.V., 2019a. Genetic diversity of groundnut rhizosphere antagonistic bacteria and biological control of groundnut wilted diseases in central Vietnam. **Legume Research and International Journal**, 42: 405-410.
- Lei, X., Wang, E.T., Chen, W.F., Sui, X.H. and Chen, W.X., 2008. Diverse bacteria isolated from root nodules of wild *Vicia* species grown in temperate region of China. **Archives of Microbiology**, 190: 657–671.
- Lelliot, R.A., and Stead, D.E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants, (T.F. Preece, Editor), In: **Methods in plant pathology**, Vol 2, Blackwell Scientific Publications, pp, 176-177, Oxford.
- Lemanceau, P., and Albouvette, C., 1993. Suppression of *Fusarium* wilts by fluorescent *pseudomonas*: mechanism and applications. **Biocontrol Science and Technology**, 3: 219–234.
- Leong, J., 1986. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 24: 187-209.
- Leslie, J.F. and Summerell, B.A., 2006. **The Fusarium Laboratory Manual**. Blackwell Publishing, New York.
- Li, C., 2018. Control effect and mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* 41B-1 on *Sclerotium rolfsii*. Master dissertation, Nanjing: Agricultural University.
- Li, H., Li, C., Song, X., Li, J., Zhang, P., Sun, F., Geng, Z. and Liu, X., 2023a. Isolation and identification of antagonistic *Bacillus amyloliquefaciens* HSE-12 and its effects on peanut growth and rhizosphere microbial community. **Frontiers in Microbiology**, 14: 1274346.
- Li, L., Lei, M., Wang, H., Yang, X., Andargie, M., and Huang, S., 2020. First report of dieback caused by *Lasiodiplodia pseudotheobromae* on *Ormosia pinnata* in China. **Plant Disease**, 104: 2551-2555.
- Li, L., Wang, J., Liu, D., Li, L., Zhen, J., Lei, G., Wang, B., and Yang, W., 2023b. The antagonistic potential of peanut endophytic bacteria against *Sclerotium rolfsii* causing stem rot. **Brazilian Journal of Microbiology**, 54: 361-370.
- Li, L., Zhang, Z., Pan, S., Li, L., and Li, X., 2019. Characterization and metabolism effect of seed endophytic bacteria associated with peanut grown in South China. **Original Research article**, 10: 2019.
- Li, X., Tan, C., Li, P., Lin, L., Zhou, J., Tao, H., and Cai, Y., 2024. Biological control of avocado branch blight caused by *Lasiodiplodia theobromae* using *Bacillus velezensis*. **Plant Disease**, (in press).
- Li, X., Zhang, Y., Wei, Z., Guan, Z., Cai, Y., and Liao, X., 2016. Antifungal activity of isolated *Bacillus amyloliquefaciens* SYBC H47 for the biocontrol of peach gummosis. **PloS ONE**, 11: e0162125.
- Li, Y., Zhang, X., He, K., Song, X.Y., Yu, J., Guo, Z.Q., and Xu, M.L., 2023c. Isolation and identification of *Bacillus subtilis* LY-1 and its antifungal and growth-promoting effects. **Plants-Basel**, 12: 4158.

- Lindow, S.E., and Brandl, M.T., 2003. Microbiology of the phyllosphere. **Applied and Environmental Microbiology**, 69: 1875-1883.
- Liou, G-Y., Chen, S-R., Wei, Y-H., Lee, F-L., Fu, H-M., Yuan, G-F., and Stalpers, J.A., 2007. Polyphasic approach to the taxonomy of the *Rhizopus stolonifer* group. **Mycological Research**, 111: 196-203.
- Loni, P.P., and Bajekal, S.S., 2011. Alkaline chitinase from *Bacillus firmus* SBPL-05 isolated from alkaline-saline environment of Lonar lake. **Indian Journal of Fundamental Applied Life Sciences**, 1: 161-165.
- Lopez-Millan, A.F., Morales, F., Abadia, A., and Abadia, J., 2001. Iron deficiency-associated changes in the composition of the leaf apoplastic fluid from field-grown pear (*Pyrus communis*) trees. **Journal of Experimental Botany**, 52: 1489-1498.
- Lu, P., Jiang, K., Hao, Y. Q., Chu, W. Y., Xu, Y. D., Yang, J. Y., Chen, J.L., Zeng, G.H., Gu, Z.H., and Zhao, H.X., 2021. Profiles of *Bacillus* spp. isolated from the rhizosphere of *Suaeda glauca* and their potential to promote plant growth and suppress fungal phytopathogens. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, 31: 1231-1240.
- Lu, Y., Li, C., Chen, Z.D., Yang, Y.H., and Tang, C.M., 2016. Biological control activities of *Bacillus amyloliquefaciens* 41B-1 against *Sclerotium rolfsii*. **Chinese Journal of Oil Crop Sciences**, 38: 487-494.
- Ludueno, L.M., Taurian, T., Tonelli, M.L., Angelini, J.G., Anzuay, M.S., Valetti, L., Munoz, V., and Fabra, A.I., 2012. Biocontrol bacterial communities associated with diseased peanut (*Arachis hypogaea* L.) plants. **European Journal of Soil Biology**, 53: 48-55.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F., 2009. Plant-growth-promoting rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**, 63: 541-556.
- Ma, L.J., Geiser, D.M., Proctor, R.H., Rooney, A.P., O'Donnell, K., Trail, F., Gardiner, D.M., Manners, J.M., and Kazan, K., 2013. *Fusarium* pathogenomics. **Annual Review of Microbiology**, 67: 399-416.
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., and Sa, T., 2007. Characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase containing *Methylobacterium oryzae* and interactions with auxins and ACC regulation of ethylene in canola (*Brassica campestris*). *Planta*, 226: 867-876.
- Mahadevakumar, S., Chandana, C., Deepika, Y. S., Sumashri, K. S., Yadav, V., and Janardhana, G. R., 2018. Pathological studies on the southern blight of China aster (*Callistephus chinensis*) caused by *Sclerotium rolfsii*. **European journal of plant pathology**, 151: 1081-1087.
- Mahadevakumar, S., Yadav, V., Tejaswini, G.S., and Janardhana, G.R., 2016. Morphological and molecular characterization of *Sclerotium rolfsii* associated with fruit rot of *Cucurbita maxima*. **European Journal of Plant Pathology**, 145: 215-219.
- Mahmoud, E., 2014. Performance of some antagonistic bacteria in minimizing occurrence of peanut damping-off, root-and pod-rot diseases. **Egyptian journal of Phytopathology**, 42: 205-220.
- March, G., and Marinelli, A., 1998. Manual del mani' (Tercera Edicio' n), EEA Manfredi, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), p. 24.

- Martinez-Salgado, S.J., Romero-Arenas, O., Morales-Mora, L.A., Luna-Cruz, A., Rivera-Tapia, J.A., Silva-Rojas, H.V., and Andrade-Hoyos, P., 2021. First report of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut (*Arachis hypogaea*) in Mexico. **Plant Disease**, 105: 2722-2722.
- Mayee, C. D., and Datar, V. V., 1988. Diseases of groundnut in the tropics. **Review of Tropical Plant Pathology**, 5: 85–118.
- Mazzola, M., 2002. Mechanism of natural soil suppressiveness to soil borne diseases. **Antonie van Leeuwenhoek**, 81: 557–564.
- McLaughlin, M.J., McBeath, T.M., Smernik, R., Stacey, S.P., Ajiboye, B., and Guppy, C., 2011. The chemical nature of P accumulation in agricultural soils-implications for fertilizer management and design: an Australian perspective. **Plant and Soil**, 349: 69–87.
- Meena, B., Marimuthu T., Vidhyasekaran P., and Velazhahan R., 2001. Biological control of root rots of groundnut with antagonistic *Pseudomonas fluorescens* strains. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, 108: 369–381.
- Mehan, V.K. and McDonald, D., 1997. Charcoal Rot. (N. Kokalis-Burelle, D. M. Porter, R. Rodríguez-Kábana, D. H. Smith, and P. Subrahmanyam, Editors). In: **Compendium of Peanut Diseases**. APS Press, 2nd edition. pp. 11-12, St. Paul, Minn, USA.
- Melouk, H.A., and Backman, P.A., 1995. Management of soilborne fungal pathogens. **Peanut Health Management**, 75-82.
- Miethke, M., and Marahiel, M.A., 2007. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 71: 413–451.
- Miljaković, D., Marinković, J., and Balešević-Tubić, S., 2020. The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. **Microorganisms**, 8: 1037.
- Mirabile, G., Moschetti, G., Alfonzo, A., Torta, L., and Bella, P., 2021. Interactions between *Bacillus amyloliquefaciens* AG1 and *Aspergillus* spp. contaminating food and feedstuffs. In **III International Organic Fruit Symposium and I International Organic Vegetable Symposium**, 1354 (pp. 245-252).
- Mishra, D.S., Kumar, A., Prajapati, S.E., Singh, A.K., and Sharma, S.D., 2013. Identification of the compatible bacterial and fungal isolates and their effectiveness against plant diseases. **Journal of Environmental Biology**, 34: 183–189.
- Mohanty, P., Singh, P. K., Chakraborty, D., Mishra, S., and Pattnaik, R., 2021. Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment. **Frontiers Sustainable Food Systems**, 5: 667150.
- Mordue, J.E.M., 1974. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria. No. 410.
- Mordue, J.E.M., and Holliday, P., 1976. *Sclerotinia sclerotiorum*. [Descriptions of Fungi and Bacteria]. **IMI Descriptions of Fungi and Bacteria**. 52, Sheet 513.
- Neilands, J.B., 1995. Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. **Journal of Biological Chemistry**, 270: 26723–26726.
- Nelson, P.E., Tousson, T.A. and Marasas, W.F.O., 1983. **Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification**. The Pennsylvania State University Press.
- Newton, W.E., 2000. Nitrogen fixation: From molecules to crop productivity. **J. Biol. Chem.** 27: 3-8.
- Ngoma, L., Babalola, O.O., and Ahmad, F., 2012. Ecophysiology of plant growth promoting bacteria. **Scientific Research and Essays**, 7: 4003-4013.

- Nguyen, T. N., Tran, V. M., Nguyen, T. T., and Le, C. N., 2004. Research on groundnut diseases in QuangBinh province. **National Agriculture and Rural Development**, 17: 337-342.
- Oddino, C.M., Marinelli, A.D., Zuza, M., and March, G.J., 2008. Influence of crop rotation and tillage on incidence of brown root rot of peanut caused by *Fusarium solani* in Argentina. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 30: 575-580.
- O'Donnell, K., Sutton, D.A., Fothergill, A., McCarthy, D., Rinaldi, M.G., Brandt, M.E., Zhang, N. and Geiser, D.M., 2008. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and *in vitro* antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. **Journal of Clinical Microbiology**, 46(8):2477–2490.
- Oliveira, M.N.V., Santos, T.M.A., Vale, H.M.M., Delvaux, J.C., Cordero, A.P., Ferreira, A.B., Miguel, P.S.B., Tótola, M.R., Costa, M.D., Moraes, C.A. and Borges, A.C., 2013. Endophytic microbial diversity in coffee cherries of *Coffea arabica* from south eastern Brazil. **Canadian Journal of Microbiology**, 59: 221-230.
- Osuinde, M.I., and Daibo, O.O., 1999. Wilt disease of *Arachis hypogaea* L. in Ekpoma, Edo State, Nigeria. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, 39: 39-42.
- Özkaya, S., Kara, M., Soylu, S., Gümüş, Y., Soylu, E.M., Teke, İ., Özcan, O.B., Sevilmiş, D., Ölmez, Y.A., Bilaloğlu, İ., and Lavkor, I., 2024. Morphological and molecular characterization of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing collar rot disease on peanut plants in Turkey. **Journal of Plant Disease and Protection**, (in press). <https://doi.org/10.1007/s41348-024-00933-x>
- Pan, M. S., Guo, W. Y., Zhou, L. Z., Deng, L., Miao, J. L., and Xu, H. G., 2022. Evaluation of efficacy in field and mechanism of *Bacillus velezensis* agents for controlling peanut stem rot caused buy *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Agriculture Science and Technology**, 24: 130–136.
- Park, S.H., Lee, J.H., and Lee, H.K., 2000. Purification and characterization of chitinase from a marine bacterium, *Vibrio* sp. 98CJ11027. **Journal of Microbiology**, 38: 224–229.
- Parmar, K. A., Rakholiya, K. B., Patel, P. R., and Singh, N., 2024. *In vitro* evaluation of antagonistic effect of biocontrol agents (BCA) against mango dieback incited by *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. **International Journal of Environment and Climate Change**, 14: 479-482.
- Pastor, N.A., Reynoso, M.M., Tonelli, M.L., Masciarelli, O., Rosas, S.B., and Rovera, M., 2010. Potential biological control *Pseudomonas* sp. PCI2 against damping-off of tomato caused by *Sclerotium rolfsii*. **Journal of Plant Pathology**, 92: 737–745.
- Patten, C.L. and Glick, B.R., 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acid in development of the host plant root system. **Applied and Environmental Microbiology**, 68: 3795-3801.
- Patten, C.L., and Glick, B.R., 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. **Canadian Journal of Microbiology**, 42: 207– 220.
- Perneel, M., Heyrman, J., Adiobo, A., De Maeyer, K., Raaijmakers, J. M., De Vos, P. and Höfte, M., 2007. Characterization of CMR5c and CMR12a, novel fluorescent *Pseudomonas* strains from the cocoyam rhizosphere with biocontrol activity. **Journal of Applied Microbiology**, 103: 1007-1020.
- Phillips, A. J. L., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Slipper, B., Wingfield, M.J., Groenewald, J. Z., and Crous, P. W., 2013. The *Botryosphaeriaceae*: genera and species known from culture. **Studies in Mycology**, 76: 51-167.

- Phipps, P.M., and Porter, D.M., 1998. Collar rot of peanut caused by *Lasiodiplodia theobromae*. **Plant Disease**, 82: 1205-1209.
- Pieterse, C.M.J., Van Pelt, J.A., Van Wees, S.C.M., Ton, J., Léon-Kloosterziel, K.M., Keurentjes, J.J.B., Verhagen, B.M.W., Knoester, M., Van der Sluis, L., Bakker, P.A.H.M., and Van Loon, L.C., 2001. Rhizobacteria mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. **European Journal of Plant Pathology**, 107: 51–61.
- Pipattanapuckdee, A., Boonyakait, D., Tiyyon, C., Seehanam, P., and Ruangwong, O. U., 2019. *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causes postharvest fruit rot of longan in Thailand. **Australasian Plant Disease Notes**, 14: 1-7.
- Pipattanapuckdee, A., Seehanam, P., Tiyyon, C., Boonyakait, D., Kunasakdakul, K., Supakitthanakorn, S., and Ruangwong, O. U., 2023. Inhibition of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing fruit rot disease of longan by using antagonistic *Bacillus siamensis* RFCD306. **Chiang Mai Journal of Science**, 50(1).
- Podile, A.R., and Kishore, G.K., 2006. Plant growth promoting rhizobacteria. In: Gnanamanickam SS (ed) **Plant associated bacteria**. Springer, Amsterdam, 195–230.
- Porter, D. M. and Melouk, H.A., 1997. *Sclerotinia* blight. (N. Kokalis-Burelle, D. M. Porter, R. Rodríguez-Kábana, D. H. Smith, and P. Subrahmanyam, Editors). In: **Compendium of Peanut Diseases**. APS Press, 2nd edition. pp. 34-36, St. Paul, Minn, USA.
- Porter, D. M., Smith, D. H., and Rodriguez-Kabana, R., 1982. Peanut plant diseases. (H. E. Pattee and C. T. Young, eds). In: **Peanut Science and Technology**, Am. Peanut Res. Educ. Soc., Yoakum, TX. Pages 326-410.
- Praveen, A., and Kannan, C., 2021. Disease incidence and severity of *Sclerotium rolfsii* on *Arachis hypogea* L. **Plant Archives**, 21: 344-349.
- Punja, Z.K., 1985. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Review of Phytopathology**, 23: 97-127.
- Puppala, N., Goldberg N. P., Beck L., Sanogo S., Thomas S. and Trostle C., 2018. New Mexico Peanut Production. aces.nmsu.edu/pubs. Cooperative Extension Service. Circular 645.
- Raaismakers, J.M., Paulitz, T.C., Steinberg, C., Alabouvette, C., and Moënné-Loccoz, Y., 2008. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. **Plant and Soil**, 321: 341-361.
- Rajaratnam, K., Balamurugan, T., Kulashera, Pandian, R., Veersamy, S., and Jayabalan, M., 1995. Isolation and screening of phosphate solubilizers from soil of Kamarajar district. **Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring**, 5: 155-157.
- Rajkumar, M., A.E, N., Prasad, M.N.V., and Freitas, H., 2010. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. **Trends in Biotechnology**, 28: 142–149.
- Rakh, R.R., Dalvi, S.M., Raut, L.S., and Manwar, A.V., 2022. Microbiological management of stem rot disease of groundnut caused by *Sclerotium rolfsii* Sacc., by exploiting *Pseudomonas aeruginosa*. AL98. **Research. Journal of Agriculture Sciences**, 13: 415-421.
- Rakh, R.R., Raut, L.S., and Dalvi, S. M., 2020. *Bacillus* spp. for *in-vitro* microbiological control of *Sclerotium rolfsii* Sacc., a stem rot pathogen of groundnut. **Research Journal of Agriculture Sciences**, 11: 499-506.

- Ramos Solano, B., García, J.A.L., Villaraco, A.G., Algar, E., Cristobal, J.G., and Mañero, F.J.G., 2010. Siderophore and chitinase producing isolates from the rhizosphere of *Nicotiana glauca* Graham growth and induce systemic resistance in *Solanum lycopersicum* L. **Plant Soil**, 334: 189–197.
- Rangjaroen, C., Rekarsem, B., Teaumroong, N., Noisangiam, R. and Lumyong, S., 2015. Promoting plant growth in a commercial rice cultivar by endophytic diazotrophic bacteria isolated from rice and races. **Annals of Microbiology**, 65: 253-266.
- Richardson, A.E., and Simpson, R.J., 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. **Plant Physiology**, 156: 989–996.
- Rothballer, M., Eckert, B., Schmid, M., Fekete, A., Schlöter, M., Lehner, A., Pollmann, S., and Hartmann, A., 2008. Endophytic root colonization of gramineous plants by *Herbaspirillum frisingense*. **FEMS Microbiology Ecology**, 66: 85–95.
- Ruzzi, M., and Aroca, R., 2015. Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. **Scientia Horticulturae**, 196: 124-134.
- Saharan, B.S., and Nehra, V., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review life sciences and medicine research. **Life Sciences Medicine Research LSMR**, 21:1–30.
- Sakalidis, M. L., Ray, J. D., Lanoiselet, V., Hardy, G. E. S., and Burgess, T. I., 2011. Pathogenic *Botryosphaeriaceae* associated with *Mangifera indica* in the Kimberley region of Western Australia. **European Journal of Plant Pathology**, 130: 379-391.
- Samuel, S., and Muthukkaruppan, S.M., 2011. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and fungi associated with rice, mangrove and effluent contaminated soil. **Current Botany**, 2: 22-25.
- Sansanwal, R., Ahlawat, U., Priyanka and Wati, L., 2017. Role of endophytes in agriculture. **Chemical Science Review and Letters**, 6: 2397-2407.
- Santoyo, G., Orozco-Mosqueda, M. D., and Govindappa, M., 2012. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. **Biocontrol Science and Technology**, 22: 855–872.
- Saxena, A. K., Kumar, M., Chakdar, H., Anuroopa, N., and Bagyaraj, D. J., 2020. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. **Journal of Applied Microbiology**, 128: 1583–1594.
- Sayyed, R.Z., and Chincholkar, S.B., 2009. Siderophore producing *Alcaligenes faecalis* more biocontrol potential vis-a'-vis chemical fungicide. **Current Microbiology**, 58: 47–51.
- Sayyed, R.Z., and Patel, P.R., 2011. Biocontrol potential of siderophore producing heavy metal resistant *Alcaligenes* sp. and *Pseudomonas aerogenosa* RZS3. vis-à-vis organophosphorus fungicide. **Indian Journal of Microbiology**, 51: 266–272.
- Sayyed, R.Z., Chincholkar, S.B., Reddy, M.S., Gangurde, N.S., and Patel, P.R., 2013. Siderophore producing PGPR for crop nutrition and phytopathogen suppression. In: Maheshwari DK (ed) **Bacteria in agrobiolgy: Disease Management**, Springer, Berlin/Heidelberg, 449–471.
- Sayyed, R.Z., Naphade, B.S., and Chincholkar, S.B., 2005. Ecologically competent *rhizobacteria* for plant growth promotion and disease management. In: Rai MK, Chikhale NJ, Thakare PV, Wadegaonkar PA, Ramteke AP (eds) **Recent Trends in Biotechnology**, Scientific Publishers, Jodhpur, pp 1–16.

- Sayyed, R.Z., Patel, D.C., and Patel, P.R., 2007. Plant growth promoting potential of *Pseudomonas* sp. occurring in acidic soil of Jalgaon. **Asian Journal of Microbiology and Biotechnology Environmental Sciences**, 9: 925–928.
- Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., Kumar, K.V., Yellareddygar, S.K.R., Deshmukh, A.M., Patel, P.R., and Gangurde, N.S., 2012. Potential of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. In: Maheshwari DK (ed) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Probiotics*. Springer, Berlin/Heidelberg, pp 287–313.
- Schmidt, W., 1999. Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. **New Phytology**, 141: 1–26.
- Schulz, B. and Boyle, C., 2006. What are endophytes? (Schulz BJE, Boyle CJC & Sieber TN, eds). In: **Microbial Root Endophytes**. Springer-Verlag, Berlin, 1–13.
- Schwyn, B. and Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, 160(1):47-56.
- Shanmugam, V., Senthil, N., Raguchander, T., Ramanathan, A., and Samiyappan, R., 2002. Interaction of *Pseudomonas fluorescens* with *Rhizobium* for their effect on the management of peanut root rot. **Phytoparasitica**, 30: 169-176.
- Sharma, A., Johri, B.N., Sharma, A.K., and Glick, B.R., 2003. Plant growth-promoting bacterium *Pseudomonas* sp. strain GRP3 influences iron acquisition in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilzeck). **Soil Biology and Biochemistry**, 35: 887–894.
- Sharma, A., Shankhdhar, D., and Shankhdhar, S.C., 2013. Enhancing grain iron content of rice by the application of plant growth promoting rhizobacteria. **Plant Soil Environ**, 59: 89–94.
- Shifa, H., Gopalakrishnan, C., and Velazhahan, R., 2018. Management of late leaf spot (*Phaeoisariopsis personata*) and root rot (*Macrophomina phaseolina*) diseases of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) with plant growth-promoting rhizobacteria, systemic acquired resistance inducers and plant extracts. **Phytoparasitica**, 46: 19-30.
- Shivlata, L., and Satyanarayana, T., 2017. Actinobacteria in agricultural and environmental sustainability. (Singh J.S. and Seneviratne G. Eds). In: **Agro-Environmental Sustainability** Berlin: Springer, 1: 173–218.
- Shokes, F. M., Lyda, S. D., and Jordan, W. R., 1977. Effect of water potential on the growth and survival of *Macrophomina phaseolina*. **Phytopathology**, 67:239-241.
- Shuang, L. I., Zhifan, Z., Fei, G., Te, Z., Pengqiang, D., and Lin, Z., 2024. Isolation and identification of antagonistic bacteria against *Sclerotium rolfsii* causing peanut southern blight and its inhibitory effect on *S. rolfsii* and growth-promotion to peanut in greenhouse. **Chinese Journal of Pesticide Science**, 26: 337-347.
- Siddiqui Z.A., 2006. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer, The Netherlands, 111-142.
- Singh, A., and Pandey, J., 2012. Metal contamination and health risk from consumption of organically grown vegetables influenced by atmospheric deposition in a seasonally dry tropical region of India. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 89: 384-389.
- Singh, P.P., Shin, Y.C., Park, C.S., and Chung, Y.R., 1999. Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. **Phytopathology**, 89: 92–99.
- Singh, S. K., Nene, Y. L., and Reddy, M. V., 1990. Influence of cropping systems on *Macrophomina phaseolina* in soil. **Plant Disease**, 74:812-814.

- Sivasakthi, S., Usharani, G., and Saranraj, P., 2014. Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: a review. **African Journal of Agricultural Research**, 9: 1265–1277.
- Slippers, B., and Wingfield, M. J., 2007. *Botryosphaeriaceae* as endophytes and latent pathogens of woody plants: diversity, ecology and their impact. **Fungal Biology Reviews**, 21: 90-106.
- Sobolev, V. S., Orner, V. A., and Arias, R. S., 2013. Distribution of bacterial endophytes in peanut seeds obtained from axenic and control plant material under field conditions. **Plant and Soil**, 371: 367–376.
- Soylu, E.M., Soylu, S., Kara, M., ve Kurt, Ş., 2020. Sebzelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. **KSU Tarım ve Doğa Dergisi**, 23: 7-18.
- Soylu, S., Atay, M., Kara, M., Uysal, A., Soylu, E. M., and Kurt, Ş., 2023. Morphological and molecular characterization of pepper fruit rot disease agent *Fusarium incarnatum*. **Journal of Phytopathology**, 171: 688-699.
- Soylu, S., Kara, M., Uysal, A., Kurt, Ş. and Soylu, E.M., 2021. Determination of antagonistic potential of endophytic bacteria isolated from lettuce against lettuce white mould disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. **Zemdirbyste-Agriculture**, 108: 303-312.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş. and Ekici, Ö.K., 2005. Antagonistic potentials of rhizosphere-associated bacterial isolates against soil-borne diseases of tomato and pepper caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 8: 43-48.
- Spaepen, S., and Vanderleyden, J., 2011. Auxin and plant-microbe interactions. **FEMS Microbiology Review**, 11: 125–148.
- Sturz, A.V., and Nowak, J., 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, 15: 183-190.
- Subandar, I., Hakim, L., Suliansyah, I., and Syakur, S., 2021. Identification of antagonistic bacteria against peanut stem rot disease (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) on the peatland of Kuala Pesisir-Nagan Raya, Indonesia. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, 637: 012063.
- Suksakol, S., Liamkraituan, J., Teeraarunsiri, W., Chiangmai, P. N., and Mahadtanapuk, S., 2024. Biocontrol of fruit discoloring and fruit rot disease in longan (*Dimocarpus longan*) by using antagonistic *Bacillus* spp. **Trends in Sciences**, 21: 7455-7455.
- Sunkad, G., Patil, M. S., and Joshi, R., 2023. Exploration of the potential of *Bacillus* spp. as an antagonist and PGPR against stem and pod rot of groundnut. **Legume Research**, 46: 1501-1509.
- Sülü, S.M., Bozkurt, İ.A. ve Soylu, S., 2016. Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. **Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 21: 103-111.
- Şengül, G., 1995. Yer fıstığı rizosfer ve rizoplane’indeki oktinomisetlerin yer fıstığında (*Sclerotium rolfsii* Sac.) ye antagonistik etkilerinin araştırılması. **Yüksek Lisans Tezi (38849) Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma ABD, 40 sayfa.**
- Tewari, S.K., Das, B., and Mehrotra, S., 2004. Cultivation of medicinal plants-tool for rural development. **J. Rural Technol**, 3: 147–150.

- Thiessen, L.D. and Woodward, J.E., 2012. Diseases of Peanut Caused by Soilborne Pathogens in the Southwestern United States. **International Scholarly Research Notices**, 2012.
- Thirumalaisamy, P.P., Dutta, R., Jadon, K.S., Nataraja, M.V., Padvi, R.D., Rajyaguru, R., and Yusufzai, S., 2019. Association and characterization of the *Fusarium incarnatum*-*F. equiseti* species complex with leaf blight and wilt of peanut in India. **Journal of General Plant Pathology**, 85:83-89.
- Tinivella, F., Hirata, L.M., Celan, M.A., Wright, S.A., Amein, T., Schmitt, A., and Garibaldi, A., 2009. Control of seed-borne pathogens on legumes by microbial and other alternative seed treatments. **European Journal of Plant Pathology**, 123: 139–151.
- Tonelli, M.L., Furlan, A., Taurian, T., Castro, S., and Fabra, A., 2011. Peanut priming induced by biocontrol agents. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 75: 100-105.
- Tonelli, M.L., Taurian, T., Ibanez, F., Angelini, J., and Fabra, A., 2010. Selection and *in vitro* characterization of biocontrol agents with potential to protect peanut plants against fungal pathogens. **Journal of Plant Pathology**, 92: 73-82.
- Townsend, G.K. and Heuberger J.W., 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. **Plant Disease Reporter**, 27: 340-343.
- TÜİK, 2022. TÜİK Bitkisel Üretim İstatistikleri. Erişim tarihi 19 Ekim, 2023 <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92locale=tr>
- Uçkun, Z., ve Yıldız, M., 2004. İzmir, Aydın ve Denizli illeri buğday alanlarındaki kök ve kökboğazı hastalıklarının yoğunluğunun ve etmenlerinin belirlenmesi. **Bitki Koruma Bülteni**, 44: 79-92.
- Van Der Plaats-Niterink J., 1981. Monograph of the genus *Pythium*. Centraal Bureau Voor Schimmelcultures, Baarn. The Netherlands. **Studies in Mycology** 21: 1-242.
- Van Loon, L.C., and Bakker, P.A.H.M., 2005. Induced systemic resistance as a mechanism of disease suppression by rhizobacteria. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), **PGPR: Biocontrol and Biofertilization**, 39-66.
- Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, C.M.J., 1998. Systemic resistance induced by Rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, 36: 453-483.
- Vazquez, P., Holguin, G., Puente, M.E., Lopez-Cortes, A. and Bashan, Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. **Biology and Fertility of Soils**, 30: 460-468.
- Velusamy, P., and Kim, K.Y., 2011. Chitinolytic activity of *Enterobacter* sp. KB3 antagonistic to *Rhizoctonia solani* and its role in the degradation of living fungal hyphae. **Int Res J Microbiol**, 2: 206–214.
- Vincent, M.N., Harrison, L.A., Brackin, J.M., Kovacevich, P.A., Mukerji, P., Weller, D.M., and Pierson, E.A., 1991. Genetic analysis of the antifungal activity of a soilborne *Pseudomonas aureofaciens* strain. **Applied and Environmental Microbiology**, 57: 2928–2934.
- Vural C., and Soylu S., 2012. Prevalence and incidence of fungal disease agents affecting bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants. **Research on Crops**, 13: 634-640.
- Wang, F.H., Zeng, Q., Liu, C., Zhou, Y.J., Chen, X.H., Liu, F., Xu, X.L., Liu, Y.G., Yang, C.L., 2023b. Trunk canker of *Juglans sigillata* caused by *Lasiodiplodia pseudotheobromae* in China. **Plant Disease**, 107:1228.

- Wang, J., Li, X., Sun, X., Huo, X., Li, M., Han, C., and Liu, A., 2023. Establishment and application of a multiplex PCR assay for detection of *Sclerotium rolfsii*, *Lasiodiplodia theobromae*, and *Fusarium oxysporum* in peanut. **Molecular Biotechnology**, 65: 1369-1377.
- Wang, W., and Song, X., 2021. First report of *Lasiodiplodia theobromae* and *L. pseudotheobromae* causing canker disease of *Sacha inchi* in Hainan, China. **Plant Disease**, 105: 3757.
- Wei, G., Kloepper, J.W. and Tuzun, S., 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. **Phytopathology**, 86: 221-224.
- Welbaum, G., Sturz, A.V., Dong, Z., and Nowak, J., 2004. Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 23: 175-193.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review Phytopathology**, 26: 379-407.
- Wheeler, T. A., Howell C. R., Cotton, J., and Porter D., 2005. *Pythium* species associated with pod rot on west texas peanuts and *in vitro* sensitivity of isolates to mefenoxam and azoxystrobin. **Peanut Science**, 32: 9-13.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ (eds) PCR Protocols, **A Guide to Methods and Applications**. San Diego, CA, Academic Press, 18: 315-322.
- Whitelaw, M.A., 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. **Advances in Agronomy**, 69: 99-151.
- Woodward, J. E., Nui, C., Wright, R. J., Batla, M. A., and Baughman, T. A., 2008. First report of *Sclerotinia sclerotiorum* infecting peanut in Texas. **Plant Disease**, 92: 1468-1468.
- Woodward, J.E. and Brenneman, T.B., 2008. "Development of an inoculation method for quantifying fungicide residues on peanut foliage," **Peanut Science**, 35: 25-31.
- Xie, C., Huang, C.-H., and Vallad, G. E., 2014. Mycelial compatibility and pathogenic diversity among *Sclerotium rolfsii* isolates in the southern United States. **Plant Disease**, 98: 1685-1694.
- Xu, M., Zhang, X., Yu, J., Guo, Z., Wu, J., Li, X., Chi, Y., and Wan, S., 2020. Biological control of peanut southern blight (*Sclerotium rolfsii*) by the strain *Bacillus pumilus* LX11. **Biocontrol science and technology**, 30: 485-489.
- Xue, C.Y., Zhou, R.J., Li, Y.J., Xiao, D., and Fu, J.F., 2018. Cell-wall-degrading enzymes produced *in vitro* and *in vivo* by *Rhizoctonia solani*, the causative fungus of peanut sheath blight. **PEERJ**, 6: 5580.
- Yadav, G., and Meena, M., 2023. Biological control of plant diseases by endophytes. In Endophytic Association: What, Why and How. **Academic Press**, 119-135.
- Yang, N., Li, L. Y., Sun, B. B., Xiao, Y., and Xu, Y. P., 2017. Study on the effect of *Bacillus amyloliquefaciens* LX-J1 and its fertilizer on the control of peanut white silk disease. **J. Gen. Sci. Tec**, 25: 73-76.
- Yıldız, H.N., Altınok, H.H., and Dikilitas, M., 2012. Screening of rhizobacteria against *Fusarium oxysporum* f.sp. *melongenae*, the causal agent of wilt disease of eggplant. **African Journal of Microbiology Research**, 6: 3700-3706.

- Yu, G.Y., Sinclair, J.B., Hartman, G.L., and Beragnolli, B.L., 2002. Production of iturin A by *Bacillus amyloliquefaciens* suppressing *Rhizoctonia solani*. **Soil Biology and Biochemistry**, 34: 955–963.
- Yuttavanichakul, W., Lawongsa, P., Wongkaew, S., Teaumroong, N., Boonkerd, N., Nomuro, N., and Tittabutr, P., 2012. Improvement of peanut rhizobial inoculant by incorporation of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as biocontrol against the seed borne fungus, *Aspergillus niger*. **Biological Control**, 63: 87–97.
- Zhang, X., Li, Y., Xu, M., Guo, Z., Yu, J., Song, X., He, K., Zhang, Z., and Chi, Y., 2022a. First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing collar rot of peanut in Shandong province, China. **Plant Disease**, 106: 1982.
- Zhang, X., Xian, W., Qu, M., Xu, M., Guo, Z., Yu, J., He, K., Yang, M., and Chi, Y., 2022b. First report of sclerotinia blight on peanut caused by *Sclerotinia sclerotiorum* in Qinghai province, China. **Plant Disease**, 106: 1301.
- Zhao, Y., Guo, L., Hui, X., Wang, X., Xu, L., Guan, X., and Zhao, Z., 2021. Effect of microbial agents dress seeds on peanut soil-borne diseases and yield. **Chinese Journal of Biological Control**, 37: 1250.
- Zheng, J., Allarda, S., Reynolds, S., Millner, P., Arcea, G., Blodgetta, R.J. and Browna, E.W., 2013. Colonization and internalization of *Salmonella enterica* in tomato plants. **Applied and Environmental Microbiology**, 79: 2494-2502.
- Ziedan, E. H. E., 2006. Manipulating endophytic bacteria for biological control to soil borne diseases of peanut. **Journal of Applied Sciences Research**, 2: 497-502.

ÖZGEÇMİŞ

Yazar İlkokul, Ortaokul ve Lise öğrenimini Adana’da tamamladı. 2005 yılında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi (HMKÜ) Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümü’nü kazandı, 2009 yılında Ziraat Mühendisliği-Bitki Koruma alt programından mezun oldu. 2009-2012 yıllarında HMKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (ABD)’nden yüksek lisans derecesiyle mezun oldu. 2011 yılında Hatay İl Tarım ve Orman Müdürlüğüne bağlı Altınözü İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğüne Ziraat Mühendisi olarak atandı. 2011-2019 yılları arasında Altınözü İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğünde (Hatay) Ziraat Mühendisi, 2019-2022 yılları arasında Yağlı Tohumlar Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde (Osmaniye) araştırmacı, 2022-2023 yılları arasında Zeytincilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde (Hatay) araştırmacı olarak görev yaptı. 2023 yılının Ekim ayından itibaren Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünde (Adana) araştırmacı olarak başladığı görevine devam etmektedir.

EKLER

EK-1. Bakteri ve Fungal etmenlerin geliştirilmesinde kullanılan besi yerleri ve içerikleri

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

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

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

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

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

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

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

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

Patates Sukroz Agar (PSA) (Merck, Darmstadt, Germany. Katalog No:110130)

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