



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KONYA İLİNDE DEPOLANAN PATATES YUMRULARINDA FUNGAL
HASTALIK ETMENLERİNİN TANILANMASI, YAYGINLIĞI ve
ENDOFİT BAKTERİLER ile BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

FATİH KÖSE

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**HATAY
MAYIS-2024**



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KONYA İLİNDE DEPOLANAN PATATES YUMRULARINDA FUNGAL
HASTALIK ETMENLERİNİN TANILANMASI, YAYGINLIĞI ve ENDOFİT
BAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

FATİH KÖSE
ORCID:0000-0003-3739-5248

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

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

HATAY
MAYIS-2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KONYA İLİNDE DEPOLANAN PATATES YUMRULARINDA FUNGAL
HASTALIK ETMENLERİNİN TANILANMASI, YAYGINLIĞI ve ENDOFİT
BAKTERİLER ile BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

FATİH KÖSE

**BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

Prof. Dr. Soner SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez **09/05/2024** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Soner SOYLU
Başkan

Prof. Dr. Kazım MAVİ
Üye

Prof. Dr. Yeşim AYSAN
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.002

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.

09/05/2024

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.

Fatih KÖSE

ÖZET

KONYA İLİNDE DEPOLANAN PATATES YUMRULARINDA FUNGAL HASTALIK ETMENLERİNİN TANILANMASI, YAYGINLIĞI ve ENDOFİT BAKTERİLER ile BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Patates [*Solanum tuberosum* L.], yüksek besin içeriğine sahip, dünya genelinde en fazla üretimi ve tüketimin yapılan 4. önemli sebze türüdür. Bu çalışmada, (i) Konya ilinin önemli ilçelerinde depolanan patates yumrularında sorun olan fungal hastalık etmenleri ve yaygınlıklarının belirlenmesi, (ii) sağlıklı patates yumrularından faydalı endofit bakterilerin izolasyonu, tanısı, (iii) endofit bakterilerin depolarda yaygın fungal hastalık etmenlerine karşı biyoetkinlikleri, (iv) antagonistik ve bitki gelişimini teşvikte (PGP) rol oynayan potansiyel etki mekanizmalarının *in vitro* ve *in vivo* koşullarda belirlenmesi amaçlanmıştır.

Konya ilinin Altınekin, Seydişehir, Ereğli, Karapınar ve Meram ilçelerindeki tohumluk patates depolarında sürveyler gerçekleştirilmiştir. Tipik hastalık belirtileri gösteren yumrulardan yapılan izolasyonlar sonucu farklı hastalık belirtilerin gözlemlendiği 226 adet şüpheli patates yumrusu örneklerinden 147 adet primer, 41 adet sekonder fırsatçı (oportunistik) hastalık etmenlerine ait toplam 188 adet fungal izolat elde edilmiştir. Yapılan morfolojik ve moleküler tanılama çalışmaları sonucunda kuru çürüklük hastalık etmenleri *Fusarium* spp. (96 izolat) %65.3 rastlama sıklığı ile en yaygın türler olarak belirlenmiş olup, bu türleri %8.2 ile *Rhizoctonia solani* (12 izolat), %7.5 ile *Geotrichum candidum* (11 izolat), %6.8 ile *Alternaria alternata* (10 izolat), %4.8 ile *Botrytis cinerea* (7 izolat), %4.1 ile *Colletotrichum coccodes* (6 izolat), %3.4 ile *Macrophomina phaseolina* (5 izolat) takip etmiştir. Çalışmada ayrıca *Rhizopus stolonifer* (%43.9, 18 izolat), *Penicillium* spp. (%31.7, 13 izolat) ve *Aspergillus niger* (%24.4, 10 izolat) gibi sekonder saprofitik fırsatçı türler tanımlanmıştır.

Hastalığın gözlemlendiği depolardaki sağlıklı patates yumrularından 134 adet aday endofit bakteri izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlar arasından temsilen seçilen 47 izolatın MALDI-TOF MS ile tanılaması yapılmış ve yaygın görülen fungal hastalık etmenlerinden *Fusarium sambucinum*, *G. candidum* ve *C. coccodes*'in misel gelişimini engellenme potansiyelleri belirlenmiştir. MALDI-TOF MS analizleri 47 antagonistik bakterinin 11 cinse ait olduğunu göstermiştir. Firmicutes üyeleri, özellikle de *Bacillus* spp., tüm sağlıklı patates yumru dokularında baskın türler olarak belirlenmiştir. Test edilen 47 aday bakteri izolatı arasında 40 izolat en az bir patojene karşı yüksek antagonistik aktivite (>%50 miselyal büyüme inhibisyonu) gösterirken, 35 izolat iki, 31 izolat ise üç fungal patojene karşı antagonistik etkinlik göstermiştir. *Lactobacillus paracasei* FKB9, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20, *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25 ve *Bacillus subtilis* FKB24 hastalık etmenlerine karşı yüksek düzeyde (≥%70) engelleme yapan antagonist bakteri izolatları olarak belirlenmiştir.

Farklı düzeyde antagonistik etkinlik gösteren temsili 21 bakteri izolatının antagonistik (siderofor, amonyak, proteaz ve HCN üretimi) ve bitki gelişimini teşvik eden (IAA ve fosfor çözme) mekanizmaları *in vitro* koşullarda kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* FKB7 ve farklı *Bacillus* spp.'ye ait yüksek antagonistik etkinlik gösteren bakteri izolatların fungal etmenlerin misel gelişiminin engellenmesinde siderofor, proteaz, HCN, amonyak gibi mekanizmalardan bir veya birkaçını kullandığı belirlenmiştir. İzolatlar arasında en yüksek IAA üreten ve fosforu çözen izolatlar *Enterobacter cloacae* FKB14, *Leclercia adecarboxylata* FKB17 ve *P. aeruginosa* FKB7 olarak belirlenmiştir.

F. sambucinum ve *G. candidum* hastalık etmenlerine karşı *in vitro* antagonistik etkinliği yüksek 6 farklı bakteri izolatın "koruyucu" ve "tedavi" edici olmak üzere 2 farklı biyokontrol etkinliği yarı *in vivo* koşullarda belirlenmiştir. *B. amyloliquefaciens* FKB10, *Bacillus cereus* FKB5, *B. amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatlarının "koruyucu" olarak uygulandıkları yumrularda *F. sambucinum* ve *G. candidum* belirtilerinin çıkışı %56.1-70.98 gibi yüksek oranda engellenmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma endofit bakterilerin *in vitro* ve yarı *in vivo* koşullar altında patates depo hastalık etmenlerine karşı antagonistik ve bitki büyümesini teşvik edici etkinlik gösterme potansiyelini ortaya koymuştur. Özellikle, *P. aeruginosa* ve *Bacillus* spp. ait izolatlar, birden fazla faydalı özellikleri nedeniyle patates yumrularında yaygın fungal çürüklük hastalık etmenlerine karşı umut verici "büyümeyi teşvik eden" ve aynı zamanda "biyokontrol etmeni" olarak büyük bir potansiyele sahiptir.

2024, 111 sayfa

Anahtar kelimeler: Antagonist, *Bacillus* spp., Kuru çürüklük, MALDI-TOF, *Solanum tuberosum*

ABSTRACT

IDENTIFICATION and PREVALENCE OF FUNGAL DISEASE AGENTS in POTATO TUBERS STORED in KONYA PROVINCE and THEIR BIOLOGICAL CONTROL with ENDOPHYTE BACTERIA

Potato (*Solanum tuberosum* L.), are highly nutritious and are ranked as the fourth most important vegetable worldwide in terms of production and consumption. The objectives of this study were to (i) determine identification of fungal disease agents and their prevalence in stored potato tubers in the main districts of Konya province, (ii) to isolate and characterize beneficial endophytic bacteria from healthy potato tubers, (iii) to evaluate the bioactivity of endophytic bacterial isolates against prevalent fungal pathogens in storage, and (iv) to investigate potential mechanisms of antagonism and plant growth promoting (PGB) activities under *in vitro* and *in vivo* conditions.

Surveys were carried out in seed potato warehouses located in the districts of Altınekin, Seydişehir, Ereğli, Karapınar and Meram in Konya province. A total of 188 fungal isolates were obtained from a total of 226 suspect tubers showing typical symptoms of the disease. These isolates consisted of 147 primary and 41 secondary opportunistic fungal pathogens. Morphological and molecular identification revealed that the most prevalent dry rot disease agents were *Fusarium* spp. (96 isolates) with a frequency of 65.3%, followed by *Rhizoctonia solani* (12 isolates, 8.2%), *Geotrichum candidum* (11 isolates, 7.5%), *Alternaria alternata* (10 isolates, 6.8%), *Botrytis cinerea* (7 isolates, 4.8%), *Colletotrichum coccodes* (6 isolates, 4.1%), and *Macrophomina phaseolina* (5 isolates, 3.4%), respectively. In addition, secondary saprophytic opportunistic species such as *Rhizopus stolonifer* (43.9%, 18 isolates), *Penicillium* spp. (31.7%, 13 isolates), and *Aspergillus niger* (24.4%, 10 isolates) were also identified.

A total of 134 putative endophyte bacterial isolates were obtained from healthy potato tubers in the warehouses where the disease was observed. Among putative bacterial isolates, 47 representative isolates were identified by MALDI-TOF MS and their potential to inhibit the mycelial growth of the common fungal disease agents *Fusarium sambucinum*, *G. candidum* and *C. coccodes* were determined. MALDI-TOF MS analysis showed that 47 antagonistic bacteria belonged to 11 genera. Members of the Firmicutes, especially *Bacillus* spp., were the dominant species in all healthy potato tuber tissues. Among the 47 candidate bacterial isolates tested, 40 isolates showed higher antagonistic activity (>50% mycelial growth inhibition) against at least one fungal pathogen, while 35 isolates showed antagonistic activity against two and 31 isolates against three fungal pathogens. *Lactobacillus paracasei* FKB9, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20, *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25 and *Bacillus subtilis* FKB24 were determined as antagonist bacterial isolates with highest level ($\geq 70\%$) inhibition against disease agents.

Twenty-one representative bacterial isolates were qualitatively and quantitatively screened for antagonistic (siderophore, ammonia, protease, and HCN production) and PGP mechanisms (IAA and phosphorus solubilization). Bacterial isolates, including *Pseudomonas aeruginosa* FKB7 and various *Bacillus* spp., showed high antagonistic activity, using one or more mechanisms, such as siderophore, protease, HCN, and ammonia production. *Enterobacter cloacae* FKB14, *Leclercia adecarboxylata* FKB17, and *P. aeruginosa* FKB7 were identified as the isolates with the highest IAA production and phosphorus solubilisation.

Six different bacterial isolates with higher *in vitro* antagonistic activity against *F. sambucinum* and *G. candidum*, were evaluated for their “protective” and “therapeutic” biocontrol activities under semi *in vivo* conditions. The use of *B. amyloliquefaciens* FKB10, *Bacillus cereus* FKB5, and *B. amyloliquefaciens plantarum* FKB1 as 'protective' agents on tubers resulted in a significant reduction (56.1-70.98%) in the incidence of symptoms caused by *F. sambucinum* and *G. candidum*.

In conclusion, this study demonstrated the potential of endophytic bacteria to exert antagonistic and plant growth-promoting activities against potato storage disease agents under *in vitro* and semi *in vivo* conditions. In particular, isolates belonging to *P. aeruginosa* and *Bacillus* spp. have great potential as a promising “growth promoting” and “biocontrol agent” against common fungal decay pathogens in potato tubers due to its multiple beneficial traits

2024, 111 pages

Key Words: Antagonist, *Bacillus* spp., Dry rot, MALDI-TOF, *Solanum tuberosum*

TEŞEKKÜR

Mesleki ve akademik hayatımda önemli kararlar almam gerektiğinde sürekli yanımda olan ve varlığı ile benim için önemli bir rol model oluşturan, gerek doktora tez konumunun belirlenmesinde gerek araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmalarına ışık tutan ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Soner SOYLU'ya sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmaların takibinde profesyonel yaklaşımları ve öngörülerini 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.002 nolu proje kapsamında destekleyen HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, 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 değerli katkı ve yardımları nedeniyle Dr.Öğr. Üyesi Merve KARA OĞUZ, Öğ. Gör. Dr. Aysun UYSAL'a ve Arş. Gör. Yusuf GÜMÜŞ'e çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen, güvenen ve daima yanımda olan canım aileme sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	14
2.1. Dünyada Patates Yumrularında Hasat Sonrası/Tarla Koşullarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar	14
2.2. Türkiye’de Patates Yumrularında Hasat Sonrası/Tarla Koşullarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar	17
2.3. Patates Yumrularında Sorun Olan Fungal Hastalık Etmenleri ile Yapılan Biyolojik Mücadele Çalışmaları	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Patates Depolarındaki Yumrularda Sorun Olan Fungal Hastalıkların Yaygınlık Durumunun Belirlenmesi	24
3.2.2. Enfekteli Patates Yumrularından Fungal Hastalık Etmenlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması.....	25
3.2.3. Fungal Hastalık Etmenlerin Morfolojik Tanılanmaları ve Tek Spor İzolatlarının Elde Edilmesi.....	25
3.2.4. Fungal Hastalık Etmenlerin Patojenisite Çalışmaları.....	26
3.2.5. Fungal Hastalık Etmenlerin Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Tanılanmaları	27
3.2.6. Fungal Hastalık Etmenlerin Moleküler Tanılanması.....	28
3.2.7. Aday Endofit Bakterilerin İzolasyonu	31
3.2.8. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Seçimi	32
3.2.9. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Tanılanması	34
3.2.10. Biyolojik Mücadele ve Etki Mekanizmalarının Belirlenmesine Yönelik Çalışmalarda Kullanılan Besi Yerleri ve İçerikleri	35
3.2.11. Endofit Bakteri İzolatlarının Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Antifungal Etkinliklerinin <i>in vitro</i> Koşullarda Belirlenmesi	35
3.2.12. Endofit Bakteri İzolatlarının Antagonistik ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Belirlenmesi	37
3.2.12.1. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Siderofor Oluşturma Potansiyellerinin Belirlenmesi	37
3.2.12.2. Aday Bakteri İzolatlarının Proteaz Enzim Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	38
3.2.12.3. Aday Endofit Bakteri izolatlarının Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi	39
3.2.12.4. Aday Bakteri izolatlarının Hidrojen Siyanür (HCN) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	39

3.2.12.5. Aday Bakteri izolatlarının Amonyak (NH ₃) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	40
3.2.12.6. Aday Bakteri İzolatlarının İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	41
3.2.13. Endofit Bakterilerin Yarı <i>in vivo</i> Hastalık Çıkışının Engellenmesine Üzerine Olan Etkilerinin Belirlenmesi	43
3.2.14. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler	45
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	46
4.1. Hastalık Sörveyi	46
4.2. Hastalık Belirtilerine Sahip Patates Yumrularından Fungal İzolatların Elde Edilmesi	50
4.3. Fungal İzolatların Morfolojik Tanılanmaları ve Tek Spor İzolatlarının Elde Edilmesi	52
4.4. Patojenisite Çalışmaları	59
4.5. Fungal Hastalık Etmenlerin MALDI-TOF MS ile Tanılanması	60
4.6. Fungal Hastalık Etmenlerin Moleküler Tanılanması	62
4.7. Aday Endofit Bakterilerin İzolasyonu	63
4.8. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Seçimi	64
4.9. Endofit Bakteri İzolatlarının Tanısı	65
4.10. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Yaygın Fungal Hastalık Etmenlerine Karşı <i>in vitro</i> Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi	67
4.11. Bakteri İzolatlarının Hastalık Etmenlerini Engellemede Kullandıkları Biyokontrol ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Belirlenmesi	78
4.12. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Hastalık Çıkışı Üzerine Yarı <i>in vivo</i> Etkinliğinin Belirlenmesi	83
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR	95
ÖZGEÇMİŞ	110
EKLER	111

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünyanın farklı ülkelerinde 2022 yılında gerçekleşen patates üretim alanı, verim ve üretim miktarları.....	2
Çizelge 1.2. Türkiye'nin farklı illerinde 2022 yılında gerçekleşen patates üretim alanı, verim ve üretim miktarları.....	2
Çizelge 3.1. Fungal hastalık etmenlerin moleküler tanılama çalışmalarında kullanılan primerler ve gen dizilimleri.....	31
Çizelge 4.1. Konya ilinin farklı ilçelerindeki önemli patates depolarında yapılan sürveyler, hastalıklı yumru bulunma oranı, alınan örnek sayısı ve elde edilen izolat sayısı.....	48
Çizelge 4.2. Hastalıklı patates yumrularından izole edilen fungal etmenlerin BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analizlerle belirlenen moleküler tanı sonuçları	63
Çizelge 4.3. Farklı patates depolarındaki sağlıklı patates yumrularından izole edilen endofit bakteri izolatların tanılanma sonuçları ve genel özellikleri	65
Çizelge 4.4. Aday antagonist endofit bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde yaygın fungal hastalık etmenlerin misel gelişimi (mm) üzerine antagonistik etkinlikleri	68
Çizelge 4.5. Aday antagonist endofit bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde yaygın fungal hastalık etmenlerin misel gelişiminin engellenmesi (%) üzerine antagonistik etkinlikleri.....	70
Çizelge 4.6. Antagonist bakteri izolatların misel gelişiminin engellenmesinde rol oynayan olası antagonistik etki mekanizmaları ^a	79
Çizelge 4.7. Çeşitli endofit antagonist bakteri izolatların bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası mekanizmaları ^a	81

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 3.1 Farklı depolardaki patateslerden elde edilen saf/tek spor fungal izolatların patojenisite testleri. (A) Sağlıklı patateslerin saklama kaplarına yerleştirildikten sonra (B) açılan yaralara misel diskler yerleştirilmiş ve (C) inokulasyondan 10 gün sonra gelişen tipik simpromlar kontrol edilmiştir. (D) Hastalık belirtisi gösteren yumrulardan etmen tekrar izole edilmiştir 27
- Şekil 3.2. Fungal etmenlerin genomik DNA'larının izolasyonu, ITS1-4 primerleri ile PCR'da çoğaltılması ve çoğaltılmış genetik materyalin elektroforez üzerinde bandların genel görünümüleri 30
- Şekil 3.3. (A) Sağlıklı patates yumrularının iç dokularından gelişen farklı morfolojilere sahip endofit izolatlar (B) ve bu izolatlardan elde edilen tek koloni kültürleri (C).....32
- Şekil 3.4. Elde edilen tüm endofit aday bakteri izolatlarla yapılan (A) tütün bitkilerinde aşırı duyarlılık (HR) ve (B-C) patates yumuşak çürüklük testleri. Tütün yaprağında ve patates dilimleri üzerinde inokulasyon noktalarında bitki patojeni olarak değerlendirilen izolatların tipik hastalık belirtileri (ok). Belirti oluşturmeyen (*) izolatlar aday endofit bakteriler olarak kullanılmıştır.....33
- Şekil 3.5. Endofit bakteri izolatları ile fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimi üzerine antagonistik etkinliklerinin belirlenmesi için yapılan *in vitro* ikili kültür testleri 36
- Şekil 3.6. Endofit bakteri izolatlarının *in vitro* ikili kültür testleri ile fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimi üzerine antagonistik etkinliklerinin belirlenmesi 36
- Şekil 3.7. Antagonist bakteri izolatlarının (A) siderofor, (B) proteaz ve (C) fosfor çözme potansiyellerinin özel besi yerlerinde belirlenmesi. Etkinlik gösteren izolatların etrafında oluşturulan temizleme bölgeleri (clear zone) (ok) olarak gözlenmiştir. Etkinlik göstermeyen izolatların etrafında herhangi bir engellenme bölgesi oluşmamıştır (*) 37
- Şekil 3.8. Antagonist bakterilerin glycine ihtiva eden TSA besi yerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri. Bakteri izolatu tarafından artan şiddette üretilen HCN sonucu petri kapağındaki filtre kâğıdı kırmızı-turuncu renge (ok) dönüşmüştür 40
- Şekil 3.9. Antagonist bakteri izolatlarının peptonlu su içeren besi yerinde amonyak (NH₃) üretme kapasitelerinin belirlenmesi. K₁:bakterisiz besi yeri, K₂: amonyak üretimin olmadığı bitki patojeni bakteri izolatu içeren besi yerlerinde görülen renk değişimleri.....41
- Şekil 3.10. Antagonist bakterilerin tryptophane içeren LB besi yerinde IAA üretimi. (A) Saf IAA spektrumu, (B) Antagonist bakteri izolatu tarafından üretilen IAA spektrumu, (C) Farklı konsantrasyonlardan oluşan ve IAA miktarının belirlenmesinde faydalanılan IAA standartlarının renk değişimi (sarı renkten koyu kırmızı-pembe) 42
- Şekil 3.11. *In vitro* antagonistik etki gösteren bakteri izolatları arasından yüksek etkili olan izolatlar ile yapılan yarı *in vivo* biyokontrol etki çalışmaları. (A) Sağlıklı yüzey dezenfeksiyonu yapılmış yumrular, (B) Saklama kaplarına yerleştirilip bakteri izolatlarının uygulanması, (C) Fungal hastalık etmenlerin bakteri uygulaması yapılan yerlere inokulasyonu, (D-E) Uygulama yapıldıktan sonra

	yetiştirme odalarında inkübasyona bırakılmıştır. (F) Uygulama yapıldıktan 15 gün sonra yumrular üzerinde gelişen lezyonların değerlendirilmesi.	44
Şekil 4.1.	Konya ilinde farklı patates depolama ve taşıyıcı sistem tipleri. (A) Modern Depolar, (B) Volkanik Kaya Depolar, (C ve D) Depolarda patates ayıklama ve taşıyıcı sistemleri	47
Şekil 4.2.	Konya ilinin farklı ilçelerindeki patates depolarında yapılan sörveylerde enfekteli patates yumruların yüzeylerinde ve iç dokularında tespit edilen tipik hastalık belirtileri.....	49
Şekil 4.3.	Tipik hastalık belirtisi gösteren yumru örneklerinden (A-D) gelişen hastalık etmenlerine ait karışık (E-G) ve saf fungus kültürleri (H-I)	51
Şekil 4.4.	Hastalıklı bitki örneklerinden elde edilen primer hastalık etmenlerin tek spor izolatlarına ait fungus kültürleri. (A) <i>F. sambucinum</i> , (B) <i>F. acuminatum</i> , (C) <i>F. oxysporum</i> , (D) <i>R. solani</i> , (E) <i>C. coccodes</i> , (F) <i>G. candidum</i> , (G) <i>M. phaseolina</i> , (H) <i>B. cinerea</i> , (I) <i>A. alternata</i>	52
Şekil 4.5.	Petrilerde gelişen (A-D) <i>Fusarium</i> spp., (E) <i>G. candidum</i> , (F-G) <i>C. coccodes</i> , (H) <i>M. phaseolina</i> , (I) <i>A. alternata</i> gibi bazı türlere spesifik fungal yapılar. (A-C) makro, mikro konidi, (D) klamidospor, (E) arthrokoni, (F) setalı acervulus, (G) konidi, (H) sklerot, (I) bölmeli konidi.....	53
Şekil 4.6.	Farklı fungal hastalık etmenlerinin sağlıklı yumrular üzerinde yapılan patojenisite testleri. A-D Kontrol yumrularındaki belirtilerle hastalık belirtilerinin karşılaştırılması. Patates yumrularında açılan inokulum yerlerinde (E) <i>G. candidum</i> , (F) <i>C. coccodes</i> ve (G) <i>F. sambucinum</i> fungal etmenlerince oluşturulan tipik belirtiler (ok)	60
Şekil 4.7.	Hastalıklı bitkilerden elde edilen <i>G. candidum</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>A. alternata</i> ve <i>A. niger</i> türlerine ait izolatların MALDI-TOF tanı sonucu.....	61
Şekil 4.8.	Sağlıklı yumrulardan izole edilmiş aday endofit antagonist bakteri izolatları.....	64
Şekil 4.9.	Sağlıklı yumrulardan izole edilmiş endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde (A) <i>F. sambucinum</i> , (B) <i>G. candidum</i> ve (C) <i>C. coccodes</i> hastalık etmenlerinin misel gelişimini engelleme potansiyelleri.....	72
Şekil 4.10.	Endofit bakterilerin yarı <i>in vivo</i> koşullarda <i>F. sambucinum</i> tarafından neden olunan lezyon gelişiminin engellenmesi üzerine olan etkinliklerinin belirlenmesi (A) Farklı bakteri uygulamaları, (B) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10 ve (C) <i>Bacillus cereus</i> FKB5 izolatların etkinliği. (D ve E) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10 uygulanmış patates yumrusu üzerindeki lezyon belirtilerinin (ok) engellenmesi	84
Şekil 4.11.	Endofit bakterilerin yarı <i>in vivo</i> koşullarda <i>G. candidum</i> tarafından neden olunan lezyon gelişiminin engellenmesi üzerine olan etkinliklerinin belirlenmesi (A) <i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1, (B) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10 (C) <i>Bacillus cereus</i> FKB5 izolatların etkinliği. (D) <i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36 uygulanmış patates yumrusu üzerindeki lezyon belirtilerinin engellenmesi.....	86

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Celsius (derece)
ha	: hektar
nm	: nanometre
cm	: santimetre
mm	: milimetre
mM	: milimolar
gr	: gram
mg	: miligram
µg	: mikrogram
ml	: mililitre
µl	: mikrolitre
ppm	: part per million (milyon birimde bir birim)
rpm	: rotation per minute (dakikadaki dönme sayısı)
kDa	: kilo Dalton

KISALTMALAR

BABA	: β -aminobutyricacid
BCA	: B iological C ontrol A gent (Biyolojik Kontrol Etmeni)
BLAST	: B asic L ocal A lignment S earch T ool
CAS	: C hrom A zurol- S A gar - Besi yeri
CLA	: C arnation L eaf- P iece A gar - Karanfil Yaprak Parçası Agar
DAPG	: 2,4- d iacetylphloroglucinol
DNA	: D eoksiribo N ükleik A sit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (F ood and A griculture O rganisation of The United Nations)
HCCA	: α -Cyano-4-hydroxycinnamic asid
HCN	: H ydrogen C yanide (Hidrojen Siyanür)
HMKÜ	: Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
HR	: H ypersensitive T est (Tütün aşırı duyarlılık testi)
IAA	: I ndol A setik A sit
ITS	: I nternal T ranscribed S pacer gen bölgesi
KB	: K ing's B A gar - Besi yeri
LB	: L uria B ertani A gar - Besi yeri
MALDI-TOF MS	: M atriks A ssisted L aser D esorption I onization T ime o f F light M ass S pectrometry
MgCl₂	: Magnezyum Klorür
MGI	: M ycelial G rowth I nhibition (Misel Gelişimin Engellenmesi)
MGk	: Kontrol petrideki Misel Gelişimi (M ycelial G rowth)
MGu	: Bakteri Uygulanmış petrideki Misel Gelişimi (M ycelial G rowth)
NA	: N utrient A gar - Besi yeri
Na₂CO₃	: Sodium Carbonate

NaOCL	: Sodium Hypochlorite
NH₃	: Amonyak
PCR	: Polimeraz Chain Reaction
PDA	: Patates Dekstroz Agar - Besi yeri
PDB	: Potato Dextrose Broth - Besi Yeri
PGPB	: Plant Growth Promoting Bacteria (Bitki Gelişimini Teşvik eden Bakteri)
PGPR	: Plant Growth Promoting Rhizobacteria
PVK	: Pikovskaya Agar - Besi yeri
SMLBA	: Skimmed Milked Luria Broth Agar - Besi yeri
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TSA	: Trypic Soybean Agar - Besi Yeri
TSA	: Trypic Soybean Agar – Besi yeri
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole
WA	: Water Agar – Besi yeri

1. GİRİŞ

Patates (*Solanum tuberosum* L.), buğday, çeltik ve mısırdan sonra dünyanın en önemli dördüncü tarımsal ürünüdür (Zhang ve ark., 2017). Patates, hızla yükselen dünya nüfusunun artan talebini karşılama potansiyeline sahip, açlık sorununa çözüm sağlayabilecek, insan beslenmesinde önemli bir yeri olan ve dünyanın her yerinde yetişen en önemli tarımsal ürünlerden biridir (Devaux ve ark., 2021). Patates, karbonhidratlar, proteinler, çeşitli vitaminler ve mineraller (örneğin potasyum, kalsiyum, magnezyum, çinko, demir ve fosfor) açısından oldukça zengindir (Camire ve ark., 2009). Patates, Avrupa'ya Güney Amerika'nın And dağlarından girmiş olup, ülkemize 150 yıl kadar önce Rusya üzerinden Kafkaslar'dan doğu illerimize, 100 yıl kadar önce Avrupa üzerinden batı illerimize girmiştir (Anonim, 2022). Modernleşen dünya nüfusu her geçen yıl artmakta olup, temel besin maddesi olarak patatesin şehirlerde farklı alanlarda kullanım şekilleri yaygınlaşmaktadır. Patates, mutfaklarda yemeklik olarak ve farklı şekillerde sanayilik amaçlı işlenerek insan beslenmesinde tüketilmektedir. İnsan beslenmesinde gerekli olan aminoasitler (lysine), enerji, karbonhidrat ve protein ihtiyaçlarını aynı anda karşılayabilen patates, herkesin alabileceği fiyatta, çok kolay bulunabilen bir bitkidir (FAO, 2022).

FAO'nun 2022 istatistik verilerine göre, 17.788.408 ha alanda patates ekimi yapılmış ve 21.07 ton/ha ortalama verim ile toplam 374.777.763 ton patates üretilmiştir. Ülkeler arasında Çin 95.570.055 ton (%25.5) patates üretimi ile dünyada en fazla üretim miktarına sahip olan ülkedir. Çin'i sırasıyla 56.176.000 ton ile Hindistan (%14.99), 20.889.210 ton ile Ukrayna (%5.57), 18.887.678 ton ile Rusya Federasyonu (%5.04) ve 17.791.840 ton ile Amerika Birleşik Devletleri (%4.75) takip etmiştir. Dünya genelinde 2022 yılında gerçekleşen patates üretiminin 5.200.000 tonu (%1.38) 37.39 ton/ha verim ortalaması ve 139.072 ha ekiliş alanı ile Türkiye tarafından karşılanmıştır (Çizelge 1.1).

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2022 yılı bitkisel üretim istatistiklerinin verilerine göre birinci sırada 679.653 ton (%13.07) ile Niğde, ikinci sırada 607.539 ton (%11.68) ile Afyonkarahisar ve üçüncü sırada 518.677 ton (%9.97) ile Konya yer almaktadır (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.1. Dünyanın farklı ülkelerinde 2022 yılında gerçekleşen patates üretim alanı, verim ve üretim miktarları

Ülke	Hasat Edilen Alan (ha)	Verim (ton/ha)	Üretim (ton)	Üretim Oranı %
Çin	5.726.096	16.70	95.570.055	25.50
Hindistan	2.226.000	25.24	56.176.000	14.99
Ukrayna	1.204.300	17.35	20.889.210	5.57
Rusya Federasyonu	1.086.482	17.38	18.887.678	5.04
ABD	362.440	49.09	17.791.840	4.75
Türkiye	139.072	37.39	5.200.000	1.38
Diğerleri	7.044.018	23.04	165.462.980	42.77
Toplam	17.788.408	21.07	374.777.763	100.00

Kaynak: FAO (2022)

Çizelge 1.2. Türkiye'nin farklı illerinde 2022 yılında gerçekleşen patates üretim alanı, verim ve üretim miktarları

Şehir	Ekim Alanı (ha)	Verim (ton/ha)	Üretim (ton)	Üretim oranı (%)
Niğde	17.630	38.55	679.653	13.07
Afyonkarahisar	14.997	40.51	607.539	11.68
Konya	12.049	43.05	518.677	9.97
Kayseri	11.206	43.73	490.072	9.42
İzmir	11.173	39.07	436.530	8.39
Sivas	8.649	38.67	334.435	6.43
Nevşehir	7.108	39.42	280.162	5.39
Aksaray	6.959	42.38	294.829	5.67
Adana	5.656	35.60	201.362	3.87
Bitlis	5.168	49.61	256.366	4.93
Diğerleri	38.578	28.52	1.100.375	21.16
Toplam	139.172	37.36	5.200.000	100.00

Kaynak: TÜİK (2022)

Patates, Türkiye'de üretici ve tüketici fiyatları açısından en fazla değişkenlik gösteren ürünlerden biridir. Türkiye'de patates üreticileri bir önceki yılın patates perakende satış fiyatları, üretim girdileri ve ülkenin patates tüketimine göre patates üretimini şekillendirmektedir. Bir önceki yıl patates fiyatları ve patates tüketimi arttığında çiftçiler daha fazla patates yetiştirirken, bir önceki yılda girdi fiyatlarının artışı sonucunda birim alanda patates üretiminde azalmaya neden olmaktadır (Kadakoğlu ve Karlı, 2021).

Hasat edilen patates yumruları hemen satılmayacaksa bir süre saklanmaları veya depolanmaları gerekmektedir. Depolama bittiğinde patates yumrularında oluşabilecek depo kayıplarını minimum seviyede tutmak için yumrularının yapısında herhangi bir bozulma olmamalıdır. Patateslerin üretim amacına göre depoların niteliği, depo mimarisi ve işletme tekniği düzenlenir. Patatesler modern depolar, volkanik kaya depolar, mahzen veya kilerler ile toprak silolarda saklanmaktadır. Patateslerin depolama sıcaklıkları yemeklik patateste 5-7°C, parmak patateste 6-8°C, tohumluk patateste 3-4°C ve cipslik patateste 8-10°C civarında olmalıdır. Patates yumrularının su kaybını en aza indirebilmek ve fungal ve/veya bakteriyel hastalıklarının etkisi ile çürüklük oluşmasını önlemek için depo nemi %80-85 olacak şekilde ayarlanması gerekmektedir. Bu yüzden depo içerisi devamlı kontrol edilerek rutubet ve depo sıcaklığı ayarlanmalıdır. Modern patates depolarında mekanik veya suni soğutma sistemi ile daha düşük sıcaklık sağlanmaktadır. Yumru kabuklarında zehirli bir glikozid olan solanin oluşumunu önleyebilmek için depoların karanlık olması sağlanmalıdır (Anonim, 2022).

Hasat edilen patates yumruları ülkemizde 4 farklı şekilde muhafaza edilir. **Mahzen veya Kilerler:** Çok eski bir depolama yöntemidir. Mahzen ve kilerler havalanabilir, temiz, rutubetsiz, serin, dışarıdan ışık almayan özellikte olmalıdır. Depo sıcaklığı mekanik veya suni olarak ayarlanamadığı için %20'den fazla yumru kaybı meydana gelmektedir. Mahzen ve kilerlerde patates yumruları sürekli kontrol edilerek çürüyen yumrular belirlenip atılmalıdır. **Toprak Silolar:** Türkiye'de bazı yerlerde kullanılmakta olup eski bir depolama yöntemidir. Depo nemi ve sıcaklığı istenildiği gibi ayarlanamadığı için %9-17 dolaylarında yumru kaybı meydana gelmektedir. **Volkanik Kaya Depolar:** Yaygın olarak Niğde ve Nevşehir bölgesinde bu tarz depolarda dökme olarak patatesler depolanmaktadır. Depo sıcaklığı sabit bir şekilde 6°C'de ve depo rutubeti ise %90 civarlarında olmaktadır. Doğal veya sonradan yapılan bu tarz depolarda kapı, havalandırma vs. gibi hususlarda yapılacak düzenlemelerle patates yumruları çürüme

olmadan ve gözler sürmeden uzunca bir süre saklanabilmektedirler. Böylece depo kayıpları yok denecek kadar az olmaktadır. **Modern Depolar:** Depo şartları, suni olarak kontrol edilebilmekte ve patates yumrularının kullanma amaçlarına göre ayarlanabilmektedir. Böylece patates yumrusunda ağırlık ve kalite kaybı en az düzeye inmektedir (Anonim, 2022).

Konya ilinde patates üretimi tohumluk, yemeklik ve sanayilik olarak yapılmakta olup hasat sonrası genelde modern ve volkanik kaya depolarda muhafaza edilmektedir.

Patates üretiminde bitki hastalıkları bakımından ekiliş alanlarını ve verimini sınırlayan unsurların başında fungal ve bakteriyel hastalıklar gelmektedir. Patateste hasat sonrası depolama yetiştiricilikten çok daha büyük riskler taşımaktadır. Bu risklerden özellikle tohumluk yumru ve toprak kökenli bakteriyel ve fungal patojenler patates bitkisinin her döneminde ortaya çıkarak verim ve kalite üzerine olumsuz etki yapmaktadırlar (Fiers ve ark., 2012). Patates, toprak ve tohumluk yumru kaynaklı inokulumları tarladaki bitkileri etkileyebilen çeşitli fungal ve oomiset patojenlerine eğilimli olup, genelde ürün kayıpları depolama sırasında ortaya çıkmak suretiyle önemli ekonomik kayıplara neden olur (Daami-Remadi ve ark., 2006a; Triki ve ark., 2001).

Patates yumrularının %70'ten fazla su içeriğine sahip olması, depolama sırasında yumruları çürüklük belirtilerine neden olan çeşitli fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı savunmasız hale getirir (Tiwari, 2020). Depolanmış patates yumrularında en fazla sıklıkla karşılaşılan patojenler genelde toprak kaynaklı fungal ve bakteriyel patojenlerdir. Söz konusu bu patojenler sadece ülkemizde yetiştirilen patates yumrularında değil, patates tarımının yapıldığı tüm ülkelerde mücadelesi en zor olan hastalık grubudur (Figueiredo ve ark., 2009). Toprak kökenli bu tür hastalık etmenlerinin sıklıkla görülmesinin en önemli sebebi arazide sürekli aynı tür veya yakın akraba türlerine ait ürünlerin yetiştirilmesinden kaynaklanmaktadır. Toprak kökenli hastalık etmenleri toprakta, bitki/hasat artıklarında ve kök dokularında yıllarca canlılığını sürdürebilme kabiliyeti olan mikroorganizmalardır. Özellikle fungal kökenli hastalık etmenleri olumsuz iklim koşullarına ve streslere dayanıklı sklerot, klamidospore ve benzeri eşeyli/eşeysiz yapılar üretmeleri sebebiyle bu tür toprak kökenli bitki hastalıkları ile mücadele etmek oldukça güçtür (Pal ve Gardener, 2006).

Hem ülkemizde hem de dünyanın önde gelen patates üreticisi ülkelerinde depolanan patates yumrularında en fazla sıklıkla görülen 1) **kuru çürüklük**, 2) **yarı kuru**

çürüklük, 3) yumuşak ve yaş çürüklük olarak adlandırılan farklı fungal veya bakteriyel hastalık etmenler tarafından neden olunan hastalıklardır. Patates yumrularında ortaya çıkan “çürüklük” belirtisinin hangi hastalık etmen(ler)inden kaynaklandığını belirlemek için laboratuvarında izolasyon ve tanılama çalışmalarının yapılması gereklidir (Borca ve Puia, 2013).

Patates yumruları üzerinde oluşturan “kuru çürüklük” hastalığı; gerek ülkemizde, gerekse dünyanın önde gelen patates üreticisi ülkelerinde hasat sonrası depolanan tohumluk ve yemeklik patates yumrularında en yaygın olarak görülen, ekonomik olarak çok önemli kayıplara neden olan hastalıkların başında gelir. Patates yumrularında kuru çürüklük hastalığına genelde toprak kökenli *Fusarium* spp. neden olmaktadır (Fiers ve ark., 2012). Bugüne kadar yapılan sörvey ve tanılama çalışmalarında, küresel olarak patatesten “kuru çürüklüğe” neden olan ve tanınan *Fusarium* cinsine ait 17 tür ve 5 alt tür bildirilmiştir (Tiwari ve ark., 2020; Xue ve ark., 2023). *Fusarium sambucinum* Fucke (Syn. *Giberella pulicaris* (Fr.) Sacc.) dünyada depolanmış patates yumrularında kuru çürüklük hastalığına neden olan en yaygın tür olmakla birlikte *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. solani*, *F. solani* var. *coeruleum*, *F. sulphureum*, *F. solani* var. *coeruleum*, *F. avenaceum* ve *F. sulphureum* gibi *Fusarium*’un diğer türlerinde benzer hastalıklara neden olduğu bildirilmiştir (Okungbowa ve Shittu, 2012). *Fusarium*’un çeşitli türlerinin (özellikle *F. solani* var. *coeruleum* ve *F. sambucinum*) neden olduğu hastalık belirtileri depolarda ortaya çıkar. Kuru çürüklük hastalığı hem depodaki yumruları hem de tarladaki tohumluk yumru kısımlarını ekonomik olarak etkiler (Wharton ve ark., 2007b). Hastalık öncelikle yumrulara koyu ve çökük yüzeysel lekeler şeklinde başlar. Yumru etinde ise açık kahverengiden siyaha kadar değişen renklerde nekrotik alanlar görülür. Çürüklük ilerlediğinde yumruların iç kısımlarında boşluklar oluşur ve yumru yüzeyi kırışır. Çürümüş alanın altındaki boşluklar genellikle *Fusarium* miselleri ve çeşitli renkteki sporlarla kaplıdır (Stevenson ve ark., 2001).

Kuru çürüklük hastalığına sebep olan *Fusarium* spp. yalnızca yumru verimini ve kalitesini önemli ölçüde etkilemekle kalmaz, aynı zamanda mikotoksikoza sebep olan *richothecene*, *fusaric acid*, *fumonisin*, *beauvericin*, *zearalenone*, *diacetoxyscirpenol* ve *sambutoxin* gibi çeşitli mikotoksinler üretebildikleri için gıda güvenliğini de tehlikeye sokar (Liu ve ark., 2022). *Fusarium* türleri için ana bulaşma kaynağı tohumluk yumru olsa da topraktan da bulaşma olduğu kabul edilir. *Fusarium* patojenleri, lentisellerden

veya patates kabuğunun zarar görmesi sonucunda açılan yaralardan enfeksiyona neden olurlar. *Fusarium* türlerinin neden olduğu yumru enfeksiyonu ekim, hasat veya taşıma sırasında oluşan yaralardan meydana gelir. *Fusarium* türleri patates bitkisinin kök ve yumrularından enfeksiyonları genel olarak makrokonidi, misel ya da klamidiosporlar ile başlatır. *Fusarium* türlerine bağlı olarak bol miktarda beyaz, sarı veya karmin rengine miselyum içeren kuru ve ufalanan bir çürümeye neden olur. Kuru çürüme kaynaklı yumru kayıplarının %6 ila %25 arasında olduğu düşünülmekte ve uzun süreli depolamada zaman zaman %60'a varan kayıplar rapor edilmiştir (Tiwari ve ark., 2020). Depolanmış patates yumrularında kuru çürüklük hastalığı genelde %50-80 bağıl nem ve 15 - 28°C ortam sıcaklığında en hızlı şekilde gelişir. Düşük sıcaklık ve nem, enfeksiyon ve hastalık gelişimini geciktirir (Wharton ve ark., 2007a,b).

Depolanmış patates yumrularında *Fusarium* spp. tarafından neden olunan kuru çürüklük hastalığının yanı sıra, *Phytophthora infestans* tarafından neden olunan geç yanıklık, *P. erythrocephala* tarafından neden olunan pembe çürüklük, *Pythium ultimum* tarafından neden olunan Pythium sızıntısı, *Helminthosporium solani* tarafından neden olunan gümüş kabuğu, *Macrophomina phaseolina* tarafından neden olunan kömür çürüklüğü, *Colletotrichum coccodes* tarafından neden olunan siyah benek hastalığı ve *Geotrichum candidum* (Syn. *Galactomyces candidum*) tarafından neden olunan lastik çürüklüğü hasat sonrası yumrularda ekonomik kayıplara neden olan diğer önemli hastalık etmenleridir (Hooker, 1981; Tsrör ve ark., 1999).

Fungal etmenlerin yanı sıra bakteriyel “yumuşak çürüklük ve “karabacak” hastalığına neden olan *Pectobacterium atrosepticum* (= *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (= *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*), *Pectobacterium parmentieri*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense*, *Dickeya chrysanthemi* (= *Erwinia chrysanthemi*, *Pectobacterium chrysanthemi*) gibi bakteriyel etmenler hasat sonrasında yumrularda ciddi kalite ve verim kayıplarına neden olurlar (Koike ve ark., 2006; Oztürk ve ark., 2018). Bu türlere ait patojenler fungal hastalıklarla birlikte veya teksel olarak ortaya çıkarak yumrularda %100'e varan kayıplara neden olabilir (Rupp ve Jacobsen, 2017; Oztürk ve ark., 2018).

Yumrularda görülen kuru veya yaş çürüklük hastalıklarının enfeksiyonu çoğu kez tarla koşullarında meydana gelir ve bitkilerin yumru ve yaprak kısımlarında farklı tipte belirtiler gösterir. Bu patojenler hem toprak hem de yumru kaynaklıdır. Dolayısıyla

hastalıkların ortaya çıkışı hem tarlada hem de depolama sırasında olmaktadır. Bu nedenle hasat öncesi hastalık yönetimi uygulamaları, depolama ve taşıma sırasındaki hastalıkların kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır. Başta *Fusarium* türleri olmak üzere farklı fungal hastalık etmenleri tarafından neden olunan kuru çürüklük hastalığının mücadelesinde “thiabendazole” grubu fungusitler (thiabendazole, 2-aminobutane, flusilazole, vb.) yaygın olarak kullanılırken (Secor ve Gudmestad, 1999; Ren ve ark., 2021; Mecteau ve ark., 2002), bu fungusitlerin yüksek dozda, yanlış zamanlarda ve gereksiz sıklıkta kullanılması sonucunda çevre kirliliği, bitkide kalıntı sorunu, fungusitlere dirençli türler/izolatlar/ırklar ortaya çıkması sonucunda etkinliklerinde önemli düşüşler kayıt edilmiştir (Holley ve Kawchuk, 1996; Platt, 1997; Pal ve ark., 2006; Walkowiak ve Krzyśko-Łupicka, 2014). Fungusitlere karşı dayanıklılığın gelişmesi ile depolanan patates yumrularında ilaçlama yapılmasına rağmen kuru çürüklüğün görülme sıklığında ve şiddetinde artışların olduğu yapılan çalışmalarda kaydedilmiştir (Secor ve Gudmestad, 1999).

Patates kuru çürüklük hastalığının şiddetini azaltmak için kültürel uygulamalar, uygun depolama koşulları, tohumluk yumrulara sentetik kimyasal fungusit ve/veya hasat sonrası diğer tedavileri içeren entegre hastalık yönetim programının kullanılması tavsiye edilmektedir. Son yıllarda bu durumu göz önünde bulunduran bilim insanları, kimyasal pestisitlere alternatif yeni ve daha güvenli bitki koruma yöntemlerinin arayışı içine girmişlerdir. Yapılan güncel araştırmalar, doğal antifungal etkinliğe sahip kimyasal bileşiklerin ve mikrobiyal kökenli antagonist fungal ve bakteriyel etmenlerin kuru çürüklük hastalığının yönetim stratejilerine entegre edilebileceğini göstermiştir (Bojanowski ve ark., 2013). Tohum, yumru ve toprak kökenli fungal ve bakteriyel etmenlere karşı kimyasal mücadele yöntemlerine alternatif olarak başta mikrobiyal türleri içeren biyolojik mücadele preparatları olmak üzere, bitki uçucu yağ ve ekstraktları, yosun özütleri, kimyasal doğal tuzlar, nanopestisitler, abiyotik ve biyotik kökenli uyarıcılar (salisilik asit, BABA, vb.) ve dezenfektanların kullanımı, sıcak su, UV radyasyon, mikrodalga gibi fiziksel uygulamalar başlıca mücadele şekilleridir. Bu tür uygulamalar aynı zamanda patates yumru çürüklüğünü kontrol etmeye yönelik çevre dostu teknolojiler olarak geliştirilmişlerdir (Ammar ve ark., 2017; Adetunhi ve Ugbenyen, 2019; Mejdoub-Trabelsi ve ark., 2020a; Tiwari ve ark., 2020).

Biyolojik mücadele, sağlıklı bitkilerin üzerinde, içinde ve çevresinde doğal olarak bulunan, bitkilerde hastalığa neden olmayan bazı mikrobiomların (fungal, bakteriyel ve viral mikroorganizmalar için genel bir terim) çeşitli formülasyonları ve uygulama biçimleri ile hastalıkların neden olduğu zararı en aza indirmede kimyasallara alternatif önemli bir strateji olarak tanımlanmıştır (Tjamos ve ark., 2010; Wang ve ark., 2010; Nega, 2014). Son yıllarda “biyolojik mücadele”nin kullanıldığı tarımsal faaliyetlerde bitki hastalıkları ile mücadelede zirai ilaçların kullanımı azaltmak, pestisitlerin çevreye muhtemel yan etkilerinin en az seviyeye düşürmek amacıyla büyük ilgi gördüğü bilinmektedir (Soylu ve ark., 2005; Guo ve ark., 2011; Huang ve ark., 2015; Soylu ve ark., 2016; Li ve ark., 2022). Biyolojik mücadelenin odak noktası “farklı mikroorganizmaların” veya bunların “metabolizma ürünlerinin” bitki patojeni türlere karşı antagonistik (engelleyici) etkisinin kullanılmasıdır (Krzyśko-Łupicka, 2010). Mikrobiyal kökenli bitki koruma ürünlerinin hastalıklarla mücadelede kullanılması, bu ürünlerin kültür bitkilerin üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı da önemlidir. Bu tür preparatlarda bulunan mikroorganizmaların üretmiş oldukları farklı kimyasal metabolitlerin katkısıyla bitkilerin topraktan ve havadan faydalı besin maddelerini almalarını kolaylaştırır, bitkilerin ve diğer faydalı toprak mikroorganizmaların büyümesini teşvik edebilir (Krupa ve ark., 2014). Tarımda kullanılan biyofungisitler sınırlı sayıda olmasına rağmen, son birkaç yılda tarımda sentetik pestisitlere alternatif olarak bu ürünlere olan talep ciddi şekilde artış göstermiştir. Biyofungisitlerin bitki koruma alanında tercih edilmesi ve yaygın kullanımı, tüketime hazır tarımsal ürünlerin kimyasal kalıntılardan arı veya düşük değerinde üretilmesini mümkün kılacaktır. Bu durum fungusit kullanımı açısından daha doğal, sağlıklı ve güvenli gıdaların tüketilmesine katkı sağlayacaktır (Akram ve Anjum, 2011; de Souza ve ark., 2018; Abbey ve ark., 2019; Bazioli ve ark. 2019).

Biyolojik mücadele için kullanılan ticari ürünlerin kimyasal pestisit piyasasındaki payı yaklaşık %1 olmasına rağmen (Fravel, 2005), biyolojik mücadele alanındaki araştırmalar son 30 yılda umut verici bir şekilde artmıştır (Nicot ve ark., 2011). Pestisitlerin ve biyolojik etmenlerin maliyetlerini karşılaştıran çalışmalarda, kimyasal pestisitlerin üretim maliyetlerinin mikrobiyal biyokontrol etmenlerin yaklaşık iki katı olduğu bildirilmiştir (Blum ve ark., 2011).

Son yıllarda, bitkilerde kimyasal mücadeleye alternatifleri araştıran çalışmalar, epifit ve endofit fungal türlerinin çeşitli hastalık etmenlerine karşı izolasyonu, tanımlanması ve antagonistik aktivitesi üzerine odaklanmıştır. Bakteriler, antagonist mikroorganizmaların ikinci en büyük grubudur ve *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pantoea agglomerans* türlerle temsil edilir. Yapılan çalışmalarda ayrıca *Coniothyrium minitans*, *Ampelomyces quisqualis* ve *Trichoderma* spp. gibi farklı fungal izolatların hastalıklara karşı antagonistik etkinlik sergilediği bildirilmiştir (Ippolito ve Nigro 2000; Grzegorzcyk ve ark., 2015).

Bitkide bulundukları yere göre biyolojik mücadelede kullanılan faydalı bakteriyel türler (mikrobiomlar) “epifit” ve “endofit” olarak iki şekilde isimlendirilirler (Hallmann ve ark., 1998). Epifit bakteriler, genellikle kök bölgesine yakın topraklarda, yüzey dezenfeksiyonu yapılmamış bitki dokularının “dış kısmında” yaşayan, konukçusu olduğu bitkiye hiçbir şekilde zarar vermeyen faydalı bakteriler diye tanımlanır (Soylu ve ark., 2016). Epifit bakteriler bitkilerin toprak ve kök bölgeleri dışında, gövde, yumru, meyve, yaprak, çiçek ve tohum gibi değişik kısımlarının yüzeylerinden izole edilmektedir (Akram ve Anjum, 2011). Endofit bakteriler, genellikle yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularının “iç kısmında” yaşayan, konukçusu olduğu bitkiye herhangi bir şekilde zarar vermeyen faydalı bakteriler olarak tanımlanır (Soylu ve ark., 2016). Endofit bakteriler, bitkilerin gövde, kök, meyve, yaprak, çiçek ve tohum gibi farklı bölümlerden izole edilmektedir (Akram ve Anjum, 2011).

Epifit ve endofit bakteriler genel olarak “bitki büyümesini destekleyen bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB)” ve “biyolojik kontrol etmeni (Biological Control Agent, BCA)” bakteriler olarak 2 grup altında ele almıştır (Förnkrantz ve ark., 2009). Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler (PGPB) üretmiş oldukları bitki gelişim düzenleyici hormonlar (indol asetik asit (IAA), giberellik asit, oxin, sitokinin vb) üretmek suretiyle bitki büyümesini desteklediği gibi aynı zamanda ürettikleri biyokimyasal bileşikler hastalık etmenlerine karşı bitkilerde dayanıklılığı teşvik etmek suretiyle hastalık çıkışını engelleyebilir veya hastalık etmenlerini tamamen öldürebilir (Kloepper ve Scroth, 1981). Biyolojik kontrol etmeni (BCA) “antagonist” bakteriler ise bitki gelişimini teşvik etmeden direkt ürettikleri antimikrobiyal bileşikler vasıtasıyla hastalık etmenlerini baskılayabilir veya tamamen öldürebilir.

Gerek endofit gerekse epifit karakterdeki biyolojik mücadele etmeni faydalı bakteriyel mikrobiomlar, bitki patojeni hastalık etmenlerinin gelişimini ve hastalık çıkışını “**doğrudan**” veya “**dolaylı**” yönlerden baskırlar. “**Doğrudan**” engelleme mekanizmaları (1) azot fiksasyonu, (2) siderofor üretimi, (3) topraktaki bağlı mineral besin maddelerin bitkinin kullanabileceği formlara dönüştürmesi (minerilizasyon), (4) karbon kaynağı besin maddeleri yönünden rekabet ve (5) bitkisel gelişimi teşvik eden hormonların teşvik edilmesi şeklinde karakterize edilirler. “**Dolaylı**” engelleme ise (1) hidrojen siyanür (HCN), (2) amonyak (NH₃), (3) antibiyosis / antagonizm (antimikrobiyal özellikli bileşiklerin üretilmesi), (4) siderofor, (5) glucanase, chitinase, proteaz gibi hücre duvarını yok eden litik enzimlerin üretilmesi, (6) bitkilerde dayanıklılık genlerini uyararak hastalık patojenlerine karşı dayanıklılığın desteklenmesi gibi mekanizmalar sayesinde gerçekleşir (Lugtenberg ve Kamilova, 2009; Tariq ve ark., 2014).

Bitki beslenmesi ve üretimi açısından “azot” bitki besin elementleri arasında en önemli bileşiktir. Azot, havada %78 oranında bulunmakta olup bitkinin kullanabileceği formda değildir. Doğadaki hiçbir bitki havadaki bu serbest azotu bitkinin kullanabileceği amonyum formuna çeviremez. Sadece mikroorganizmalar tarafından üretilen ve nitrogenase olarak bilinen karmaşık bir enzim atmosferdeki serbest azotu amonyuma dönüştürebilir ve bitkilere biyolojik olarak bağlayabilir (Gaby ve Buckley, 2012). *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* ve *Sinorhizobium* cinslerine ait bakteri türleri özellikle baklagiller familyasına (*Leguminaceae*) ait bitkilerin köklerinde bulunur ve bitki köklerinde oluşan nodüller aracılığıyla toprak ve havada bulunan serbest azotu bitkiye bağlayarak bitki büyümesini destekler (Zahran, 2001). *Leguminaceae* familyası bitkileri dışında *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Cyanobacteria*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Diazotrophicus*, *Acetobacter*, *Gluconacetobacter* ve *Azospirillum* gibi simbiyotik olmayan azot bağlayan kök bakterileride vardır (Vessey, 2003; Bhattacharyya ve Jha, 2012).

Demir, biyosferdeki organizmaların tamamı için en önemli ve temel mikro besinlerden biridir. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Streptomyces*, *Azadirachta Burkholderia*, *Aeromonas* ve *Serratia* sp. gibi bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin (PGPB) ürettiği siderofor adı verilen düşük moleküler ağırlıklı (<1000 D), demirde çözünebilen bileşikler demiri uygun olmayan bir formdan uygun bir forma

dönüştürme mekanizmasına sahiptir (Crosa ve Walsh, 2002; Arora ve ark., 2013; Sujatha ve Ammani, 2013).

Bitki için önemli bir diğer element de fosfordur. Fosfor bitkide enerji transferi, fotosentez, terleme, sinyal iletişimi ve makromoleküllerin biyosentezi dahil olmak üzere değerli olayların düzenlenmesinde rol oynar (Khan ve ark., 2010). Fosfor toprakta organik ve inorganik olarak bol miktarda bulunur, ancak %90-95'i çözünmez bu nedenle bitkilerin alabileceği uygun bir formda değildir. *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Arthrobacter*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Rhodococcus* ve *Serratia* sp.'ye ait PGPB izolatları toprakta bulunan ancak uygun formda olmayan fosforu üretmiş oldukları proton, hydroxyl ion, organik asit anyonları ve extraselüler enzimler vasıtasıyla parçalayarak bitkinin faydalanabileceği formlara çevirirler (Joshi ve ark., 2006; Bhattacharyya ve Jha, 2012; Sharma ve ark., 2013).

Indolasetik asit (IAA), sitokininler, etilen ve gibberellinler gibi fitohormonlar yılın belirli zamanlarında bitkiler tarafından sınırlı seviyelerde üretilebildiği gibi PGPB türleri tarafından sentezlenebilirler. *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Enterobacter cloacae*, *Alkaligenes faecalis*, *Pseudomonas* spp.'ye *Rhizobium*, *Klebsiella*, *Acetobacter diazotrophicus*, *Bradyrhizobium* ve *Azospirillum* spp.'ye ait PGPB izolatları özellikle bitkinin kök bölgesinde ürettikleri fitohormonlar sebebiyle bitkinin kökleri topraktan daha çok besin maddesi ve su alır, böylece bitki büyümesi desteklenir (Arora ve ark., 2012; Shilev, 2013). IAA, bitki gelişimini teşvik eden bakteriler tarafından en fazla üretilen bitki hormonlarından biridir. Kökbakterilerin %80'i bitkiye ait tohum ve kök kısımlarında IAA üretilip bitkinin kendiliğinden oluşturduğu indolasetik asit ile beraber bitkinin su ve besin alımını artırarak bitki büyümesini destekleme yeteneğinde olduğu bildirilmiştir (Vessey, 2003). IAA hormonu hücreleri esneterek bitkinin kök ve sürgünlerinin gelişmesini sağlayan en kıymetli oksin hormon olarak tanımlanmıştır (Tsavkelova ve ark., 2007). Diğer taraftan *Bacillus subtilis*, *Rhizobium* spp., *Azotobacter* sp., *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodospirillum rubrum*, *Pantoea agglomerans* ve *Paenibacillus polymyxa* gibi diğer PGPB izolatlarının sitokinin ve giberillin gibi diğer fitohormonları salgılayarak bitki gelişimini desteklediğini bildirilmiştir (Kang ve ark., 2010).

PGPB tarafından hastalıkların baskılanmasında rol oynayan bir diğer etki mekanizması “antimikrobiyal” nitelikteki maddelerin üretilmesidir. Bu tür antimikrobiyal maddeler sayesinde hastalık etmenlerinin engellenmesi “antibiyosis/antagonism” olarak adlandırılır. PGPB izolatları tarafından üretilen ve bitki patojeni mikroorganizmaların gelişimini engelleyen pyrrolnitrin, oomycin A, 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), amphisin, phenazine, tensin, tropolone, pyoluteorin ve cyclic lipopeptide gibi bileşiklerin çoğunlukla *Pseudomonas* spp.’ye ait PGPB izolatlarınca üretildiği bildirilmiştir (Loper ve Gross, 2007). Ayrıca *Streptomyces*, *Stenotrophomonas* sp. ve *Bacillus*’a ait PGPB türleri tarafından kanosamine, zwittermicin A, oligomycin A ve xanthobaccin gibi bileşiklerinde üretildiği belirlenmiştir (Compant ve ark., 2005). PGPB türlerinden bazıları antimikrobiyal bileşiklerin yanısıra amonyak, HCN ve DAPG gibi uçucu bileşikler üreterek patojenleri direkt engelleyebilmektedir (Lanteigne ve ark., 2012).

Bazı bitki gelişimini teşvik eden bakteri (PGPB) türleri tarafından fungal hastalık etmenlerinin hücre duvarını yıkan enzimler üretebilmesi sebebiyle bitki patojeni hastalık etmenlerinin çıkışı güçlü bir şekilde baskılanabilmiştir. PGPB türlerinin ürettiği ve fungus hücre duvarını yıkan/eriten β -glucanase, lipases, chitinases, phosphatases, dehydrogenase ve proteaz gibi litik enzimler toprak ve yaprak kökenli önemli bitki fungal hastalık etmenlerinden *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora* sp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii* ve *Rhizoctonia solani*’nin gelişimini baskılamıştır (Upadyay ve ark., 2012; Nadeem ve ark., 2013).

PGPB türleri tarafından üretilen bazı biyokimyasal bileşikler, bitkide sinyalizasyon yoluyla bitki hastalık etmenlerine karşı direnç mekanizmalarını aktive edebilir. Bu şekilde aktive edilen bitki direnç mekanizmaları, sadece mevcut hastalık etmenlerine değil, daha sonra bitkiye saldırabilecek diğer hastalık etmenlerine de direnç kazandırabilen büyük bir etki yelpazesine sahiptir (Avis ve ark., 2008; Naznin ve ark., 2013; Xia ve ark., 2015).

Depolanmış patates yumrularında sorun olan fungal hastalıklarla mücadelede ülkemizde ruhsatlı olan etkin bir fungusitin bulunmamasının yanısıra, tavsiye dışı kullanılan fungusitlerin insanlara, doğaya ve yararlı organizmalara olumsuz etkide bulunmakta, pestisitlerin yüksek dozda ve bilinçsizce kullanımı sonucunda hastalık etmenler için kullanılan fungusitlere karşı dayanıklı tür/izolatlar ortaya çıkmaktadır. Bu

durum, hastalıklarla mücadelede kimyasallara alternatif olabilecek yenilikçi, çevre dostu ve etkili yeni kontrol yöntemlerinin araştırılmasının zorunluluğunu ortaya koymaktadır.

Yapılan literatür araştırmasında dünyanın farklı ülkelerinde depolanan patates yumrularında sorun olan hasat sonu fungal hastalık etmenlerin sörveyi, yaygınlık oranları, tanılanması ve biyolojik mücadelesi üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (Li ve ark., 2022). Ülkemizde farklı konukçu bitkilerden elde edilmiş antagonist bakteri izolatlarının patates yumrularında sorun hasat sonu hastalık etmen(ler)inin biyolojik mücadelesinde kullanılmasına yönelik oldukça kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur (Kotan ve ark., 2009; Çakar ve Tozlu, 2022). Ancak, Konya gibi ülkemizin önemli tohumluk ve sanayilik patates depolama kapasitesine sahip ilinde bulunan depolardaki patates yumrularında sorun hasat sonu fungal hastalık etmenlerinin izolasyonu, tanılanması, yaygınlıklarının belirlenmesi, patates kaynaklı endofit biyolojik mücadele etmeni antagonist bakteri izolatlarının yaygın hastalık etmenlerinin *in vitro* ve *in vivo* biyolojik mücadelesi üzerine yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, (i) Konya ilinin önemli ilçelerinde depolanan patates yumrularında sorun olan fungal hastalık etmenleri ve yaygınlıklarının belirlenmesi, (ii) sağlıklı patates yumrularından faydalı endofit bakterilerin izolasyonu, tanısı, (iii) endofit bakteri izolatların depolarda yaygın fungal hastalık etmenlerine karşı biyoetkinlikleri, (iv) antagonistik ve bitki gelişimini teşvikte (PGP) rol oynayan potansiyel etki mekanizmalarının *in vitro* ve *in vivo* koşullarda belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Dünyada Patates Yumrularında Hasat Sonrası/Tarla Koşullarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Peters ve ark. (2008), 2000-2003 yıllarında İngiltere'nin 3 farklı bölgesinden temin edilen patates yumrularından yapılan patojen izolasyonları sonucunda; 228 farklı izolat elde etmişler ve bu isolatların %94.7 gibi büyük çoğunluğunun *Fusarium sambucinum* (Syn. *Fusarium sulphureum*), *Fusarium coeruleum*, *Fusarium avenaceum* ve *Fusarium culmorum* olduğunu tespit etmişlerdir. Bu isolatlar arasında *Fusarium coeruleum*'un (%37-52) en yaygın tür olduğu, *Fusarium sambucinum* 'un (%80) en saldırgan tür olduğu, *Fusarium avenaceum* ve *Fusarium culmorum* türlerinin ise daha zayıf patojen türler olduğu belirlenmiştir. Fungal patojenlerin thiabendazole ve imazalil gibi fungisitlere karşı duyarlılığında araştırıldığı çalışmada *Fusarium sambucinum* isolatlarının %65'inin thiabendazole ve *Fusarium avenaceum* isolatlarının %7'sinin imazalil'e karşı dirençli olduğu belirtilmiştir.

Abu-El Samen ve Al-Bdour (2011), Ürdün'e 2007/2008 yıllarında Fransa, Hollanda ve Danimarka'dan ithal edilen tohumluk patates yumrularından 109 örnek almış ve 10 farklı fungal ve oomycete etmenleri yönünden incelemiştir. Makraskobik ve mikraskobik analizler sonucunda yaygın görülen türlerin *Helminthosporium solani* (%92.6), *Colletotrichum coccodes* (%66.0), *Rhizoctonia solani* (%42.4) ve *Spongopora subterranea* (%13.8) etmenlerinin olduğu belirtilmiştir.

Chehri ve ark. (2011), patates depolarında çürüklüğe sebep olan en önemli patojenlerin *Pythium* spp., *Phytophthora infestans*, *Fusarium* spp., *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *E. carotovora* subsp. *atroseptica*'ya ait isolatlar olduğunu belirtmişlerdir. Bu patojenlerden *Fusarium* spp.'nin geniş bir konukçu aralığına sahip olduğu ve birçok bitkise çeşitli hastalıklara neden olduğu belirtilmiştir.

Masum ve ark. (2011), Bangladeş'te patates depolarında yaptıkları sörvey çalışmasında; *Pectobacterium caratovororum*'un sebep olduğu bakteriyel yumuşak çürüklük hastalığının %3.97, *Fusarium* spp.'nin neden olduğu fungal kuru çürüklük hastalığının %0.88 ve *Streptomyces scabies* uyuz hastalığının ise %0.96 oranında kayıplara sebep olduğunu, ülke genelinde ise kuru çürüklük yaygınlığının ortalama %6-

25 düzeylerinde olmasına rağmen bazı bölgelerde hastalık yaygınlığının %60'a kadar ulaştığını bildirmişlerdir.

Du ve ark. (2012), Çin'in kuzeyinde patates yetiştirilen 6 farklı bölgeden toplanan 698 patates yumrusundan *Fusarium sambucinum*, *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. equiseti* ve *F. avenaceum* gibi 5 değişik türden toplam 260 *Fusarium* izolatu teşhis etmiştir. Bu türlerin herbiri, gen bankasındaki *Fusarium* türleriyle %95'ten fazla oranda benzerlik göstermiştir. Elde edilen türler arasında *F. sambucinum* izolatları toplam izolatların %56'sını oluşturan baskın tür, *F. avenaceum* ise %30 oranla ikinci dominant tür olarak belirlenmiştir. Bu çalışma ile Çin'de mevcut 67 patates çeşidinin *F. sambucinum*'a hassas olduğu tespit edilmiş ve var olan patates gen kaynakları değerlendirilerek dirençli çeşitler geliştirmek için daha az çalışma alanı olduğu değerlendirilmiştir.

Fiers ve ark. (2012), patatesten farklı fungal etmenler sebebiyle meydana gelen kuru çürüklük hastalığının, tüm dünyada hasat sonrası patates yumrularında en yaygın olarak görülen ve ekonomik olarak çok büyük kayıplara sebep olan hastalıkların başında geldiği ve kuru çürüklük hastalık etmen(ler)in asıl konukçusunun patates yumruları olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada, patatesten kuru çürüklük hastalığına toprak kökenli fungal patojenlerden *F. sambucinum*, *F. equiseti*, *F. culmorum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. coeruleum* ve *F. sulphureum* gibi *Fusarium* türlerinin sebep olduğu belirtilmiştir.

Gachango ve ark. (2012a), patates yumrularında *Fusarium* spp.'nin biyolojik rolünün kuru çürüklük etmeni mi, ikincil patojen mi veya saprofit mi olduğunu tahmin etmenin zor olduğunu belirtmişlerdir. Elde edilen kuru çürüklük etmeni olarak kabul edilen türler içerisinde patojenik olmayan izolatlar tespit edilmiş ve farklı türlerin izolatlarının farklı boyutlarda lezyonlara neden olduğu belirlenmiştir. Yapılan gözlemlerde *F. sambucinum*'un test edilen diğer türlerin izolatlarına kıyasla önemli ölçüde daha büyük lezyonlara neden olduğu bildirilmiştir.

Soheili-Moghadam ve Hosseinzadeh (2013), İran'da depolanmış patateslerde 2 yıl boyunca aptıkları sürveylerde 85 adet fungal hastalık etmeni izolat elde etmişlerdir. Yapılan izolasyonlarda teşhis edilen *Fusarium* türlerinin bulunma sıklığı sırasıyla *Fusarium equiseti*, *F. sambucinum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. lateritium* ve *F. verticillioide*s olarak belirlenmiştir.

Heltoft ve ark. (2015), çeşitli ülke ve bölgelerde patatesten kuru çürüklük belirtisi gösteren yumrulardan izolasyonlar yapmış olup patates çeşitleri ve iklim koşullarındaki farklılıklar nedeniyle değişik *Fusarium* türleri izole etmişlerdir. Bu türler arasında *F. sambucinum*, Kuzey Amerika ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde patatesten *Fusarium* kuru çürüklüğüne yol açan en baskın patojenik fungal etmen olarak belirlenmiştir.

Stefańczyk ve ark. (2016), *Fusarium* spp.'nin Ascomycota bölümüne ait önemli bitki hastalıklarına neden olduğunu ve bu etmenin gıda ürünlerini mikotoksinlerle kirleterek insan ve hayvan sağlığını tehlikeye atabildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca çeşitli *Fusarium* spp. patates yumrularında kuru çürüklük hastalık belirtileri ile ilişkilendirilmiştir. Bu türler arasında en sık görülen ve en yıkıcı türlerin, coğrafi konuma ve mevsime bağlı olarak *F. sambucinum*, *F. solani* ve *F. oxysporum* olduğu bildirilmiştir. Kuru çürüklük belirtileri gösteren patates yumrularından örnekler toplanmış ve bu fungal izolatlarının *Fusarium* türü olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen 149 izolat arasında 12 tür tespit edilmiş, en sık görülen türün %45 oranında *F. oxysporum* olduğu, bu türü %12.1 ile *F. avenaceum*, %10.7 ile *F. solani* ve %7.4 ile *F. sambucinum*'un izlediği bildirilmiştir.

Mejdoub-Trabelsi ve ark. (2020a ve 2020b), Tunus'ta patatesten geleneksel ve soğuk depolama koşullarında *Fusarium* kuru çürüklüğünün yaygın olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan izolasyon ve tanımlama çalışmaları sonucunda *F. solani*, *F. sambucinum*, *F. graminearum* ve *F. oxysporum* f. sp. *tuberosi* etmenlerinin kuru çürüklük hastalığına neden olan başlıca fungal hastalık türleri olarak belirlenmiştir. Bu etmenlerin aynı zamanda dünya genelinde patates yetiştirilen birçok bölgede giderek daha ciddi bir hastalığa sebep olan patates *Fusarium* solgunluğuyla ilişkili ana türler olduğu bildirilmiştir.

Tiwari ve ark. (2020), *Fusarium* kuru çürüklüğü hastalığının, patates veriminde kayda değer bir azalmaya neden olduğu gibi, çok büyük ekonomik kayıplara da yol açtığını, *Fusarium*'un 17 türü ve 5 varyantının küresel olarak patatesten kuru çürüklüğe neden olan patojenler olarak tanımlandığını belirtmişlerdir.

De Mello ve ark. (2023), Brezilya'da yaygın olarak üretilen tatlı patates (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) yetiştiriliciliğini sınırlayan biyotik faktörler arasında önemli yere sahip olarak bildirilen kök çürüklüğü belirtileri gösteren tatlı patates yumrularını toplamışlardır. Yapılan gözlemlerde tatlı patates kök ve yumrular boyunca yumuşak nekrotik lezyonlar,

lezyonların altında beyaz miselyum varlığı ve güçlü bir koku dikkat çekmiştir. Moleküler sonuçlara ve filogenetik analizlere dayanarak fungusun *Geotrichum candidum* olduğu belirlenmiştir. Yapılan patojenisite ve Koch postulat çalışmaları sonucu, *Geotrichum candidum*'un Brezilya'da tatlı patates yumrularında ekşi çürüklük hastalığı etmeni olduğu ilk kez rapor edilmiştir.

Hu (2024), Arizona'daki ticari bir tohumluk patates tarlasında yumru çürümesi nedeniyle ürün kaybı (<%3 vaka) olduğunu rapor etmiştir. Dış belirtiler arasında etkilenen yumrulara siyah renkli çökük lezyonlar ve şiddetli oranda etkilenen yumruların yüzeyinde köpüklü beyaz misel büyümesi gözlenmiştir. Yumruların iç dokuları sulu, lastiksi dokulu, süngerimsi ve hafif gri renk değişikliğine sahip olduğu gözlenmiştir. Moleküler tanımlama çalışmaları sonucunda iki izolatin *G. candidum* olduğu bildirilmiştir. Söz konusu çalışma *G. candidum* 'un Arizona'da yetiştirilen patates yumru patojeni olarak belirtildiği ilk rapor olarak bildirilmiştir.

Patateslerde *G. candidum* 'un yol açtığı lastiksi çürüklük daha önce ABD'nin Idaho eyaletinde (Duellman ve ark. 2021) ve Michigan'da (Willbur ve ark. 2023) rapor edilmiştir.

2.2. Türkiye’de Patates Yumrularında Hasat Sonrası/Tarla Koşullarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Eken ve ark. (2000), Erzurum’da depolardan toplanan patates örneklerinde en yaygın hastalık etmeni cinslerinin *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Rhizoctonia*, *Penicillium* ve *Doratomyces* olduğunu bildirmişlerdir. Toplanan hastalıklı yumru örneklerinin %48’inin *Rhizoctonia solani* ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir. Agria, Granula ve Marfona patates çeşitlerinde yapılan patojenisite testinde *Fusarium sambucinum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Fusarium culmorum* ve *Pythium ultimum* etmenlerinin şiddetli hastalık belirtilerine sebep olduğu belirtilmiştir.

Aydın ve ark. (2016), *Fusarium sambucinum* Fuckel (teleomorph *Gibberella pulicaris* (Fr.) Sacc) hastalık etmeninin dünya çapında patates yumrularında bulunan en yaygın ve saldırgan türlerden birisi olduğunu bildirmişlerdir. Hasat edilen tohumluk patates yumrularında yumru sürgün kuru çürüklüğü patojeni *Fusarium sambucinum* ülkemizde ilk kez yapılan bu çalışmada tespit edilmiştir. Kuru çürüklük hastalığının ilk

belirtileri genellikle yumru yüzeyindeki koyu çöküntüler şeklinde gözlenmiştir. Büyük lezyonlarda, alttaki ölü doku kurudukça kabuk eş merkezli halkalar halinde kırışmıştır. Hastalıklı tohumluk yumru ikiye kesildiğinde, dâhili belirtiler açıktan koyu çikolata kahvesine veya siyaha doğru gölgelenen nekrotik alanlarla karakterize edilmiştir. Bu nekrotik doku genellikle kurumuştur. Patojen yumruya girer, genellikle merkezi çürütür ve çürümüş oyuklar misellerle ve sarıdan beyaza ve pembeye kadar çeşitli renklerde sporlarla kaplamıştır. Patojen gelişmekte olan filizleri doğrudan öldürebilir. Bu durumda patates yumrularının tarlada geç çıkması veya hiç çıkmaması ile sonuçlanabileceği için verim kayıplarının daha fazla artabileceği bildirilmiştir.

Aydın ve İnal (2018), ılıman bölgelerde *Fusarium sambucinum* ve *F. solani*'nin depodaki patates yumrularında kuru çürüklüğe sebep olan yaygın patojenler olduğunu bildirmişlerdir. *Fusarium sambucinum* ve *F. solani* 'ye hassas veya orta seviyede dirençli patates çeşitlerine ait yumrulara patojenisite testi yapılmıştır. Bu testler sonucunda *Fusarium* izolatlarının tamamının patojen olduğu ve Türkiye'de üretimi yapılan 17 patates çeşidinde farklı oranda virülenslik gösterdiği belirtilmiştir. Teste tabi tutulan patates çeşitlerinden yalnızca Broke çeşidi, patojenlere karşı daha az hassasiyet göstermiştir. *F. sambucinum* izolatlarının ise tüm çeşitlerde *F. solani*'den daha saldırgan patojen olduğu belirlenmiştir.

Çakır ve ark. (2019), Türkiye'nin Nevşehir ve Isparta illerinde 2015 ve 2017 yıllarında patates depolarında atipik patates yumru çürüklüğü yaygınlığını araştırmışlardır. Hasattan yaklaşık 4-5 ay sonra, 4-5 °C sıcaklık ve %65-75 bağıl nemde saklanan Melody cinsi patateslerin %80'inin hastalıktan etkilendiği gözlemlenmiştir. Nekrotik yumru dokularından sürekli olarak bir mantar izole edilmiştir. Patojen, morfolojik özelliklere ve rDNA dizisinin analizine dayanarak *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes olarak tanımlanmıştır. Patojenisite, miselyal agar diskleri ile yumru aşılması yoluyla test edilmiştir. Patates yumrularında 4-6 hafta sonra düzensiz ve koyu kahverengi çökük lezyonlar gelişirken, kontrol yumruları belirsiz kalmıştır. Bu, Türkiye'de patates yumrularında olağanüstü belirtilere neden olan ilk *C. coccodes* raporudur.

Soylu ve ark. (2021), Konya ili, Çumra ilçesindeki patates üretilen alanlarda 2019 yılında yaptıkları sörveylerde, ekşi koku hissedilen patates yumruları üzerinde beyaz miselyumla kaplı suda ıslanmış yumuşak lastik çürüklüğü belirtileri gözlemlenmiş olup

bunların yeni hastalık belirtisi olduğunu bildirilmişlerdir. Yüzey dezenfeksiyonundan sonra enfekte yumruların temin edilen dokular Patates Dekstroz Agar (PDA) üzerine konmuş ve 25°C'de inkübe edilmiştir. Hastalık etmenin kültürel ve morfolojik değerlendirmeleri *Geotrichum candidum* ile uyumlu olmuştur. Patojenisite testinde doğal olarak enfekte olmuş patates yumrularında gözlenen belirtilerin benzeri görülmüştür. Hastalık etmeni bu dokulardan tekrar izole edilmiştir. Kaydedilen temsili fungal izolatin sekans sonucu değerlendirildiğinde gen bankasındaki *G. candidum* izolatu ile %99 benzerlik göstermiştir. Türkiye’de *G. candidum*’un neden olduğu patates lastik çürüklük hastalığının varlığı daha önce rapor edilmemiştir. *G. candidum*’un morfolojik ve moleküler karakterizasyonu Türkiye’de üretilen patates yumrularında lastik çürüklüğü hastalığı etmeni olarak ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Koç (2022), ülkemizin önemli patates üretiminin yapıldığı ve depolandığı illerinden olan Nevşehir’deki depolarda yaptığı sörvey çalışmalarında 5 farklı patates deposu örnekleyip incelemiş ve toplanan 250 şüpheli yumru örneğinden fungal etmenlerin izolasyonu ve tanılamalarını yapmıştır. Hastalık belirtisi gösteren patates yumrularından yapılan izolasyonlar ile morfolojik ve moleküler tanılamalar sonucunda fungal etmenlerin *Fusarium sambucinum*, *Colletotrichum coccodes*, *Geotrichum candidum*, *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium acuminatum* olduğunu tespit etmiştir.

2.3. Patates Yumrularında Sorun Olan Fungal Hastalık Etmenleri ile Yapılan Biyolojik Mücadele Çalışmaları

Sadfi ve ark. (2001), depolanan patates yumrularında görülen fungal kaynaklı hastalıkların biyolojik mücadele etmenleriyle kontrol edilebilirliğini tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada, *Bacillus cereus* (X16) ve *Trichoderma viride* (55T) izolatlarının kuru çürüklük hastalık etmeni *F. roseum* var. *sambucinum*’a etkinliklerini test etmişlerdir. *B. cereus* (X16) izolatının uygulandığı yumrulara kuru çürüklük hastalığının enfeksiyon oranı %23 ve carbendazim fungusiti uygulanmış patates yumrularında enfeksiyon oranı %5’ten daha az görülmüştür. Özellikle, + 4°C’de 8 ay süresince yapılan soğuk hava depolamasının akabinde, *Bacillus cereus* (X16) ve *Trichoderma viride* (55T) beraber uygulandığı patates yumrularında fungusit uygulamasına kıyasla kuru çürüklük hastalığını önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir.

Sadfi ve ark. (2002), *Bacillus* spp.'ye ait seçilmiş izolatların patates yumrularında kuru çürüklük hastalığı etmeni *Fusarium roseum* var. *sambucinum*'un sebep olduğu fungal hastalığı baskılama yetenekleri açısından değerlendirmişlerdir. Saksılarda gerçekleştirilen sera denemelerinde *B. licheniformis*'in I32 ve *B. cereus*'un X16 izolatlarının fungal hastalığın şiddetini düşürmede etkili bulunmuştur. Saha deneyleri, *B. cereus* X16 izolatının, tohumluk yumrulardaki *Fusarium* çürüklüğünü kontrol etmede ve verim parametrelerini arttırmada en etkili izolat olduğunu göstermiştir. Tohumluk yumruların bakteriler tarafından kolonizasyonu ekimden sonraki 61 güne kadar *B. cereus* X16 izolatı (2×10^3 CFU/cm²) için önemli ölçüde artmıştır. Yumrularda 75 gün sonra tüm uygulamalar sonucunda hastalık belirtilerinde azalma görülmüştür. Ayrıca, sırasıyla 6 ve 8 ay boyunca gerçekleştirilen geleneksel ve soğuk depolama analizlerinde, her bir antagonistin tek başına veya karışımla (X16 + *B. thuringiensis* var. *galleriae* 55T ve *Trichoderma viride* + 55T) uygulandığı patates yumrularında kuru çürüklük fungal hastalığını önemli ölçüde engellendiği bildirilmiştir.

Kotan ve ark. (2009), Agria ve Granola çeşidi patates yumruları üzerinde *F. sambucinum*, *F. culmorum* ve *F. oxysporum* için değişik konukçu bitkilerinden alınan 17 antagonist bakterinin antifungal etkinliğini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda test etmişlerdir. Bu antagonistik bakteriler; *Bacillus amyloliquefaciens* (M47), *Bacillus subtilis* (M16, M19, M34, M48, M58, BA140 ve OSU142), *Bacillus atrophaeus* (M35), *Bacillus pumilus* (M13 ve M38), *Bacillus macerans* (M32), *Pseudomonas putida* (OSU8 ve Pp12633), *Burkholderia cepacia* (OSU7 ve PR203) ve *Flavobacter balastinium* (FB299) dir. Bu bakteri izolatları içerisinde *B. cepacia* (OSU7) *F. sambucinum*, *F. culmorum* ve *F. oxysporum*'a karşı en etkili antagonist bakteri izolatı olarak tespit edilmiştir.

Mejdoub-Trabelsi ve Chérif (2009), patates kuru çürüklüğü etmeni *Fusarium roseum* var. *sambucinum* 'a karşı kitin, kitosan, salisilik asit, bion (benzothiadiazol) ve β -aminobutyricacid (BABA) gibi abiyotik etmenlerden *in vitro* ve *in vivo*'da antifungal etkinliklerini belirlemek için çalışma yapmışlardır. Abiyotik etmenlerden kitin ve kitosan (400 μ g/ml) ve β -aminobutyricacid (30 μ g/ml) uygulamalarının patates yumrularında kuru çürüklük gelişimini etkili bir şekilde baskıladığı belirlenmiştir. β -aminobutyricacid'in etkinliği patates yumrularının klasik yöntemlerle 3 ay depolanmasından sonra da kanıtlanmıştır. Özellikle, *F. roseum* var. *sambucinum* ile enfekte olmuş patates yumrularında β -aminobutyricacid ile *Bacillus cereus*

uygulanmasında ki hastalık çıkışı, kontrole göre yaklaşık %70 oranında engellendiği görülmüştür.

Kotan ve ark. (2009), *B. cepacia* OSU-7 izolatının, depolamada patatesten kuru çürüklüğe sebep olan üç *Fusarium* türünün (*F. sambucinum*, *F. oxysporum* ve *F. culmorum*) kontrolünde önemli düzeyde antifungal etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Al-Mughrabi (2010), *Fusarium* türlerinin neden olduğu kuru çürüklüğün patateslerde çok önemli bir hastalık olması sebebiyle 2005 ve 2006'da Kanada'da *Pseudomonas fluorescens* ve *Enterobacter cloacae*'nin patates kuru çürüklüğünü engelleme etkinliğini değerlendirmek için arazi şartlarında denemeler yapmıştır. Antagonist bakteri uygulanmış *Fusarium sambucinum* ile enfekteli yumrulara hastalık çıkışı sadece patojenle enfekteli kontrol yumrularına kıyasla kuru çürüklüğün ortaya çıkışı önemli düzeyde engellenmiştir. Çalışma sonunda en yüksek etkinlik sırasıyla fungusit fludioksenil (%55.7) uygulanmış yumrulara görülürken, bu uygulamayı *Pseudomonas fluorescens* (%35) ve *Enterobacter cloacae* (%26.5) bakteri uygulaması yapılmış yumrular takip etmiştir. Her iki yılda da ortalama olarak, *P. fluorescens* ve *E. cloacae* ile muamele edilen tohumluklar daha yüksek toplam yumru sayısı üretmiştir. *E. cloacae* ile işlenmiş tohumluk yumru verimi, faydalı bakteri uygulanmamış kontrole göre daha yüksek olmuştur. Bakterilerin tarla koşullarında patates hastalıkları üzerindeki etkisini araştıran ilk çalışma sonuçları *Pseudomonas fluorescens*, *Enterobacter cloacae* ve fludioksenil patates yumru hastalıklarının kontrolünde uygun seçenekler olduğu bildirilmiştir. Denemede, hasat sonrası patates yumru gümüş kabuk hastalığı (*Helminthosporium solani*) ve adi uyuz hastalığı (*Streptomyces scabies*) açısından da değerlendirme yapılmış olup tüm uygulamaların, patojen veya faydalı bakteri uygulanmamış kontrol kıyasla adi uyuz ve gümüş kabuğu hastalıklarının şiddetini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir.

Slininger ve ark. (2010), *Enterobacter cloacae* S11: T: 07 ve *Pseudomonas fluorescens* S11: P: 12, P22: Y: 05 ve S22: T: 04 izolatlarının patatesten 4 farklı hastalığı (kuru çürüklük, geç yanıklık, pembe çürüklük ve filizlenme) engellemede başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

Kirk ve ark. (2013), tarla koşullarında yapraktan fungusit ve biyofungisitlerin uygulanması ile birlikte hasat sonrası depolamada yapılacak entegre uygulamaların

patateste kuru çürüklük etmeni *Fusarium sambucinum*'a karşı patates yumrusunun korunması için etkin bir mücadele yöntemi olabileceğini tespit etmişlerdir. Tarlada fungusit olarak yapraktan mefenoxam ve fosforoz asit ile biyofungisit olarak *Bacillus subtilis* uygulaması akabinde depolama sırasında da fosforoz asit, azoxystrobin ve fludioxonil+difenoconazole gibi fungusitlerle *Bacillus subtilis* karışımı uygulaması iki farklı depolama sıcaklığında (4-10°C) ve iki farklı çeşitte (FL1879, Goldrush) yapılmıştır. Sonuçlar, tarlada *B. subtilis* veya mefenoxam uygulandığında, ardından depoda *B. subtilis*, fludioxonil, azoxystrobin ve difenoconazole karışık fungusit veya fosforik asit uygulandığında kuru çürüklüğün patates üzerindeki etkisi azalmıştır. Depolamada uygulanan fungusitler ve biyofungisitler ile birleştirilmiş uygulamalar, kuru çürüklük etmenini kontrol etmek için uygun seçenekler olmuştur.

İmriz ve ark. (2014), *Fusarium* gibi fungusitlerle mücadele edilmesi zor olan patojenlerin kontrol altına alınmasında biyolojik mücadele çalışmalarının çok önemli olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle rizosfer bölgesinde bulunan saprofit özellikteki bakteriyel antagonistlerin yanısıra fungal biyokontrol etmeni *Trichoderma* türlerinin başı çektiği yararlı mikroorganizmaların rekabetçi yapıda oldukları ve farklı metabolik maddeler üreterek hastalık etmenlerine karşı antifungal etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Wharton ve Kirk, (2014), *Fusarium sambucinum*'un patateste sebep olduğu kuru çürüklük hastalığına karşı *Bacillus subtilis* ve *Trichoderma harzianum* gibi 2 biyolojik preparat ile fludioxonil+mancozeb etken madde karışımı bir fungusiti tohumluk yumru uygulamasında denemişlerdir. *B. subtilis* muamele edildiğinde sürgün çürüklüğü %66 ve tohumluklarda çürüme %84 oranında azalmıştır. *T. harzianum* uygulamasında ise sürgün çürüklüğü %70 ve tohumluklarda çürüme %81 oranında azalmıştır. Fludioxonil+mancozeb karışımı fungusitle gerçekleştirilen muamelede ise sürgün çürüklüğü %81 ve tohumluklarda çürüme %97 oranında azalmıştır.

Fira ve ark. (2018), *Bacillus* spp. bakteri grubunun değişken koşullar altında (farklı patojenler, bitkiler, çevre koşulları) etkili olmalarını sağlayan çeşitli biyokontrol mekanizmaları gösterdiğini bildirmişlerdir. *Bacillus* spp. fungal patojenlerini kontrol etmek için mikroparazitizm, yaşam yeri ve besin kaynağı için rekabet, antibiyotikler, biyosümfaktanlar ve hücre duvarını parçalayan enzimler gibi çok çeşitli yayılabilir metabolitler üretmektedirler. Biyosümfaktanların, hastalık etmenlerinin hücre

membranlarının parçalanması ve çözündürülmesi yoluyla etki eden güçlü biyolojik kökenli yüzey aktif maddeler olarak kabul edildiği böylece bitki savunma mekanizmalarını tetikleme yeteneğine sahip bileşikler olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, fengisinlerin çeşitli *Bacillus* türlerinin antagonizminde anahtar faktörler olduğu gösterilmiştir. Sürfaktanlarla birlikte bitkilerde teşvik edilmiş sistemik dayanıklılığında ortaya çıkarabildiği bildirilmiştir.

Lastochkina ve ark. (2019), endofit bakteri olan 10-4 ve 26D *Bacillus subtilis* izolatları ile salisilik asit (SA) uygulamalarının depolanan patates yumrularında *P. infestans* ve *F. oxysporum*'a etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmalarda *B. subtilis*'in depolanan patates yumrularında hastalıkların çıkışı üzerine engelleyici etkiye sahip olduğu, bu etkinin hem tek hem de salisilik asit ile karışım halinde doza bağlı bir şekilde gerçekleştiği tespit edilmiştir. *P. infestans* ve *F. oxysporum*'un her ikisinde baskılanması için en etkili *B. subtilis* konsantrasyonları; 10-4 ve 26D bakteri izolatlarında 10^8 cfu /mL, 10-4 bakteri izolatu ile salisilik asit uygulamasında 10^7 cfu/mL ve 26D bakteri izolatu ile salisilik asit uygulamasında 10^6 cfu /mL olmuştur. Ayrıca, 10-4 ve 26D *Bacillus subtilis* izolatları depolanmadan hemen önce uygulandığında patatesin iç yumru kök dokularına etki ettiğini ve koloni oluşturduğunu, SA'nın ise bu işlemleri hızlandırdığını belirlemişlerdir. Yapılan kimyasal analizlerde *B. subtilis*'in tek ve salisilik asit ile kombinasyonlarında patatesta askorbik asit içeriğini arttırmış ve yumrularda patojen kaynaklı prolin birikimini ve lipit peroksidasyonunu azaltmıştır.

Keswani ve ark. (2020), *Bacillus* izolatlarının hedef fitopatojenleri engelleme yeteneğinin; esas olarak konukçu bitkinin teşvik edilmiş sistemik dayanıklılığın ortaya çıkarma veya bitki patojenlerinin gelişimin ve/veya sporulasyonunu doğrudan engelleyebilen uçucu maddeler, hidrolitik enzimler, poliketidler, lipopeptitler (surfaktin, fengycin ve iturin) ve antimikrobiyal özelliklere sahip çok çeşitli ikincil metabolitler üretme yeteneklerine dayandığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın ana materyallerini tohumluk patates depolarından toplanmış hastalıklı yumrulardan izole edilen çeşitli türlere ait fungus izolatlar, sağlıklı patates yumrularından izole edilen aday biyokontrol bakteriyel türlere ait izolatlar, moleküler tanılamada kullanılan primerler, kimyasallar, besi yerleri, plastik-cam sarf malzemeleri ve laboratuvar aletleri oluşturmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Patates Depolarındaki Yumrularda Sorun Olan Fungal Hastalıkların Yaygınlık Durumunun Belirlenmesi

Patates yetiştiriciliğinin ve hasat sonu depolamanın yoğun olarak yapıldığı Konya ilinin Altınekin, Seydişehir, Ereğli, Karapınar ve Meram ilçelerindeki patates depolarında hasattan ekime kadar olan depolama döneminde sürveyler yapılmıştır. Seçilen depoların bölgeyi temsil etmesine özen gösterilmiştir. Örneklemede, her depo 10 örnekleme noktasına bölünmüş olup, her bölgeden 50 adet olmak üzere toplam 500 yumru üzerinde “depolarıda” makroskopik olarak gözlemler yapılmıştır. Depoların kontaminasyon oranını belirlemek için basit bir ortalama formül (Formül 3.1) kullanılmıştır. Bu amaç için patates deposunun 10 ayrı yerinde yapılan sayımlarda tespit edilen bulaşık bitki sayısı sayılan toplam bitki sayısına orantılanmıştır.

$$\text{Patates Depolarında Hastalık oranı} = \left(\frac{\text{Depolarıda toplam bulaşık yumru sayısı}}{\text{Depolarıda sayılan toplam yumru sayısı}} \right) * 100 \quad (3.1)$$

Her depoda, o depoyu temsil eden hastalık belirtilerine sahip yumrular örneklenerek kâğıt torbalarda etiketlenmiştir. Tüm örnekleme için etiketlerde tarih, yer, depo alanı, örneğin alındığı deponun adı, biliniyorsa ürünün geldiği tarlanın sahibinin adı, tarla bilgileri ve toprak yapısı, patates çeşidi ve bir önceki yıl o tarlada yetiştirilen bitkiler kaydedilmiştir.

3.2.2. Enfekteli Patates Yumrularından Fungal Hastalık Etmenlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması

Fungal patojenler, Konya'nın Altınekin, Seydişehir, Ereğli, Karapınar ve Meram ilçelerindeki patates depolarından elde edilen farklı hastalık belirtilerine sahip yumruların izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Hastalık belirtisi gösteren yumruların yüzey kabuğu saprofit hedef dışı patojenlerden sakınmak amacıyla steril bistürü ile kesilerek atılmıştır. Mümkün olduğu kadar dokular enine kesilerek, iç kısmında sağlıklı dokuya en yakın noktadan nekrotik dokular temiz bir bistürü ile 1-2 mm büyüklüğünde küçük parçalar halinde kesilmiştir. Her bir patates yumrusundan temin edilen hastalık belirtisi gösteren doku parçaları ilk izolasyonlarda genel besiyeri olan Potato Dekstroza Agar (PDA, Merck, Darmstadt, Almanya) besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. Bakteriyel kontaminasyonu önlemek için her iki besiyerine de 50 µg/ml streptomisin sülfat antibiyotigi eklenmiştir.

Hastalıklı bitki dokusundan alınan 1-2 mm'lik parçalar 90 mm çapındaki petriye 3'er adet olarak ekilmiş, petri kapları 25°C'de 5-7 gün süre ile inkübasyon yapılmıştır. Besiyerinde gelişen farklı yapıdaki fungal koloniler birbirleri ile temas etmeden önce seçilerek ayrı izolatlar olarak tür tespiti için antibiyotik katkılı PDA içeren 60 mm'lik petri kaplarına aktarılmış ve 25°C'de 5-7 gün süre ile inkübasyon yapılmıştır. Kesin tür teşhisleri yapılmaya kadar elde edilen izolatlar +4°C'de saklanmıştır. *Fusarium* tür tanımlamasında klamidospore, uniform mikrokonidi ve makrokonidi oluşumu için daha uygun olan Karanfil Yaprak Parçası Agar (Carnation Leaf-Piece Agar, CLA) besiyerine aktarılmıştır (Leslie ve Summerell, 2006).

3.2.3. Fungal Hastalık Etmenlerin Morfolojik Tanımlamaları ve Tek Spor İzolatlarının Elde Edilmesi

PDA besiyerinde fungal patojenlerin koloni büyümesi, sporulasyonu ve mikrosklerot oluşumu incelenmiştir. Trinoküler araştırma mikroskobu (Olympus BX-51 Model, Floresan DIC Ataçmanlı) kullanılarak petride gelişen fungal izolatlar koloni gelişimi, spor şekli ve rengi, dayanıklı spor gibi yapılarına göre gruplandırılmıştır. *Alternaria alternata*, *Macrophomina phaseolina*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*,

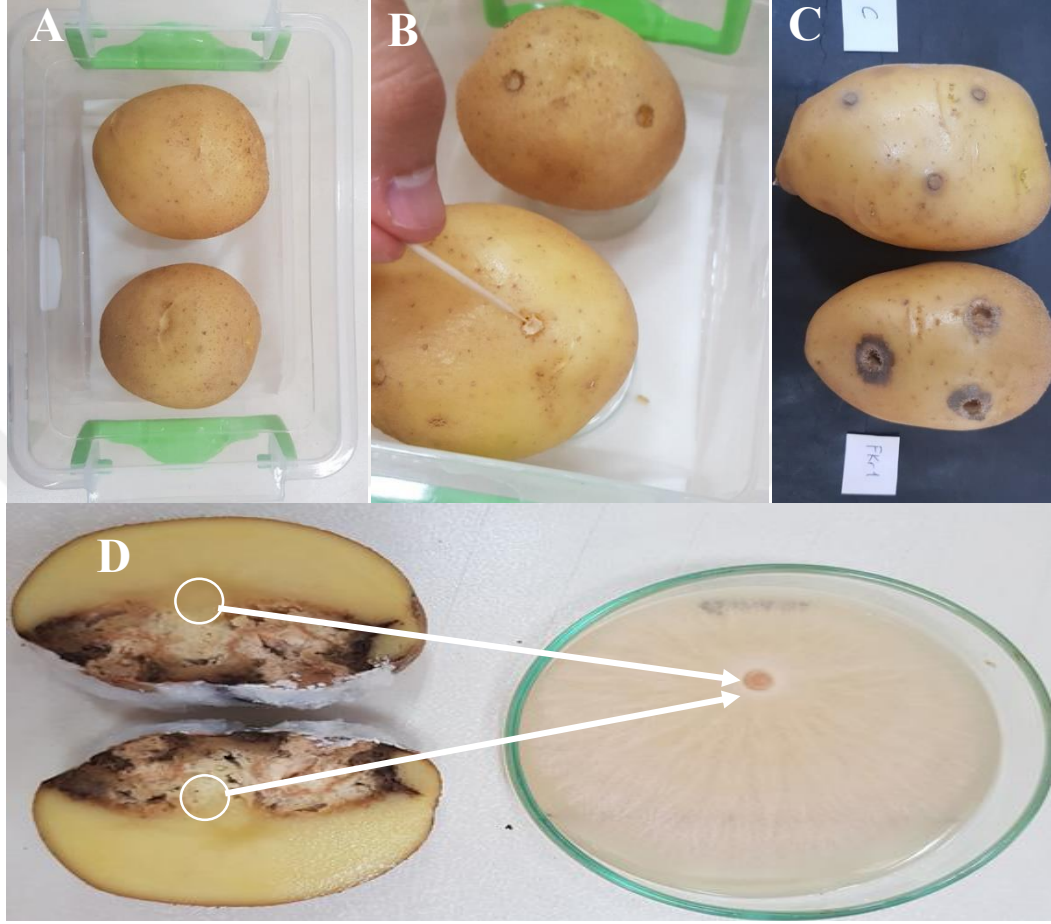
Colletotrichum coccodes, *Fusarium* spp. ve *Geotrichum candidum* gibi primer hastalık etmeni fungal türlerin ön tanılamaları spesifik yapılara (makro-mikro konidi, klamidospor, konidiofor, hif, aservulus, sklerot vb.) göre yapılmıştır.

Primer fungal hastalık etmenlerinden *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium* spp. ve *Geotrichum candidum* gibi spor oluşturan saf fungal izolatlar biyolojik mücadele, MALDI-TOF ve moleküler tanılama çalışmalarında kullanılmak üzere tek spor izolatları elde edilmiştir. Saf izolatların 10^2 spor/ml konsantrasyonda hazırlanmış spor süspansiyonları steril baget kullanılarak 50 µg/ml streptomisin sülfat içeren %2 lik Su Agar (WA) üzerine yayılmış ve 24°C'de 8 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda çimlenen tek sporlar Su Agar besiyeri ile birlikte antibiyotik eklenmiş PDA besiyerine aktarılarak tek spor izolatlar elde edilmiştir (Atay ve Soylu, 2022). Bu izolatlar MALDI-TOF ve moleküler teşhis çalışmalarının yanı sıra, biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmıştır. PDA besiyerinde tek spordan geliştirilen fungal kültürlerin uzun süreli saklamak ve patojenisite kaybını önlemek için ayrıca kuru filtre kâğıdı üzerinde geliştirilmiş ve bir zarf içinde -20°C'de saklanmıştır.

3.2.4. Fungal Hastalık Etmenlerin Patojenisite Çalışmaları

Farklı depolardaki patateslerden elde edilen saf/tek spor fungal izolatların patojenisite testlerinde yüksek verimli, orta geçici özellikte, yaygın olarak yetiştirilen, parmak patates ve cips için uygun olan “Fontane” çeşidi kullanılmıştır. Sağlıklı benzer orta büyüklükte seçilmiş Fontane çeşidi patates yumruları (8-10 cm çapında) öncelikle çeşme suyu altında iyice yıkandıktan sonra %2 oranındaki NaOCl çözeltisinde 10 dakika bekletilmiş, daha sonra 3 kez temiz steril distile su içinde 10’ar dakika bekletilmek suretiyle durulanmış ve kurutma kâğıtları üzerinde 30 dakika süre ile kurumaya bırakılmıştır. Sağlıklı yüzey dezenfeksiyonu yapılmış yumruların yüzeylerinde açılan 6 mm’lik yaralara (n=3) steril bir kürdan ile fungus kültüründen alınan besi ortamlı 6 mm misel diski aktarılmıştır. İnoküle edilen patates yumruları tabanı ıslak kâğıtla kaplı şeffaf plastik kaplardaki steril petri kapakları üzerine yerleştirilmiş, 22°C sıcaklık ve 12 saat/günlük foto periyottaki bir inkübatöre konulmuştur. İnoküle edilmiş yumrular 15 gün süre ile 22°C'de inkübasyona bırakılarak hastalık gelişimi değerlendirilmiştir (Şekil 3.1). Patates yumrularında oluşan semptomlardan fungal izolatlar tekrar antibiyotikli PDA besi

yerleri üzerinde izole edilerek (re-izolatlar) kesin tür teşhisleri MALDI-TOF MS ve moleküler yöntemlerle belirlenmeleri amacıyla +4°C saklanmıştır.



Şekil 3.1 Farklı depolardaki patateslerden elde edilen saf/tek spor fungal izolatların patojenisite testleri. (A) Sağlıklı patateslerin saklama kaplarına yerleştirildikten sonra (B) açılan yaralara misel diskler yerleştirilmiş ve (C) inokulasyondan 10 gün sonra gelişen tipik simpromlar kontrol edilmiştir. (D) Hastalık belirtisi gösteren yumrulardan etmen tekrar izole edilmiştir

3.2.5. Fungal Hastalık Etmenlerin Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Tanılanmaları

Morfolojik olarak ön tanılaması yapılmış, patates yumrularında tipik hastalık belirtilerine neden olmuş orijinal ve re-izolatların kesin tür tanılamaları ayrıca MALDI-TOF MS ile teyit edilmiştir. Tanılama çalışmalarında kullanılan tüm izolatlar öncelikle PDA besiyerinde 5-7 gün süreyle geliştirilmiştir. Büyüyen fungal kültürlerinden alınan 6 mm çapındaki 5 misel diski içerisinde 8 ml PDB sıvı besiyeri içeren steril santrifüj

(Falkon) tüplerine aktarılmıştır. Besi yerlerinde bakteriyel bulaşıklığı engellemek amacıyla ortamlara 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat eklenmiştir. Sıvı besiyerli tüplerde bulunan fungal kültürlerinin gelişmesi için oda sıcaklığında (20-24°C) 360° döner rotatörde 50 rpm hızında 3 gün inkübasyona bırakılmıştır.

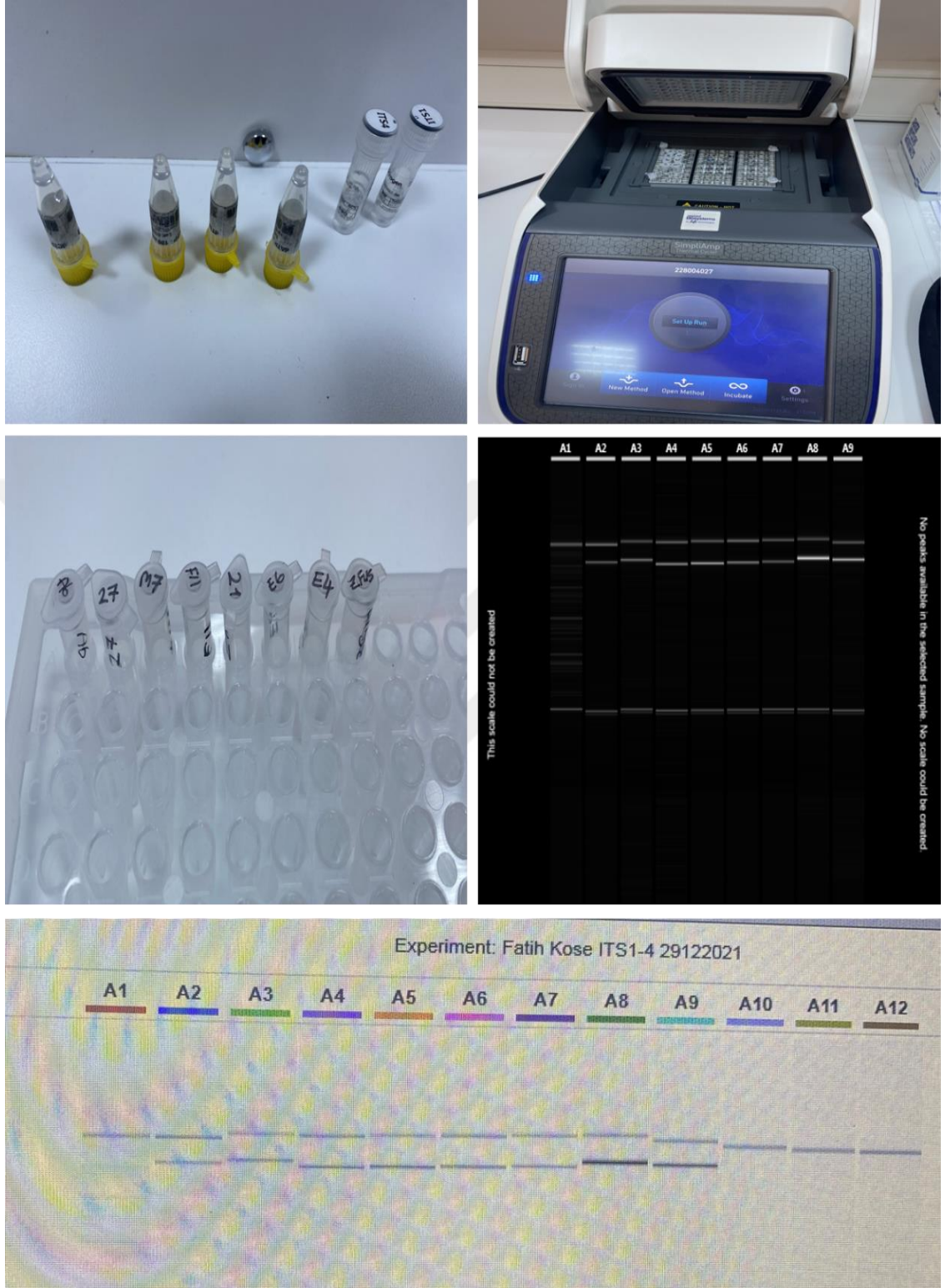
MALDI-TOF MS analizi için sıvı besiyerinde gelişen fungal izolatların misel süspansiyonlarından alınan örneklerin protein ekstraktları daha önceden bildirildiği şekilde formik asit-etanol yöntemi ile elde edilmiştir (Soylu ve ark., 2020). Farklı türlere ait izolatlardan elde edilen ekstraktlar metal MALDI-TOF target üzerine yerleştirilip, üzerlerine matrix solüsyonu damlatılmış, oda sıcaklığında kurutulduktan sonra analiz edilmiştir. Her izolata spesifik olarak elde edilen spektrumlar cihazın kütüphanesindeki referans fungal türlere ait spektrumları Maldy Biotyper V2.0 yazılımı ile karşılaştırılarak her izolatın kesin tür tanılamaları yapılmıştır.

3.2.6. Fungal Hastalık Etmenlerin Moleküler Tanılanması

Patojenisite testlerinde yüksek virülenslik göstermiş, morfolojik ve MALDI-TOF MS analizi sonucunda tanılanması yapılmış temsili seçilen farklı türlere ait izolatların kesin tür tanılamaları ayrıca moleküler tanılama yöntemleri ile teyit edilmiştir. PDA besiyerinde 5-7 gün süre ile geliştirilmiş fungus izolatlarından DNA izolasyonu yapılmak amacıyla; fungus hifleri bistüri ile kazınarak 2 ml'lik ependorf tüplerine aktarılmış ve homojenizatör kullanılarak hifler parçalanmıştır. Parçalanmış hiflerin DNA izolasyonu QIAGEN DNeasy Plant mini kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Firmadan yapılan kitin kullanım talimatına göre DNA izolasyon sırasında belirli aşamalar takip edilmiştir. Parçalanmış fungus hiflerine 400 µl Buffer AP1 ve 4 µl RNase A eklenip vortekslenmiştir. Örnekler daha sonra su banyosunda 65°C'de 45 dakika ila 1 saat arasında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 130 µl Buffer P3 eklenmiş, vortekslenmiş ve 5 dakika süre ile buz üzerinde bekletilmiştir. Örnekler daha sonra 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjlenen numunenin sıvı kısmı alınmış ve QIAshredder mini spin column tüpüne yerleştirilerek tekrar santrifüjlenmiştir. Daha sonra tüpün dibindeki sıvının 1.5 katı kadar Buffer AW1 çözeltisi eklenmiştir. Karışım bir DNeasy mini spin column tüpüne aktarılmış ve 6000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Ardından, iki kez 500 µl buffer AW2 eklenmiş ve yıkanmıştır. Akabinde, santrifüjlenmiş tüpün dibinde kalan sıvı atılmıştır.

Son olarak, DNeasy mini spin column tüpünün üst kısmı (süpernatant) 1.5 ml'lik bir ependorf tüpüne yerleştirilmiş, 60 µl Buffer AE eklenmiş, 8000 rpm'de santrifüj edilmiş ve üst kısmı atılmıştır. Böylece, DNA bir ependorf tüpünde elde edilmiştir (Şekil 3.2). Qubit 3.0 fluorometerda izole edilen DNA konsantrasyonu ölçülmüştür. DNA konsantrasyonu ölçümü için her örneğe 1,5 ml'lik ependorf tüplerine 199 µl Qubit Buffer ve 1 µl Qubit reagent boyası karıştırılmış ve bir stok hazırlanmıştır. Bu stoktan 190 µl, numune sayısı kadar 0,5 ml'lik ependorf tüplerine dağıtıldı ve toplam 200 µl'ye tamamlamak için 2 µl DNA eklendi. Kısa bir vorteksleme ve santrifüjlemeden sonra okumalar yapılmıştır (Şekil 3.2).

Morfolojik olarak tanısı yapılan *Alternaria alternata*, *Macrophomina phaseolina*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Colletotrichum coccodes* ve *Geotrichum candidum* gibi fungal türlere ait izolatlar arasından patojenisite testinde şiddetli hastalık belirtilerine neden olanlar arasından temsili seçilen izolatların moleküler tanısı Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgesine spesifik ITS1-4 ile ITS 4-5 primerleri (White ve ark., 1990) ile teyit edilmiştir (Çizelge 3.1). Benzer şekilde morfolojik olarak tanısı yapılan *Fusarium* spp. izolatların moleküler tanısı Internal Transcribed Spacer (ITS) (*Fusarium sambucinum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*) gen bölgesine spesifik primer çifti ile teyit edilmiştir. İzolasyonlarda en yaygın tür olan ve biyolojik mücadele çalışmalarında da kullanılan *Fusarium sambucinum* izolatının moleküler tanısı ayrıca translation elongation factor-1 α (*TEF-1 α*) gen bölgesine spesifik EF1/EF2 primer çifti (Geiser ve ark., 2004) ve second largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*) gen bölgelerine spesifik 5F2 ve 7cR primerler kullanılmak suretiyle kesin tür tanılamaları yapılmıştır (O'Donnell ve ark., 2008). Örnekleme temsili eden izolatların ITS ve *TEF-1 α* gen bölgelerine ait konsensüs dizileri NCBI GenBank veri tabanına gönderilmiştir. Taksonomik sınıflandırma ve tanılama analizleri, NCBI GenBank veri tabanından alınan farklı türlere ait sekans bilgileri ile karşılaştırılmak suretiyle gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2. Fungal etmenlerin genomik DNA'larının izolasyonu, ITS1-4 primerleri ile PCR'da çoğaltılması ve çoğaltılmış genetik materyalin elektroforez üzerinde bandların genel görünüşleri

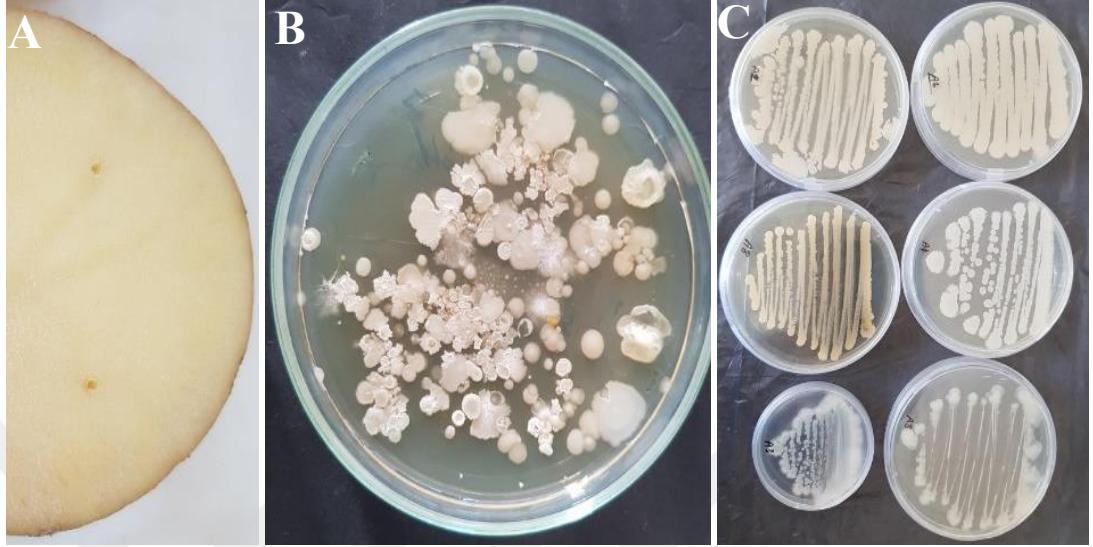
Çizelge 3.1. Fungal hastalık etmenlerin moleküler tanılama çalışmalarında kullanılan primerler ve gen dizilimleri

Bağlanma Bölgesi	Primer İsmi	DNA Uzunluğu	Gen Dizilimi (5'→3') Q- Bank
Internal Transcribed Spacers (<i>ITS</i>)	ITS1F ITS-4R ITS-5F	550-650bp	5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3' 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3' 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'
Translation Elongation Factor 1-A (<i>TEF1-α</i>)	EF1 EF2	650–700 bp	5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3' 5'- GGARGTACCAGTSATCATG-3'
Second-largest subunit of RNA polymerase (<i>RPB2</i>)	RPB2-5f RPB2-7cR	1000-1100bp	5'-GAYGAYMGWGATCAYTTYGG-3' 5'-CCCATRGCTTGYTTRCCCA-3'

3.2.7. Aday Endofit Bakterilerin İzolasyonu

Biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılan endofit bakteri izolatları hastalık sürveylerinin yapıldığı patates depolarında bulunan sağlıklı patates yumrularından elde edilmiştir. Endofit bakterilerin izolasyonu için sağlıklı patates yumruları öncelikle akan çeşme suyunda yıkanarak toprak ve diğer materyallerden arındırılmıştır. Islak yumrular kurutulmuş ve ilk olarak %70 oranındaki etil alkolde 3 dakika, akabinde %2 oranındaki NaOCl çözeltisinde 2 dakika bekletilmiş ve son olarak %70'lik etanol uygulanan yumrular steril distile su ile 5 kez durulanarak yüzey dezenfeksiyonu yapılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış patates yumruları aseptik olarak steril bistürü ile ortadan kesilmiş ve kabuk dokusuna yakın yerlerden alınan numuneler steril bir havanda 50 mM MgCl₂ tamponunda iyice ezilmiş ve 5 dakika bekletilmiştir. Bu süspansiyon sulandırılmış, akabinde King B (KB) Agar ve Tryptic Soy Bean Agar (TSA) besiyeri içeren petri kaplarına bagetlerle yayılmıştır (Şekil 3.3). Petri kapları 26°C'de 2 gün süre ile inkübe edilmiştir. Farklı besiyerlerinde gelişen ve morfolojik açıdan birbirinden farklı görünen bakteri kolonileri daha ileri tanımlama ve testler için TSA besiyerlerinde saflaştırılmıştır. Bakteri izolatları daha sonraki denemeler için kısa süreli olarak uygun

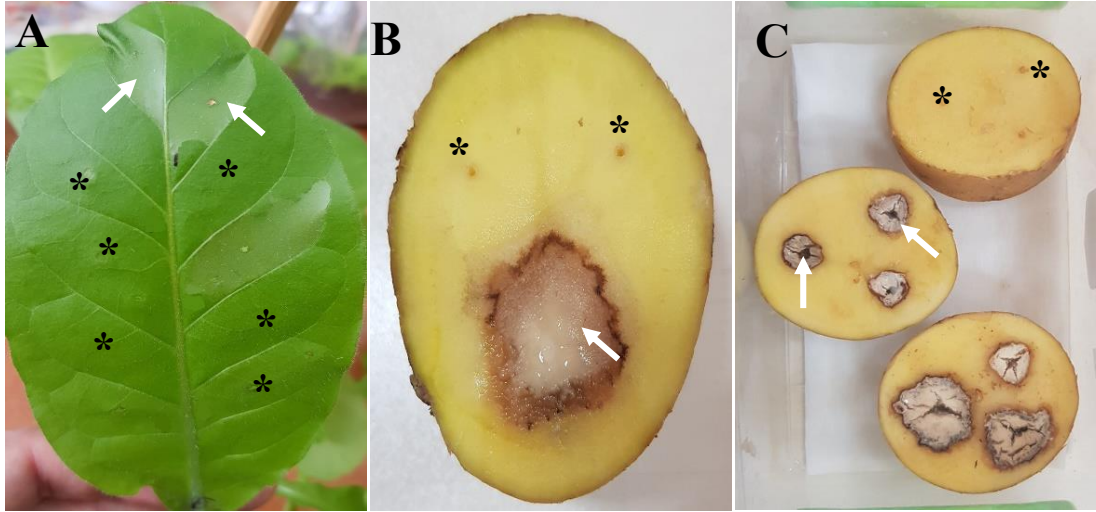
besiyeri içeren petri kaplarında veya eğik agar besiyerinde +4°C’de veya %40’lık steril gliserollü Cryo Eppendorf tüplerinde -80°C’ de saklanmıştır.



Şekil 3.3. (A) Sağlıklı patates yumruların iç dokularından gelişen farklı morfolojilere sahip endofit izolatlar (B) ve bu izolatlardan elde edilen tek koloni kültürleri (C)

3.2.8. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Seçimi

Elde edilen tüm endofit aday bakteri izolatları tütün bitkilerinde aşırı duyarlılık (HR) ve patates yumuşak çürüklük testine tabi tutulmuştur (Şekil 3.4). TSA besiyerindeki 2 günlük aday bakteri izolatları ve Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyonu Merkezinden temin edilen ve tanılması yapılmış bir fitopatojen olan *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* izolatının süspansiyonları steril 50 mM MgCl₂ tampon çözeltisindeki 10⁸ hücre/ml yoğunlukta hazırlanmıştır. Her izolata ait süspansiyon steril bir enjektör ile 8 haftalık genç tütün (*Nicotiana tobaccum*) yaprağının damar aralarının alt bölgelerine enjekte edilmiştir. İnokulasyon, her bir bakteri izolatu bir damar aralığına gelecek şekilde, izolatlar arasında bir damar boşluk bırakılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4A). İnokulasyondan 24-48 saat sonra inoküle alanındaki nekrotik lezyon oluşumu pozitif (bitki patojeni) olarak kabul edilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).



Şekil 3.4. Elde edilen tüm endofit aday bakteri izolatlarla yapılan (A) tütün bitkilerinde aşırı duyarlılık (HR) ve (B-C) patates yumuşak çürüklük testleri. Tütün yaprağında ve patates dilimleri üzerinde inokulasyon noktalarında bitki patojeni olarak değerlendirilen izolatların tipik hastalık belirtileri (ok). Belirti oluşturmayan (*) izolatlar aday endofit bakteriler olarak kullanılmıştır

Tütün yapraklarında HR'ye neden olmayan aday endofit bakteri izolatları ayrıca patates dilimleri üzerinde yumuşak çürüklük testlerine tabi tutulmuştur. İlk olarak sağlıklı patates yumruları %3'lük NaOCl içinde 1 dakika bekletilerek dezenfekte edilmiştir. Daha sonra steril bir bisturi vasıtasıyla 2 cm genişliğinde enine kesilmiştir. Patates dilimleri daha sonra, altında steril ıslak filtre kağıdı bulunan plastik saklama kapları içinde bulunan steril petri kapaklarına üzerlerine yerleştirilmiştir. Patates dilimlerinin yüzeylerine tütün yapraklarında negatif sonuç veren izolatlara ait 1 günlük bakteri kültüründen steril kürdan ile alınan süspansiyonları bulaştırılmıştır. Enfekte edilmiş dilimleri içeren petri kapları 26°C'de 2 gün süre ile inkübasyona bırakılmış ve inokülasyon bölgeleri çürüme açısından değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Yumuşak çürüklük testlerinde Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyonu Merkezi'nden elde edilen *Pectobacterium caratovorum* subsp. *caratovorum* izolatları pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Şekil 3.4B,C).

Hem tütün yapraklarında aşırı duyarlılık (HR), hem de patates dilimleri üzerinde yumuşak çürüklük testlerinde negatif (-) sonuç veren izolatların insan patojeni olup olmadığını belirlemek için, izolatlar TSA besiyerinde çizildikten sonra 37°C'de en az 48-72 saat boyunca inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonunda besi yeri üzerinde gelişme göstermeyen bakteri izolatları biyolojik mücadele etkinlik çalışmalarında “aday endofit antagonist bakteri izolatları” olarak kullanılmıştır.

3.2.9. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Tanılanması

Tütün bitkilerinde HR, patates yumuşak çürüklük ve 37°C'de gelişim testlerinde negatif sonuç veren aday bakteri izolatlarının tür tanılanması MALDI-TOF cihazı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) ve bu cihaz için geliştirilen yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Aktan ve Soylu, 2020).

Aday endofit bakteri izolatları TSA (Tryptic Soy Agar) besiyerinde 1-2 günlük sürede geliştirildikten sonra, tek bakteri kolonilerinden kürdan vasıtasıyla bir miktar (5-10 mg) bakteri kütlesi alınıp eppendorf tüplerine aktarılmış ve üzerine 300 µl deiyonize steril su eklendikten sonra vortekslenmiştir. Bu tüplere daha sonra 900 µl saf etanol (Merck, Damstrad, Germany) eklenip akabinde karışım 2 dakika boyunca maksimum hızda (13.000 rpm) santrifüj edilmiştir. Tüpler içinde dibe çöken bakteri hücreleri kullanılması için tüpün üst kısmındaki sıvı (süpernatant) uzaklaştırıldıktan sonra dipte kalan pellet maksimum hızda (13.000 rpm) 1 dk boyunca tekrar santrifüj edilmiştir. Tüpteki etanol kalıntısı (varsa) mikro pipetle uzaklaştırıldıktan sonra pellet oda sıcaklığında yaklaşık 5 dakika boyunca kuruması için bekletilmiştir (EtOH'ün tamamen uzaklaştırılması önemlidir). Kuruyan pellet üzerine 30 µl %70'lik formik asit eklenmiş ve tekrar 1 dakika boyunca vortekslenmiştir. Vortekslenmiş tüpteki 30 µl %70'lik formik asit üzerine aynı hacimde (30 µl) acetonitril ilave edilmiş ve karışımındaki pelletin dibe çökmesi için maksimum hızda (13.000 rpm) 2 dk boyunca tekrar santrifüj edilmiştir. Akabinde, üst sıvı fazdaki (süpernatant) numune mikropipet ile 1 µl alınarak MALDI-TOF örnek plakasındaki noktalara iki tekerrürlü olarak eklendikten sonra oda sıcaklığında 3-5 dakika civarında kurumaya bırakılmıştır. Son olarak, kuruyan numuneler üzerine 1 µl HCCA matrix çözeltisi eklenip analiz için oda sıcaklığında tekrar 2-3 dakika boyunca kurutulmuştur.

Örnek plakası akabinde MALDI-TOF MS (Microflex LT; Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) cihazına yüklenmiştir. Cihaz, numuneyi iyonize etmek için gerekli olan minimum 500 lazer ışını ile çalıştırılmıştır. Spektrumlar 2-20 kDa aralığında m/z (kütle/yük) oranları ile analiz edilmiştir. Bakteriyel izolatların kesin tür tanılamalarında BIOTYPER™ 1.1 yazılımı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) kullanılmıştır.

3.2.10. Biyolojik Mücadele ve Etki Mekanizmalarının Belirlenmesine Yönelik Çalışmalarda Kullanılan Besi Yerleri ve İçerikleri

Çalışmada kullanılan tüm besiyerleri uygulamadan önce 121°C'de 15 dakika süreyle steril edilmiştir. Bakteriyel etmenlerin izolasyonu, teşhisi ve fungal etmenleri engellemede kullandıkları olası etki mekanizmalarının tespit edildiği çalışmalarda kullanılan besiyerleri (Nutrient Agar [NA], Luria Bertani [LB] Broth, King's B Agar [KB], Trypic Soybean Agar [TSA]) ticari olarak (Merck, Darmstadt, Germany) satın alınmıştır. Fungal etmenlerinin misel gelişiminin engellenmesi çalışmalarında kullanılan ikili kültür biyokontrol etkinlik çalışmalarında Patates Dekstroz Agar (PDA besiyeri) kullanılmıştır. Antagonist ve PGPB endofit bakterilerin etki mekanizmalarından proteaz enzim aktiviteleri için Skimmed Milk Powder +%2 LBA (SMLBA), siderofor üretimi için Crom Azurol S (CAS) ve fosfor çözünürlüğü için Pikovskaya Agar (PVK) besiyerleri hazırlanarak kullanılmıştır.

3.2.11. Endofit Bakteri İzolatlarının Fungal Etmenlerin Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine Antifungal Etkinliklerinin *in vitro* Koşullarda Belirlenmesi

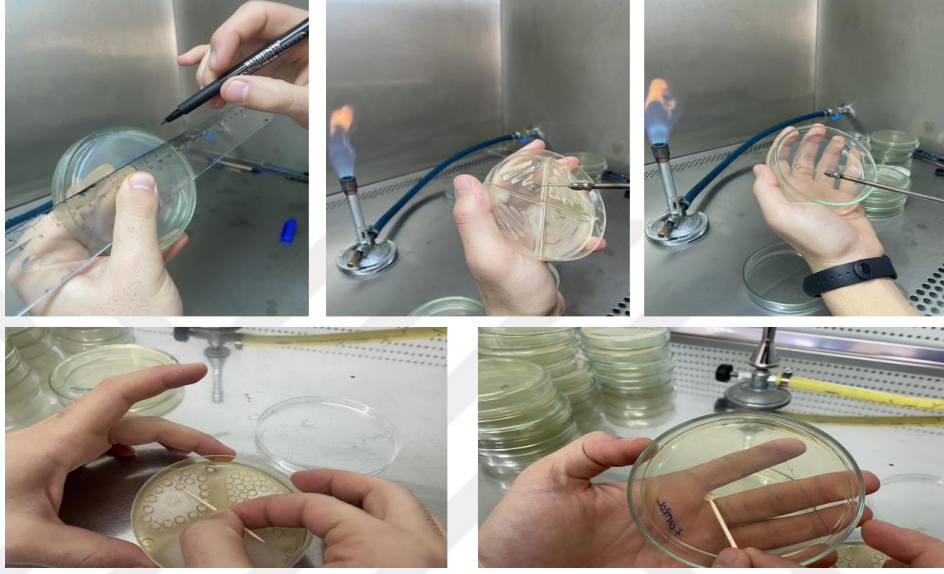
Sağlıklı patates yumrularından elde edilen aday endofit bakteri izolatlarının bölgede yaygın olan fungal etmenlerin misel gelişimini engelleme yeteneği (antagonistik), daha önce bildirildiği gibi 90 mm çapındaki PDA olan petri kaplarında ikili kültür testleri ile belirlenmiştir (Soylu ve ark., 2020).

Patates yumuşak çürüklük ve tütün HR testlerinde negatif sonuç gösteren aday endofit bakteri izolatları çizgi ekim metodu kullanılarak petri kabının üstten 2 cm geriye doğru düz çizgi şeklinde çizildikten sonra 25°C'de 2 gün boyunca ön ünkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen bakteri izolatının 4 cm gerisine 5 günlük fungus kültüründen alınan 6 mm çapındaki misel diski yerleştirilmek suretiyle ikili kültür petrilere hazırlanarak 25°C'de tekrar inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.5).

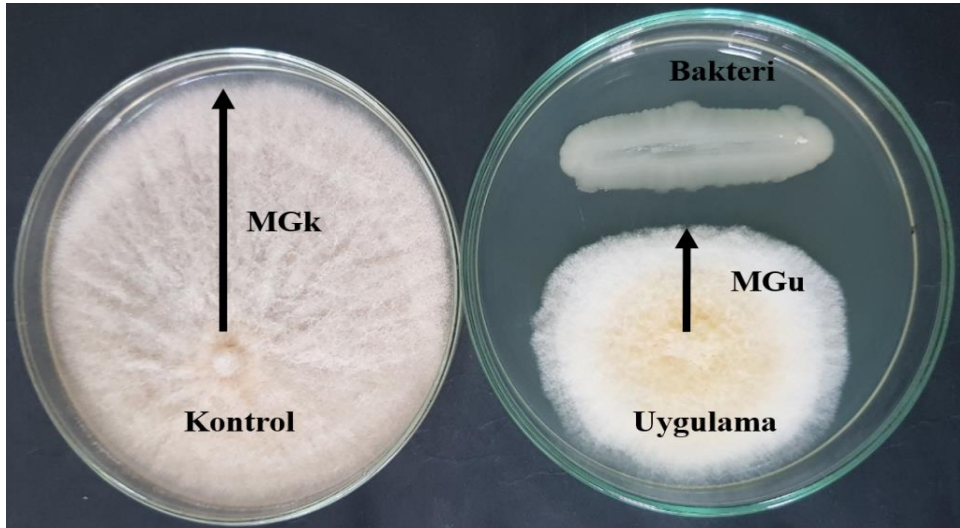
Kontrol petrilere bakteri izolatu çizilmeden sadece 5 günlük fungal kültüründen alınan 6 mm çapındaki misel diski yerleştirilmiştir. Patojenler kontrol petri kabını tamamen kapladıktan sonra (fungal türlere bağlı olarak 4-7gün sonra), bakterilere doğru yönelen fungusların misel gelişimi (MGu) bakteri çizilmiş petri kaplarında ölçülmüş

(Şekil 3.6) ve kontrol petri kaplarındaki misel gelişime (MGk) kıyasla aşağıda verilen % Abbott formülüne (Formül 3.2) göre engelleme olarak hesaplanmıştır (Soylu ve ark., 2020). Her bakteri-fungus kombinasyonu için ölçümler 3 farklı petri kabında yapılarak deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir.

$$\text{Misel Gelişimini Engellenme (MGE) Oranı (\%)} = \left(\frac{\text{MGk} - \text{MGu}}{\text{MGk}} \right) * 100 \quad (3.2)$$



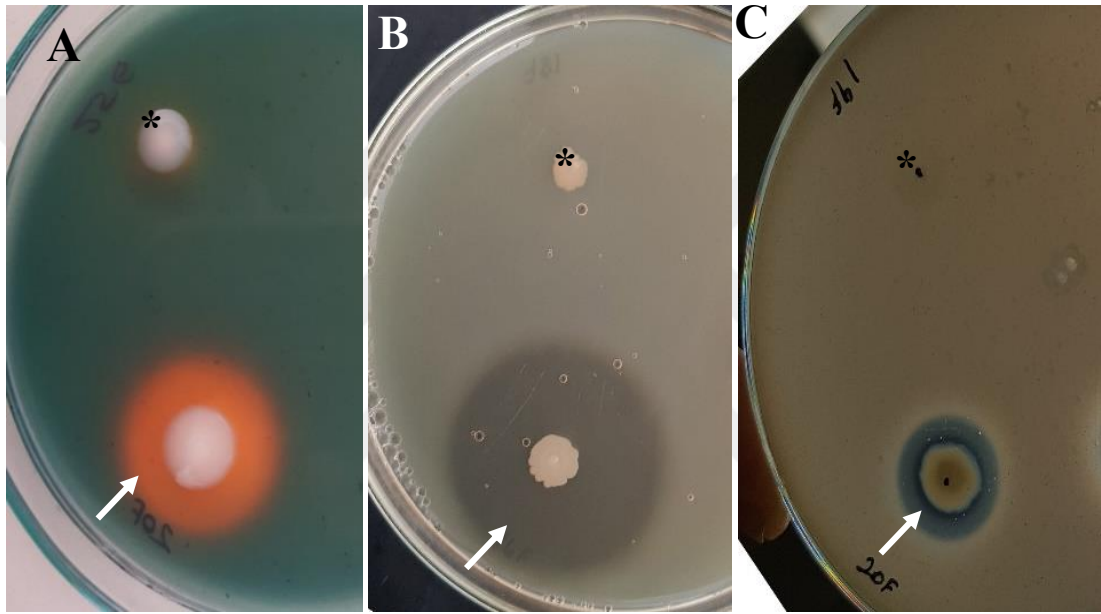
Şekil 3.5. Endofit bakteri izolatları ile fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimi üzerine antagonistik etkinliklerinin belirlenmesi için yapılan *in vitro* ikili kültür testleri



Şekil 3.6. Endofit bakteri izolatlarının *in vitro* ikili kültür testleri ile fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimi üzerine antagonistik etkinliklerinin belirlenmesi

3.2.12. Endofit Bakteri İzolatlarının Antagonistik ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Belirlenmesi

Aday endofit bakteri izolatlarının antagonistik ve bitki gelişimini teşvik etmede rol oynayan mekanizmalardan siderofor üretimi krom azulol S (CAS); proteaz enzim üretimi yağı alınmış süt tozu (Skimmed Milk) içeren Luria Broth Agar besiyeri (SMLBA) ve fosfor çözme etkinlikleri ise trikalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besiyeri içeren petri kaplarında daha önceden bildirilen yöntemlere göre belirlenmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. Antagonist bakteri izolatlarının (A) siderofor, (B) proteaz ve (C) fosfor çözme potansiyellerinin özel besi yerlerinde belirlenmesi. Etkinlik gösteren izolatların etrafında oluşturulan temizleme bölgeleri (clear zone) (ok) olarak gözlenmiştir. Etkinlik göstermeyen izolatların etrafında herhangi bir engellenme bölgesi oluşmamıştır (*)

3.2.12.1. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Siderofor Oluşturma Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday endofit bakteri izolatlarının siderofor oluşturma potansiyelleri Schwyn ve Neilands (1987) tarafından bildiridiği gibi krom azulol S (CAS) boyası içeren Agar besiyerinde belirlenmiştir. Test edilen bakteri izolatının 2 günlük taze kültürlerinden steril kürdanlarla alınan inokulum CAS Agar besiyerine nokta şeklinde inokule edildikten sonra 26°C'de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnokulasyondan sonra, bakteri kolonisinin etrafında oluşan sarı-turuncu temizleme bölgesi siderofor üretimi için pozitif

kabul edilmiştir (Şekil 3.7A). Her izolat için oluşan temizleme bölgesi ve bakteri kolonisinin çapı ölçülerek Siderofor çözünürlük indeksi (S-indeksi) aşağıdaki formüle (Formül 3.3) göre hesaplanmıştır (Ullah ve ark., 2017).

$$\textbf{Siderofor Etkinlik İndeksi (Sid – indeksi)} = \frac{\text{Temizlenen Bölge Çapı}}{\text{Bakteri Koloni Çapı}} \quad (3.3)$$

Her bakteri izolatu açısından 3 farklı petride ölçümler yapılmış, çalışma farklı zamanda 2 kez tekerrür edilmiştir. Fitopatojen *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* izolatu da çalışmalarda pozitif kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.2.12.2. Aday Bakteri İzolatlarının Proteaz Enzim Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday endofit bakteri izolatlarında proteaz enzimi üretme potansiyeli %2 yağı alınmış süt tozunun (Skimmed Milk) içeren Luria Broth Agar besiyeri (SMLBA) içeren petri kaplarında belirlenmiştir (Perneel ve ark., 2007). Test edilen bakteri izolatlarının 2 günlük kültürlerinden steril bir kürdan yardımıyla alınan inokulumları SMLBA besiyerine nokta şeklinde inokule edildikten sonra 26°C'de 3 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnokulasyondan sonra bakteri kolonisinin etrafında oluşan şeffaf temizleme bölgesi, bakterinin proteolitik üretme potansiyeli yönünden pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.7B). Bakteri kolonisi etrafında temizleme bölgesi çapı ve bakteri koloni çapına bölünmek suretiyle her bir izolatın proteolitik etkinlik indeksi (Pro-indeks) aşağıdaki formüle (Formül 3.4) göre hesaplanmıştır (Ullah ve ark., 2017).

$$\textbf{Proteaz Etkinlik İndeksi (Pro – indeksi)} = \frac{\text{Temizlenen Bölge Çapı}}{\text{Bakteri Koloni Çapı}} \quad (3.4)$$

Her bakteri izolatu açısından 3 farklı petride ölçümler yapılmış, çalışma farklı zamanda 2 kez tekerrür edilmiştir. Fitopatojen *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* izolatu da çalışmada pozitif kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.2.12.3. Aday Endofit Bakteri izolatlarının Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday endofit bakteri izolatlarının bağlı fosforu çözme etkinliği trikalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besiyeri içeren petri kaplarında belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2012). Test edilen bakteri izolatının 2 günlük taze kültüründen steril bir kürdan vasıtasıyla alınan inokulum PVK agar besiyerine nokta inokulasyon yöntemi ile inokule edildikten sonra 7 gün boyunca 26°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan sonra bakteri kolonisinin etrafında ortaya çıkan şeffaf temizleme bölgesi bakterinin fosforu çözme kapasitesi yönünden pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.7C). Her bir izolat için oluşan engelleme bölgesi ve bakteri kolonisinin çapı ölçülerek Fosfor çözme indeksi (F-indeksi) aşağıdaki formüle (Formül 3.5) göre hesaplanmıştır (Ullah ve ark., 2017).

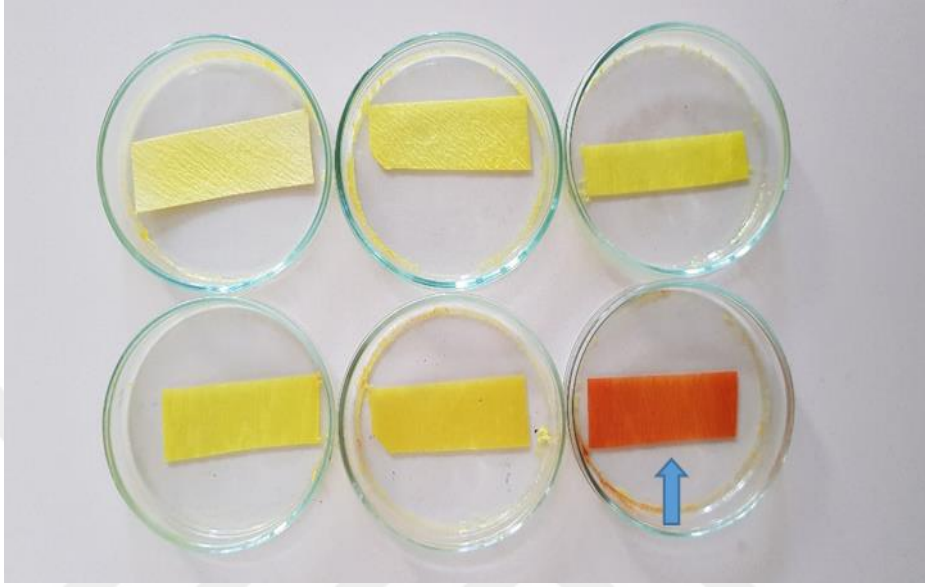
$$\text{Fosfor Çözme İndeksi (F – indeksi)} = \frac{\text{Temizlenen Bölge Çapı}}{\text{Bakteri Koloni Çapı}} \quad (3.5)$$

Her bakteri izolatı açısından 3 farklı petride ölçümler yapılmış, çalışma farklı zamanda 2 kez tekerrür edilmiştir. Fitopatojen *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* izolatı da çalışmalarda pozitif kontrol amacıyla kullanılmıştır.

3.2.12.4. Aday Bakteri izolatlarının Hidrojen Siyanür (HCN) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday antagonist bakteri izolatlarının besi yerinde HCN üretme potansiyelleri (siyanojenik) Bakker ve Schippers (1987) tarafından bildirilen yöntemlere göre belirlenmiştir. Tek koloniden geliştirilmiş saf aday bakteri izolatı (2 günlük) steril bir öze yardımıyla 6 cm'lik küçük cam petrilere dökülmüş 4.4 gr/L glycine içeren TSA besi yeri yüzeyine çizgi yöntemi ile çizilmiştir. Steril filtre kağıtları 1 cm eninde ve 3 cm boyunda dikdörtgen şeritler halinde kesilerek yaklaşık 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 ıslatılarak petri kabının kapak kısmına koyulmuş ve 3-5 gün boyunca 26°C de inkübe edilmiştir. HCN üretiminin tespiti pikrik asit süspansiyonu ile ıslatılmış filtre kâğıtlarının beyaz/açık sarı renkten turuncu kahverengi veya koyu kırmızıya dönüşmesi (Şekil 3.8) ile anlaşılmıştır (Bakker ve Schippers, 1987). Beyaz/açık

sarı renkli filtre kâğıdının açık kahverengiye, kahverengiye veya kırmızımsı kahverengiye değişim, sırasıyla zayıf, orta veya güçlü siyanojenik potansiyelin bir göstergesi olarak kaydedilmiştir. Aşılanmış plakadan elde edilen sonuçlar, karşılık gelen kontrol petrilerle (bakterisiz) ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.8. Antagonist bakterilerin glycine ihtiva eden 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

3.2.12.5. Aday Bakteri izolatlarının Amonyak (NH₃) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının amonyak (NH₃) üretim kapasitesi Nessler çözeltisi içerisinde belirlenmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992). Bakteri izolatının taze kültüründen steril bir kürdan vasıtasıyla alınan inokulum steril 5 ml peptonlu su içeren cam tüplere inoküle edilmiştir. Cam tüpler 200 rpm'ye ayarlanmış inkübatörlü orbital çalkalayıcı üzerinde 26°C de 96 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda sıvı ortamda çoğalan bakteri süspansiyonundan 1.5-2 ml alınarak eppendorf tüplere konulmuş, tüpler daha sonra mikro santrifüj ile 13.000 rpm de 10 dakika süre ile santrifüje bırakılmıştır. Üstte kalan süpernatanttan 1 ml temiz eppendorf tüplerine aktarılmış olup üzerlerine 50 µl Nessler çözeltisi eklenmiştir. Antagonist bakterilerin peptonlu su içerisinde ürettiği amonyak oluşumu Nessler çözeltisi eklenmesiyle ortam renginin açık sarıdan kahverengiye ve koyu sarıya değişmesiyle belirginleşmiştir (Şekil

3.9). Besi yerinde üretilen amonyak miktarı sıvı besiyeri renginin koyuluğuna bağlı kalitatif olarak (-, ±, +, ++, +++ şeklinde) kayıt edilmiştir. Kontrol olarak besiyeri (K1) ve bitki patojeni bakterinin inokule edildiği (K2) 2 farklı ependorf tüpü kullanılmıştır.



Şekil 3.9. Antagonist bakteri izolatlarının peptonlu su içeren besiyerinde amonyak (NH₃) üretme kapasitelerinin belirlenmesi. K₁:bakterisiz besiyeri, K₂: amonyak üretimin olmadığı bitki patojeni bakteri izolatı içeren besiyerlerinde görülen renk değişimleri

3.2.12.6. Aday Bakteri İzolatlarının İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

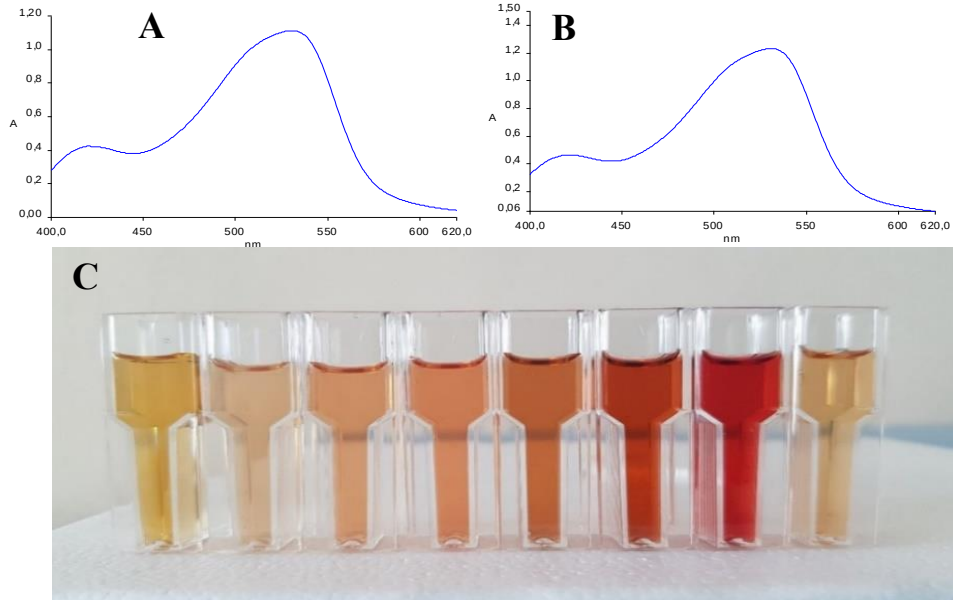
Aday antagonist bakteri izolatlarının besiyerinde IAA üretme potansiyelleri Salkowski yöntemi (Glickman ve Dessaux, 1995) ile belirlenmiştir. Aday bakteri türlerine ait izolatlar, *in vitro* antagonist etkinlik değerleri, izole edildikleri bölgeyi, bitki örneğini temsil edecek şekilde, aynı veya farklı türlere ait olarak seçilmiştir. L-tryptophan (3 mg/ml) içeren 5 ml steril LB besiyerine tek koloniden geliştirilmiş saf aday bakteri izolatı (2 günlük) kültüründen hazırlanan 500 µl bakteri süspansiyonu (10⁸ hücre/ml konsantrasyonda) eklenmiştir. L-tryptophan ihtiva etmeyen LB sıvı besiyeri kontrol uygulaması olarak değerlendirilmiştir.

Bakteri izolatı ile bulaştırılmış sıvı besiyeri ihtiva eden tüpler, 200 rpm'ye ayarlanmış inkübatörlü orbital çalkalayıcı üzerinde 30 °C de 96 saat boyunca inkübasyona

bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda sıvı besi yerinde gelişmiş süspansiyonundan 2 ml alınarak steril eppendorf tüplerine konulmuş ve tüpler 5000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant'dan 1 ml alınarak steril başka bir temiz eppendorf tüplerine aktarılmış ve üzerlerine 2 damla (yaklaşık 40 µl) fosforik asit eklenmiştir.

Süpernatant karışımın tamamı 2 ml Salkowski çözeltisi (150 ml %98'lik H₂SO₄, 250 ml distile steril su ve 7.5 ml 0.5 M FeCl₃·6H₂O) içeren steril cam tüplere aktarılmış olup 25°C'de 30 dakika karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. İnkübatörler içerisinde bekletilen tüplerde IAA oluşumu, Salkowski solüsyon renginin açık sarıdan oluşturulan IAA konsantrasyonuna bağlı olarak pembe-kırmızı rengine dönüşmesiyle belirlenmiştir (Şekil 3.10C).

Antagonist bakteri izolatlarınca Salkowski solüsyon içerisinde üretilen IAA miktarı 535 nm dalga boyuna ayarlanmış bir UV-vis spektrofotometre (Perkin Elmer, Lambda 25, ABD) yardımıyla ölçülmüştür (Patten ve Glick, 2002). Ölçülen absorbans değerleri, daha önceden hazırlanmış standart IAA (Merck, Darmstadt, Germany) konsantrasyonlara ait absorbans değerleri ile karşılaştırılarak µg/ml seviyesine dönüştürülmüştür (Şekil 3.10). Bitki patojeni olan *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* izolatları da pozitif kontrol amacıyla kullanılmıştır.



Şekil 3.10. Antagonist bakterilerin tryptophane içeren LB besi yerinde IAA üretimi. (A) Saf IAA spektrumu, (B) Antagonist bakteri izolatu tarafından üretilen IAA spektrumu, (C) Farklı konsantrasyonlardan oluşan ve IAA miktarının belirlenmesinde faydalanılan IAA standartlarının renk değişimi (sarı renkten koyu kırmızı-pembe)

3.2.13. Endofit Bakterilerin Yarı *in vivo* Hastalık Çıkışının Engellenmesine Üzerine Olan Etkilerinin Belirlenmesi

In vitro koşullarda misel gelişimini güçlü düzeyde engelleyen bakteri izolatları arasından temsili olarak seçilen 6 farklı *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1, *Bacillus thuringiensis* FKB3, *Bacillus cereus* FKB5, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10, *Bacillus subtilis* FKB24 ve *Bacillus atrophaeus* FKB36 izolatların yarı *in vivo* biyokontrol etkileri sörveylerde en yaygın fungal hastalık etmeni olarak belirlenen *F. sambucinum* ve *G. candidum* hastalık etmenlerine karşı araştırılmıştır. *In vitro* koşullarda çalışılan *C. coccodes* etmeni tarafından oluşturulan enfeksiyonun uzun sürmesi nedeniyle çalışmalara dâhil edilmemiştir. Yarı *in vivo* etkinlik çalışmalarında antagonist bakteri izolatlarının “koruyucu” ve “tedavi edici” olmak üzere 2 farklı biyokontrol etkinliği araştırılmıştır.

Steril su ile yıkandıktan sonra yüzey dezenfeksiyonu yapılmış orta büyüklükte 8 adet sağlıklı patates yumruları (cv Fontane) tabanında steril nemli filtre kağıdı içeren şeffaf plastik saklama kutularına (6 lt kapasiteli, 36.5x24x12 cm) birbirine temas etmeyecek şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 3.11A). Her bir patates yumruları üzerinden mantar delici ile 3 adet 5 mm çapında 2-4 mm derinliğinde doku diskleri çıkartılmıştır.

Antagonist bakterilerin “koruyucu etkinin” belirlenmesi amacıyla (1. Grup örnekler) 3 yumru üzerinde açılan disk çukurlarına önce 10^7 hücre/ml konsantrasyonunda bakteri süspansiyonu (100 µl) konulmuş, çıkartılan üst sağlıklı patates dokusu tekrar yerleştirildikten sonra şeffaf plastik saklama kutuları içerisinde 2 gün ön inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.11B).

Antagonist bakterilerin “tedavi edici” etkilerinin belirlenmesi amacıyla (2. Grup örnekler) 3 yumru üzerinde açılan disk çukurlarına 10^7 hücre/ml konsantrasyonunda bakteri süspansiyonu (100 µl) eklenmiş, 1 saat steril kabin içerisinde bekletilmiştir.

İki farklı uygulama yapılmış yumrular üzerinde bakteri süspansiyonlarının eklendiği disk çukurlarına 5 günlük taze fungus kültüründen alınan 5 mm çapında misel diskleri konularak, üzerleri sağlıklı patates diskleri (5 mm çapında) yerleştirilmiştir. Negatif kontrol uygulamasında patates yumrularına steril su/steril PDA diski uygulanmıştır (Şekil 3.11C). Pozitif kontrol için steril su uygulanmış çukurlara 5 günlük taze fungus kültüründen alınan 5 mm çapında misel diskler yerleştirilmiştir. Uygulama yapılmış tüm yumrular şeffaf streç film ile sarılarak yeterli nem ortamı sağlanmıştır.

İnokulasyonu yapılan patates yumruları içeren plastik saklama kapları streç film ile sarıldıktan sonra daha sonra 24°C ayarlı 16:8 aydınlık/karanlık foto periyota sahip inkübatörlere yerleştirilip 30 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.11D,E). Uygulama yapıldıktan 15 ve 30 gün sonra, tüm patates yumruları hastalık gelişimi açısından incelenmiş ve inoküle edilen bölgelerdeki çürüklük alan çapları ölçülerek pozitif kontrol (sadece patojen inoküle edilmiş) uygulamaları ile karşılaştırılmıştır (Şekil 3.11F).



Şekil 3.11. *In vitro* antagonistik etki gösteren bakteri izolatları arasından yüksek etkili olan izolatlar ile yapılan yarı *in vivo* biyokontrol etki çalışmaları. (A) Sağlıklı yüzey dezenfeksiyonu yapılmış yumrular, (B) Saklama kaplarına yerleştirilip bakteri izolatlarının uygulanması, (C) Fungal hastalık etmenlerin bakteri uygulaması yapılan yerlere inokulasyonu, (D-E) Uygulama yapıldıktan sonra yetiştirme odalarında inkübasyona bırakılmıştır. (F) Uygulama yapıldıktan 15 gün sonra yumrular üzerinde gelişen lezyonların değerlendirilmesi.

Bakteri izolatların patates yumrularındaki uygulama alanlarında lezyon gelişimini engellemedeki % biyokontrol etkinliği, kontrol yumrularındaki lezyon çaplarının (LÇk) bakteri uygulamalarının yapıldığı yumrulardaki (LÇu) lezyon çaplarına kıyaslanarak % Abbott Formülü ile hesaplanmıştır (Formül 3.6). Pozitif kontrol: steril su ve fungus miseli uygulanmış patates yumruları; negatif kontrol: steril su ve PDA diski uygulanmış patates yumrular olarak kabul edilmiştir. Yarı *in vivo* çalışmalar en az iki kez tekrarlanmıştır.

$$\text{Lezyon Gelişiminin Engellenme Oranı (\%)} = \left(\frac{LÇk - LÇu}{LÇk} \right) * 100 \quad (3.6)$$

3.2.14. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Gerek *in vitro* gerekse *in vivo* etkinlik çalışmaları tesadüf parselleri deneme desenine göre oluşturulmuştur. Çalışmada her bakteri izolatının *in vitro* etkinlik çalışmaları 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş, denemeler en az iki kez tekrarlanmıştır. *In vitro* ve *in vivo* etkinlik çalışmalarında elde edilen değerler (misel gelişim uzunlukları, mekanizma indeks değerleri, yumrulardaki lezyon çapları) % oranlarına çevrilmeden SPSS istatistik programından (SPSS Statistics for Windows, Version 17.0; SPSS, 2008) faydalanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve izolatlar/fungal etmenler arasındaki farklılık Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile analiz edilmiştir ($P \leq 0.05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Hastalık Sörveyi

Sörveyler Konya İl Tarım ve Orman Müdürlüğünden temin edilen 2020 yılı patates üretim depo kayıtlarına göre bölgeyi temsil edecek şekilde Ereğli, Karapınar, Altınekin, Seydişehir ve Meram ilçelerindeki patates yumrularının depolandığı tesislerde yürütülmüştür (Şekil 4.1). Sörvey çalışmalarında depolanan yumruların çeşitleri, depo koşulları, depolanan patates çeşitlerinin kullanım amaçları (tohumluk, sanayilik, cipslik, yemeklik vs) ile ilgili bilgiler kaydedilmiştir. Depo sorumluları ile önceden temasa geçilerek örnek alınması için uygun dönemler belirlenmiştir. Sörveyler hastalık yaygınlığının görülmesi için en uygun zamanlar olan yeni üretim sezonu öncesi patates tohumluluklarının depodan çıkarıldığı ve ayıklamanın yapılacağı dönemlerde yapılmıştır. Bu plana uygun olacak şekilde; 1. Sörvey Altınekin ilçesinde 06.03.2021 tarihinde, 2.sörvey 22.04.2021 tarihinde Ereğli ve Karapınar ilçelerinde, 3. Sörvey 23.04.2021 tarihinde Meram ilçesinde, 4. Sörvey 24.04.2021 tarihinde Altınekin ilçesinde ve 5.sörvey 12.06.2021 tarihinde Seydişehir ilçesinde yapılmıştır (Şekil 4.1). Patates yumrusu örnekleri Bora ve Karaca (1970)'nin bölümlü örnekleme metoduna göre alınmıştır. Her depo 10 örnekleme noktasına bölünmüş ve her noktadan 50 olmak üzere toplam 500 patates yumrusu hastalık belirtisinin varlığına göre makroskopik olarak kontrol edilmiştir. Her depoda o depoyu temsil eden benzer hastalık belirtilerine sahip patates yumruları hastalık etmenlerinin izolasyonları için alınmış, kodlama yapılmış ve kâğıt torbalarda etiketlenmiştir.

Yapılan 1. sörveyde Altınekin ilçesinde 43, 2. sörveyde Ereğli ve Karapınar ilçelerinde toplam 68, 3. sörvey çalışmasında Meram ilçesinde 42, 4.sörveyde Altınekin ilçesinde 42 ve 5.sörvey çalışmasında Seydişehir ilçesinde ise 31 adet olmak üzere farklı belirtinin gözlemlendiği toplam 226 adet şüpheli patates yumrusu örnekleri alınmıştır. Örnek alınırken patates fungal hastalık etmenlerinin belirtileri dikkate alınmış olup bakteriyel enfeksiyondan kaynaklı yumuşak çürüklük belirtileri gösteren yumrular fungus kaynaklı hasta yumrularından ayrı bir şekilde örneklendirilmiştir. Tüm örnek etiketlerinde tarih, yer, depo alanı, örneğin alındığı deponun sahibinin adı, biliniyorsa ürünün geldiği tarlanın sahibinin adı, tarla bilgileri ve toprak yapısı, patates çeşidi ve bir önceki yıl o tarlada yetiştirilen bitkiler kaydedilmiştir. Makroskopik gözlemlerde depolardaki yumrular

üzerinde hastalık belirtileri etmeni tam belirlenmemiş olsa da rastlama sıklık oranları belirtilere göre kaydedilmiştir (Çizelge 4.1). Depolarda hastalıkla belirtilerinin gözlemlendiği yumruların bulunuş oranı %5.4 ile en düşük Ereğli, en yüksek bulunuş oranı ise %7.4 ile Altınekin ilçesindeki depolarda kayıt edilmiştir. Seydişehir ilçesinde yumruların daha uzun süre ile depolanmalarından kaynaklı olarak bakteriyel etmen kaynaklı yumuşak çürüklük hastalık belirtileri daha yaygın olarak gözlenmiştir. Çalışmalarımızın amacı fungal kökenli hastalıklara yönelik olması nedeniyle bakteriyel kökenli yumuşak çürüklük belirtisi gösteren yumrular değerlendirme dışı bırakılmıştır. Sörvey yapılan depolardan farklı hastalık belirtisi gösteren yumrular ayrı kese kağıtlarına konulmuş ve en kısa sürede hastalıklı yumrulardan fungal etmenlerin izolasyon işlemlerine başlanmıştır (Şekil 4.2).

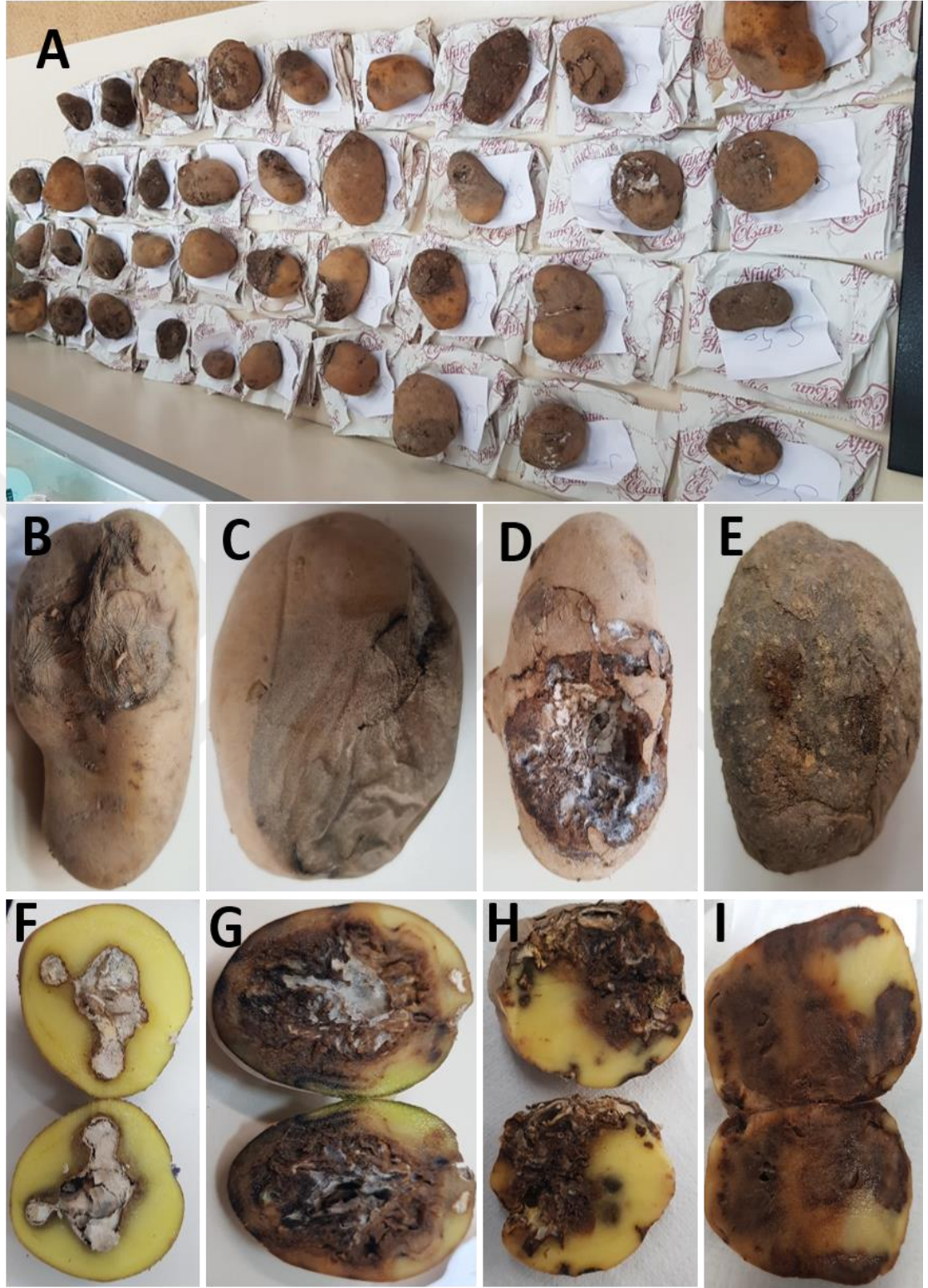


Şekil 4.1. Konya ilinde farklı patates depolama ve taşıyıcı sistem tipleri. (A) Modern Depolar, (B) Volkanik Kaya Depolar, (C ve D) Depolarda patates ayıklama ve taşıyıcı sistemleri

Çizelge 4.1. Konya ilinin farklı ilçelerindeki önemli patates depolarında yapılan sörveyler, hastalıklı yumru bulunma oranı, alınan örnek sayısı ve elde edilen izolat sayısı

İlçe	Sörvey Tarihi	HYBO (%)	HYS (adet)	EFİS (adet)	Fungal Türler ve izolat Sayısı
Altınekin	06.03.2021	6.6	43	33	<i>Fusarium</i> spp. (18) <i>R. solani</i> (2) <i>G. candidum</i> (3) <i>M. phaseolina</i> (1) <i>R. stolonifer</i> (5) <i>Penicillium</i> spp. (4)
Ereğli	22.04.2021	5.4	33	27	<i>Fusarium</i> spp. (14) <i>G. candidum</i> (2) <i>A. alternata</i> (2) <i>B. cinereae</i> (2) <i>C. coccodes</i> (2) <i>R. stolonifer</i> (3) <i>A. niger</i> (2)
Karapınar	22.04.2021	6.2	35	31	<i>Fusarium</i> spp. (19) <i>R. solani</i> (3) <i>G. candidum</i> (2) <i>B. cinereae</i> (2) <i>C. coccodes</i> (1) <i>Penicillium</i> spp. (2) <i>A. niger</i> (2)
Meram	23.04.2021	7.0	42	35	<i>Fusarium</i> spp. (18) <i>R. solani</i> (3) <i>G. candidum</i> (2) <i>A. alternata</i> (3) <i>B. cinereae</i> (2) <i>R. stolonifer</i> (5) <i>A. niger</i> (2)
Altınekin	24.04.2021	7.4	42	34	<i>Fusarium</i> spp. (14) <i>G. candidum</i> (2) <i>A. alternata</i> (5) <i>M. phaseolina</i> (3) <i>R. stolonifer</i> (5) <i>Penicillium</i> spp. (5)
Seydişehir	12.06.2021	5.6	31	28	<i>Fusarium</i> spp. (13) <i>R. solani</i> (4) <i>B. cinereae</i> (1) <i>M. phaseolina</i> (1) <i>C. coccodes</i> (3) <i>Penicillium</i> spp. (2) <i>A. niger</i> (4)
TOPLAM			226	188	

HYBO: Hastalıklı Yumru Bulunma Oranı; HYS: Hastalıklı Yumru Sayısı; EFİS: Elde Edilen Fungal İzolat Sayısı

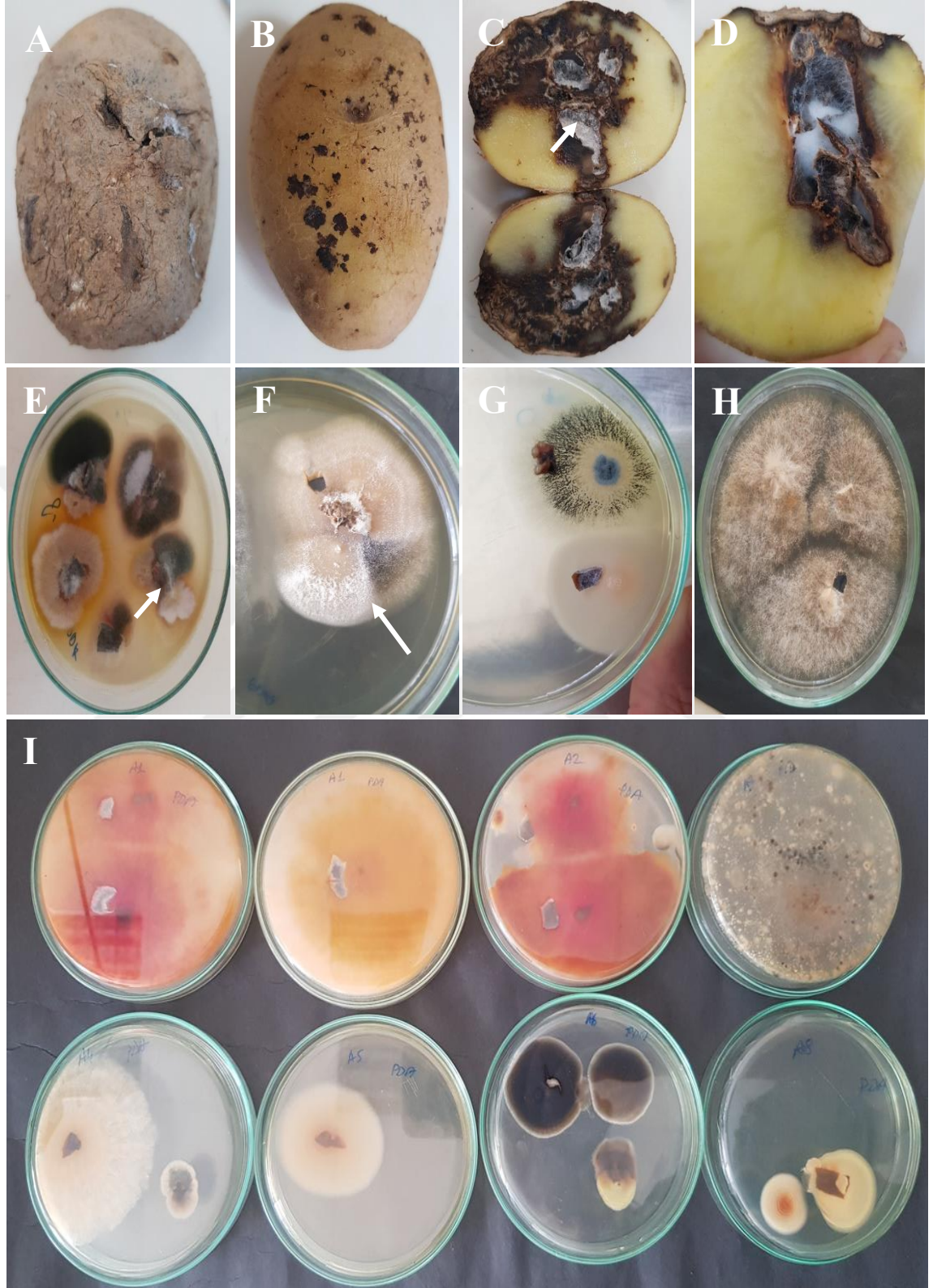


Şekil 4.2. Konya ilinin farklı ilçelerindeki patates depolarında yapılan sörveylerde enfekteli patates yumruların yüzeylerinde ve iç dokularında tespit edilen tipik hastalık belirtileri

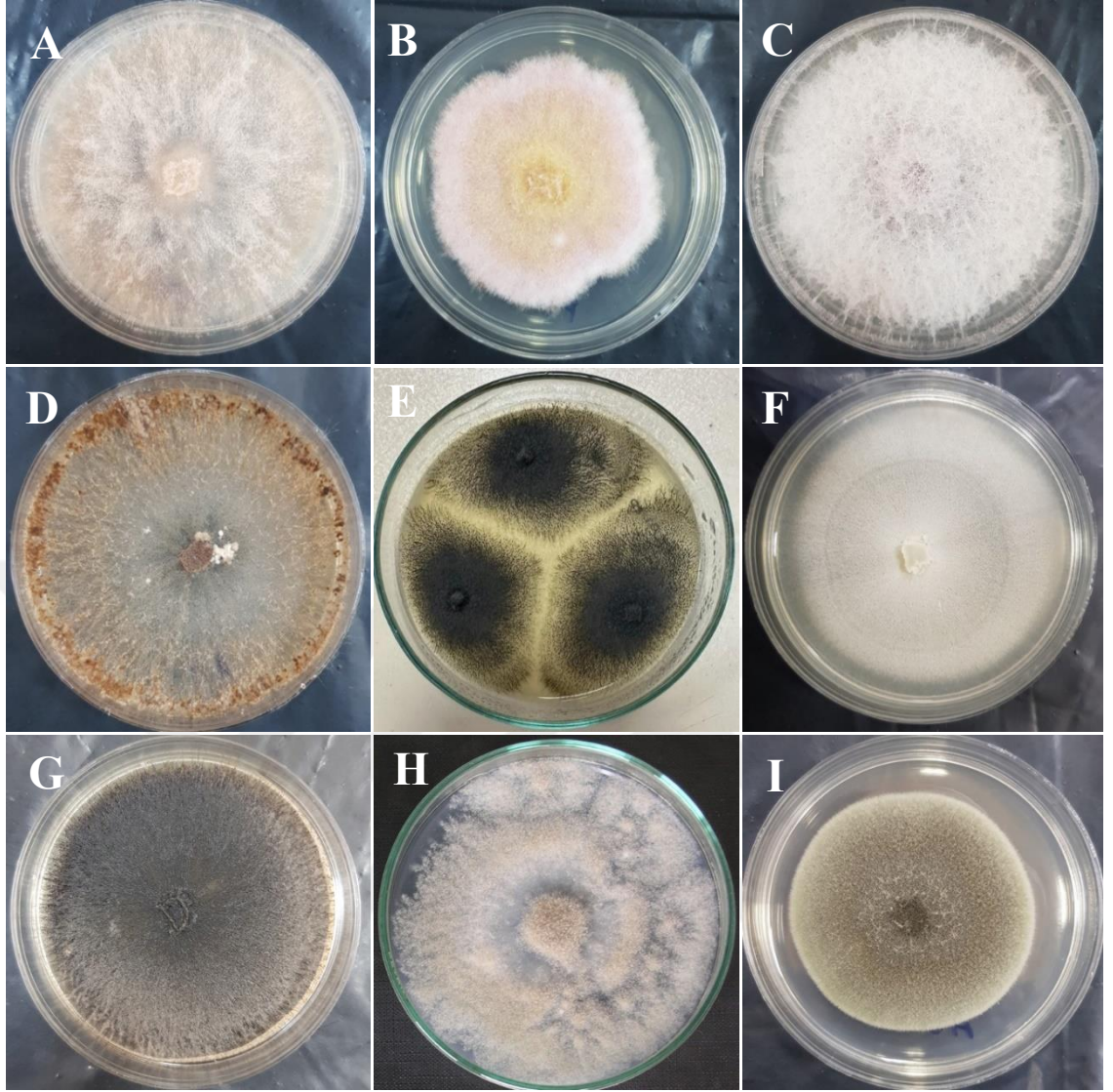
4.2. Hastalık Belirtilerine Sahip Patates Yumrularından Fungal İzolatların Elde Edilmesi

Sörvey alanlarında fungal hastalık etmenlerinin neden olduğu tipik belirtilerin çoğu “kuru çürüklük” şeklinde gözlenmiştir. Yetkililerle yapılan görüşmelerde tarladan getirilen yumrulara kuru çürüklük belirtilerinin, yaklaşık bir aylık depolamadan sonra ortaya çıktığı belirtilmiştir. Hastalık her yöne genişleyen küçük kahverengi lezyonlar olarak ortaya çıkıp, zamanla periderm (kabuk) kısmının lokal olarak enfeksiyon şiddetine bağlı çöküp, iç dokuların kurumasına neden olmuştur. Bazı örneklerde aynı zamanda kırışık kabuk dokusunda eşmerkezli halkalar oluşmuştur (Şekil 4.2A-E). Tipik hastalık belirtisi gösteren yumrular ortadan ikiye kesildiğinde iç dokunun merkezinde, kenar kısımlarına yakın bölgelerinde kısmen veya tamamen çürüklük belirtileri gözlenmiştir (Şekil 4.2F-I). Bu belirtilerin rengi açık, sarı, beyaz veya tamamen kararmış olarak belirginleşmiştir. Çoğu lezyonların özellikle merkezlerinde farklı renklerde fungal miseller gözlenmiştir (Şekil 4.2F-H, Şekil 4.3 C,D). Söz konusu belirtilerin daha önceden yapılmış çalışmalarda patates yumrularında farklı türler tarafından sebep olunan hastalık belirtileri ile benzerlik göstermiştir (Stevenson ve ark. 2001).

Farklı sörveylerde toplanan hastalık belirtisi gösteren yumruların iç kısımlarından kesilen hastalıklı doku parçacıkları Patates Dekstroza Agar (PDA) ve Karanfil Yaprak Parçacık Agar (Carnation Leaf-Piece Agar, CLA) içeren petrilere konulduğunda aynı yumrudaki enfeksiyon noktalarının çoğu kez birden fazla fungal hastalık etmeni ile enfekteli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3D,E). İnkubasyondan sonra besi ortamında gelişen farklı morfolojik ve kültürel özellik gösteren koloniler seçilip, ayrı bir izolat olarak kesin tür teşhislerinin yapılması amacıyla antibiyotik ile desteklenmiş PDA içeren 6 cm’lik petri kaplarına aktarılmıştır (Şekil 4.4). Kesin tür teşhisleri yapılmaya kadar elde edilen izolatlar +4°C’de saklanmıştır.



Şekil 4.3. Tipik hastalık belirtisi gösteren yumru örneklerinden (A-D) gelişen hastalık etmenlerine ait karışık (E-G) ve saf fungus kültürleri (H-I)

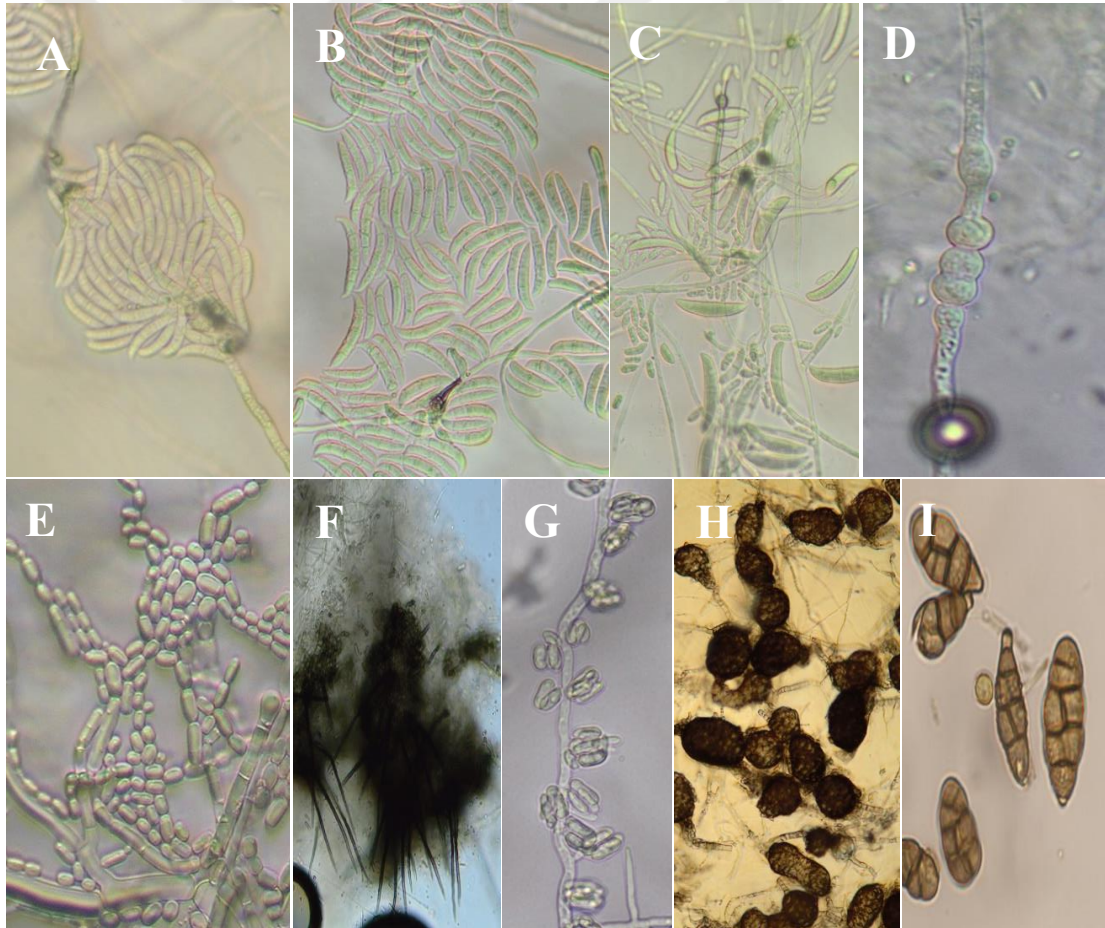


Şekil 4.4. Hastalıklı bitki örneklerinden elde edilen primer hastalık etmenlerin tek spor izolatlarına ait fungus kültürleri. (A) *F. sambucinum*, (B) *F. acuminatum*, (C) *F. oxysporum*, (D) *R. solani*, (E) *C. coccodes*, (F) *G. candidum*, (G) *M. phaseolina*, (H) *B. cinerea*, (I) *A. alternata*

4.3. Fungal İzolatların Morfolojik Tanılanmaları ve Tek Spor İzolatlarının Elde Edilmesi

Yapılan izolasyonlar sonucu 147 adet primer, 41 adet sekonder fırsatçı (oportunistik) hastalık etmenlerine ait toplam 188 adet fungal izolat elde edilmiştir (Çizelge 4.1). PDA besiyerinde fungal patojenlerin koloni büyümesi, sporulasyonu ve mikrosklerot oluşumu incelenmiştir. PDA ve karanfil yaprak Agar (CLA) besi yeri içeren petride gelişen fungusların türe spesifik yapıları (misel gelişimi, rengi, konidi, hif,

sklerot, aservulus vb) göre ön tanılamaları yapılmıştır (Şekil 4.5). Petrilerde gelişen primer patojenik fungal türlerden *Fusarium* spp. dışındaki *Macrophomina phaseolina* (Holliday ve Punithalingam, 1970), *Rhizoctonia solani* (Ogoshi ve ark., 1983), *Geotrichum candidum* (de Hoog ve ark., 1986), *Botrytis cinerea* (Ellis 1971), *Colletotrichum coccodes* (Mordue 1967; Liu ve ark., 2011; Davis ve Johnson, 2002) ve *Alternaria alternata*'nın tanısı (Simmons, 2007) ışık mikroskobu altında fungal yapılarının morfolojik özelliklerine göre nispeten hızlı ve adına doğru olarak yapılmıştır. *Fusarium* spp. ise genelde 2 farklı besi yeri üzerindeki koloni morfolojisi, pigmentasyon rengi, klamidospor, makro ve mikro konidi, konidilerdeki septa sayısı, uçlarının şekli ve konidiofor (mono veya multifialid) yapıları açısından tanılanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).



Şekil 4.5. Petrilerde gelişen (A-D) *Fusarium* spp., (E) *G. candidum*, (F-G) *C. coccodes*, (H) *M. phaseolina*, (I) *A. alternata* gibi bazı türlere spesifik fungal yapılar. (A-C) makro, mikro konidi, (D) klamidospor, (E) arthrokonidi, (F) setalı acervulus, (G) konidi, (H) sklerot, (I) bölmeli konidi

Elde edilen 147 adet primer hastalık etmenlerine ait izolatların morfolojik yapılarına göre teşhis sonucunda dağılımlarına bakıldığında en yaygın hastalık etmenlerinin farklı koloni ve morfolojik özelliklere sahip *F. sambucinum* (44 izolat), *F. solani* (13 izolat), *F. culmorum* (11 izolat), *F. acuminatum* (10 izolat), *F. oxysporum* (6 izolat), *F. proliferatum* (5 izolat), *F. graminearum* (5 izolat) ve *F. verticillioide*s (2 izolat) gibi %65.3 gibi büyük oranda *Fusarium* spp. (96 izolat) izolatlar oluşturmuştur. Bu türleri %8.2 ile *Rhizoctonia solani* (12 izolat), %7.5 ile *Geotrichum candidum* (11 izolat), %6.8 ile *Alternaria alternata* (10 izolat), %4.8 ile *Botrytis cinerea* (7 izolat), %4.1 ile *Colletotrichum coccodes* (6 izolat), %3.4 ile *Macrophomina phaseolina* (5 izolat) takip etmiştir (Şekil 4.4 ve Çizelge 4.1).

İzolasyon çalışmalarında yüzey dezenfeksiyonu yapılmış, çürüklük belirtisi gösteren yumruların en iç dokularından primer hastalık etmenlerinin yanı sıra 41 adet sekonder saprofitik fırsatçı olarak bilinen izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatlar genelde yaygın olarak bildirilen *Rhizopus stolonifer* (%43.9, 18 izolat), *Penicillium* spp. (%31.7, 13 izolat) ve *Aspergillus niger* (%24.4, 10 izolat) gibi türler olarak tanılanmıştır (Çizelge 4.1).

Fusarium cinsi birçok farklı bitki türünde hastalıklara neden olan en önemli fungal hastalık etmenlerinin yer aldığı cinslerden biridir. *Fusarium* cinsi tarla koşullarında patates bitkilerinin fide ve çiçeklenme dönemlerinde solgunluk hastalığına, hasat edildikten sonra depolama sırasında ise patates yumrularında “kuru çürük” olarak adlandırılan hastalığa neden olan pek çok tür içerir. Sörveylerde toplanan farklı görünüşte “kuru çürüklük” belirtisi gösteren yumrulardan farklı *Fusarium* spp.’ye bağlı izolatların PDA ve Karanfil Yaprığı Agar (CLA) besi yerinde oluşturdukları klamidospor, konidi, konidiofor, pigment oluşumu gibi morfolojik özelliklerine göre ön tür tanıları *Fusarium sambucinum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* ve *F. verticillioide*s olarak yapılmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006; Azil ve ark., 2021). Bu türlere ait PDA ve CLA besi yerlerindeki fungal özellikleri ışık mikroskopunda detaylı olarak incelenmiştir (Şekil 4.5A-D).

Örnek alınan tüm depolardaki enfekte yumrulardan patates dekstroza agar (PDA) ortamında yapılan izolasyonlarda en yaygın tür olarak belirlenen *Fusarium sambucinum* diğer türlere kıyasla daha hızla büyüyen başlangıçta beyaz, ancak daha sonra turuncu-şeftali, somon rengine dönüşen koloniler oluşturmuştur. Morfolojik özelliklere dayanarak

temsili izolat *Fusarium sambucinum* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium solani, PDA ortamında beyazımsı-sarı rengine, nispeten daha yavaş koloni gelişimi göstermiş, CLA üzerinde makro ve mikro konidiler oluşturmuştur. Mikrokonidiler ince duvarlı, şeffaf, iğ ve oval, genellikle 1-2 hücreli; makrokonidileri, küt ve yuvarlak, apikal hücre çentikli, çoğunlukla 4-8 hücreli ve hafifçe kavisli görünüştedir. Morfolojik özelliklere dayanarak temsili izolat *Fusarium solani* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium culmorum, PDA besi yerinde hızla gelişen, kabarık havai miselyum olarak, dağınık, koyu kırmızı ila kırmızımsı kahverengi pigment oluşturmuştur. İzolatın monofialid konidiofor üzerinde oluşturduğu makrokonidileri hafif kavisli, sivri apikal ayak hücrelerine sahip ve 3-5 bölmelidir. Klamidosporlar hifler üzerinde interkalar yapıda olup kültürlerde mikrokonidiler gözlenmemiştir. Morfolojik özelliklere dayanarak temsili izolat *Fusarium culmorum* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium acuminatum, PDA besi yerinde radyal biçimde yoğun bir şekilde gelişme göstermiş, havai hifleri kadifemsi, beyaz, sarı-beyaz veya pembe-beyaz renkte gözlenmiştir. Temsili izolat CLA besi yerinde havai miseller üzerinde mikrokonidi, makrokonidi ve hifler üzerinde klamidospor olmak üzere üç farklı konidi üretmiştir. Makrokonidileri orak şeklinde seyrek olurken, mikrokonidileri çok sayıda oval veya böbrek şeklindedir. Morfolojik özelliklere dayanarak temsili izolat *Fusarium acuminatum* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium oxysporum PDA besi yeri içeren petri kabının her iki tarafından görülebilen, besiyerine yayılan güçlü koyu mor pigmente sahip, seyrek olarak beyaz havai miselyum üretmiştir. Buna karşın, bazı izolatlar bol miktarda açık mor hava miselyumu üretmiş ve kolonilerin alt tarafı soluk ten renginden açık mora kadar değişmiştir. Karanfil yaprağı agarında ise izolatlar bol miktarda tek veya iki hücreli oval veya böbrek şekilli mikrokonidiler üretmiştir. Morfolojik özelliklere dayanarak temsili izolat *Fusarium oxysporum* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium proliferatum'un temsili izolatu CLA üzerinde seyrek ince ve çoğunlukla düz olup üç ila beş septalı makrokonidi oluşturmuştur. Mikrokonidiler bol miktarda,

genellikle tek hücreli, kısa zincirler halinde oval veya çomak şeklinde veya monofiyalidler ve polifiyalidler üzerinde oluşturulmuştur. İzolatın hiflerinde herhangi bir klamidospore gözlenmemiştir. PDA üzerinde fungal izolatın bol miktarda beyaz miselyum üretilmiş ve yaşla birlikte koloni rengi menekşe rengine dönmüştür. Morfolojik özelliklere dayanarak temsili izolat *Fusarium proliferatum* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium graminearum izolatları, PDA'da beyaz kabarık miselyum, CLA besi yerinde siyah peritesyumun, ayırt edici büyüklükte makrokonidiler oluşturmuştur (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006). *F. proliferatum* izolatının saf kültürü, PDA besi yerinde 2 hafta sonra mor renge dönüşen seyrek beyaz koloniler şeklinde gelişme göstermiş olup, oval veya kulüp şeklindeki mikrokonidilerinin tek (monophialid) veya birden fazla dallanma (multiplierialid) gösteren konioforlar üzerinde bol miktarda oluşturduğu gözlenmiştir. Makrokonidileri ince veya düz görünüşte, 3-5 bölmeye sahiptir. Genç yaştaki (3-4 günlük) kolonilerde uzun ve kısa mikrokonidi zincirleri tespit edilmiştir. Morfolojik özelliklere dayanarak temsili izolat *Fusarium graminearum* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Fusarium verticillioides'e ait saf kültür kolonileri, PDA üzerinde bol miktarda pembe ile mor hava hifleriyle hızlı gelişim göstermiştir. Agar üzerinde sporodochia oluşumunun yanı sıra, havai, genellikle dönüşümlü veya zıt olarak dallanma göstermiş, 1-3 verticillat fialid ile sonlandırılmış konidioforlar oluşturmuşlardır. Polifiyalitler üzerinde üretilen mikrokonidiler tek hücreli, oval veya elipsoidal görünüşte, makrokonidiler bol miktarda ve üç ile beş bölmeli olarak kaydedilmiştir. Morfolojik özelliklere dayanarak temsili izolat *Fusarium verticillioides* olarak tanımlanmıştır (Nelson ve ark., 1983; Leslie ve Summerell, 2006).

Kuru çürüklük hastalık belirtisi gösteren yumrularından izole edilmiş, PDA ile CLA besi yerinde morfolojik olarak tanınması yapılan *Fusarium* spp. arasında en yaygın tür *F. sambucinum* olarak belirlenmiştir (Stevenson ve ark., 2001; Cullen ve ark., 2005). İzolasyonlarda *F. sambucinum* dışında tanınması yapılmış *F. proliferatum* (Merlington ve ark., 2014; Tiwari ve ark., 2022), *F. graminearum* (Ali ve ark., 2007), *F. oxysporum* (Garcia Bayona ve ark., 2011), *F. culmorum* (Azil ve ark., 2021; Baturo-Cieśniewska ve ark., 2015; Stefańczyk ve ark., 2016) gibi diğer *Fusarium* türlerinin farklı ülkelerde depolanmış patates yumrularında "kuru çürüklük" hastalığına neden olan yaygın türler

olduğu bildirilmiştir. Bu türler arasında izolasyonlarda karşılaşılan *F. oxysporum* etmeninin patates yumru patojeni olmaktan ziyade daha çok tarla koşullarında “solgunluk hastalığı”na neden olduğu, ancak labortuvar izolasyonlarında sıkça karşılaşılan bir tür olduğu bildirilmiştir (Stefańczyk ve ark., 2016).

Fusarium kuru çürüklüğü dünya genelinde yaygın bir fungal hastalık olup, patateslerin yetiştirildiği her bölgede ortaya çıkar (Stevenson ve ark. 2001). Cullen ve ark. (2005), 13 *Fusarium* türünün dünya çapında patateslerde *Fusarium* kuru çürüklük hastalığına neden olduğunu, tür çeşitliliğinin coğrafi konuma ve mevsime bağlı olduğunu bildirmiştir. *Fusarium sambucinum* Fuckel, *F. avenaceum* (Fries) Sacc, *F. culmorum* (WG Smith) Saccardo ve *F. graminearum* Schwabe gibi türlerin Polonya'daki patates yumrularında patojen olduğu rapor edilmiştir (Batur-Cieśniewska ve ark., 2015; Stefańczyk ve ark. 2016). Bu türler dışında, patates yumruları üzerinde patojenik olmayan *F. oxysporum*'un hastalıklı yumrulardan en sık izole edilen tür olduğu bildirilmiştir (Stefańczyk ve ark., 2016). Çin'de yapılan sörvey çalışmalarında farklı depolardan toplanan patates yumrularından elde edilen fungal izolatların %56'sını oluşturan baskın türün *F. sambucinum* olduğu bildirilmiştir (Du ve ark., 2012). Farklı *Fusarium* spp.'ye ait izolatların İran'da patates kuru çürüklüğüne neden etmenler olup, izolatlar arasında *F. sambucinum* ve *F. solani*'nin baskın türler olduğu bildirilmiştir (Esfahani, 2005). Tunus'ta yapılan bir diğer çalışmada kuru çürüklük belirtileri gösteren patates yumrularında *F. sambucinum*, *F. solani*, *F. oxysporum* f.sp. *tuberosi* ve *F. graminearum* en sık karşılaşılan türler olarak bildirilmiştir (Daami-Remadi ve ark. 2006a, b). Son zamanlarda *Fusarium solani* tür kompleksinin (FSSC) bazı üyeleri, filogenetik analizlerde ayrı bir dal içeren ve hem bitki hem de insan patojenlerini içeren *Neocosmospora* cinsine taşınmıştır (Sandoval-Denis ve Crous 2018).

Patates kuru çürüklüğü hem depodaki yumruları hem de tarladaki tohumluk olarak ekilen yumruları etkiler (Wharton ve ark. 2007b). Yumrudaki kuru çürüklük belirtileri, yaklaşık bir aylık depolamadan sonra her yöne genişleyen küçük kahverengi lezyonlar olarak ortaya çıkar. Peridermin çökmesine, iç dokusunda kuruma belirtilerine neden olur. Bu kuruma sonucu yumru yüzeyinde eş merkezli kırışık halkaların oluşmasına yol açabilir (Stevenson ve ark. 2001). Hastalıkla enfekteli tohumluk patates yumrusu hastalık için inokulum kaynağı olabilir (Cullen ve ark. 2005). Hastalıkla bulaşık yumruların söküldüğü tarlalardaki enfekteli toprak başka bir inokulum kaynağı olabilir. *Fusarium*

türleri toprakta, canlı bitkiler veya artıkları üzerinde saprofit, endofit veya fakültatif patojen olarak uzun yıllar hayatta kalabilirler (Burgess, 1981). Patates yumrularında *Fusarium* kuru çürüklüğü nedeniyle %60'a kadar verim kaybı yaşanabilmektedir (Secor ve Sales 2001).

Ülkemizin Doğu Anadolu Bölgesindeki Erzurum ilinde yapılan çalışmada *Fusarium* spp. tarafından neden olunan “kuru çürüklük” hastalığı tarla, depolama, nakliye ve satışı sırasında ekonomik kayıplara neden olan en önemli hastalık olarak belirlenmiştir (Eken ve ark. 2000). *Fusarium* cinsi, tarla koşullarında patates bitkilerinde “solgunluk” hastalığına, hasat sonrası depolama sırasında ise patates yumrularının “kuru çürüklük” hastalığına neden olan türleri barındıran en önemli fitopatojenik fungal cinslerden biridir.

Göre ve ark., (2019) Türkiye’nin farklı alanlarındaki patates depolarından 2011’den 2014’e kadar temin edilen hastalıklı patates yumrularının; %39’unun siyah benek (*Colletotrichum coccodes*), %21’inin siyah kabuk (*Rhizoctonia solani*) ve %10’unun tozlu uyuz (*Spongospora subterranea*) hastalığından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Çürüklük belirtisi gösteren patates yumrularından elde edilen izolatların %91’inin kuru çürüklük hastalığı etmeni *Fusarium sambucinum* olduğunu belirlenmiştir. Patates yumrularında tespit edilen hastalıkların bulunma oranları patateslerin yetiştirildiği bölgelere göre değişken olup, Orta Anadolu’da siyah benek (*Colletotrichum coccodes*) ve kuru çürüklük (*Fusarium* spp.) hastalıkları, Batı Karadeniz’de tozlu uyuz (*Spongospora subterranea*) ve mildiyö (*Phytophthora infestans*) hastalıkları, Ege Bölgesi’nde uyuz (*Streptomyces scabies*) ve gümüş kabuk (*Helminthosporium solani*) hastalığının en yaygın türler olduğu bildirilmiştir.

Koç (2022) tarafından yakın zamanda yapılmış yüksek lisans çalışmasında Nevşehir’in Kavak kasabasında yer alan 5 farklı patates deposundan 250 yumru örneği toplanmış, yapılan izolasyonlar sonucunda *Fusarium sambucinum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium acuminatum*, *Colletotrichum coccodes* ve *Geotrichum candidum* hastalık etmenlerinin patatesten en fazla sıklıkla karşılaşılan fungal hastalık etmenleri olduğu tespit edilmiştir.

Toketti (2021) Konya ve Karaman illerindeki önemli patates ekim alanlarında tarla koşullarında yapılan sörvey çalışmaları sonucunda *R. solani*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *S. sclerotiorum*, *Pythium* spp. ve *Verticillium dahliae* fide ve çiçeklenme dönemlerinde; *Helminthosporium solani*, *C. coccodes*, *Spongospora subterranea* f.sp.

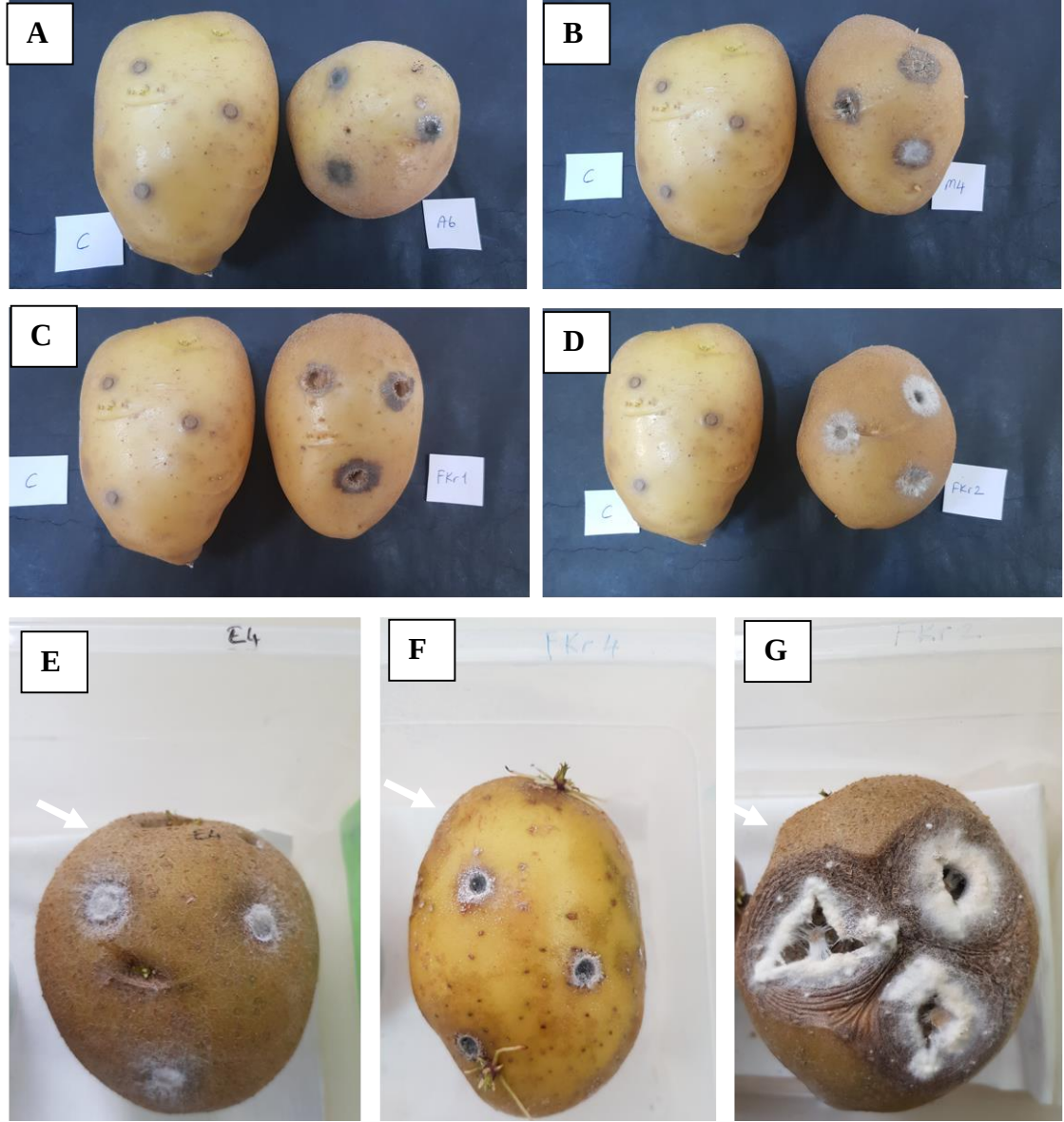
subterranea ve *G. candidum* hastalık etmenlerin hasat dönemine doğru yumrularda değişen yaygınlık ve oranlarda bulunan fungal hastalık etmenleri olarak belirlemiştir. Sörvey çalışmalarında *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani* ve *A. alternata* gibi yaprak kökenli fungal hastalıklarla, bakteriyel yumuşak çürüklük ve karabacak hastalığı etmenleri *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, *P. atrosepticum* (*E. carotovora* subsp. *atroseptica*), *P. carotovorum* subsp. *brasiliense* ve *P. parmentieri* izole edilmiş ve tanılanmıştır.

Fusarium spp. dışında tespit edilen primer hastalık etmenlerinden *Macrophomina phaseolina* (Takooree ve ark., 2021a), *Rhizoctonia solani* (Takooree ve ark., 2021b), *Geotrichum candidum* (Soylu ve ark. 2021; Willbur ve ark., 2023), *Botrytis cinerea* (Choiseul ve Carnegie, 2000), *Colletotrichum coccodes* (Lees ve Hilton, 2003; Pérez-Mora ve ark., 2020; Zhong ve ark., 2022; Takooree ve ark., 2023), *Alternaria alternata* (Iftikhar ve ark., 2018) dünyanın farklı ülkelerinde yetiştirilen patates yumrularında bu çalışmada tespit edilen belirtilere benzer hastalıklara neden olduğu yakın zamanda yapılan birçok çalışmalarda da bildirilmiştir.

4.4. Patojenisite Çalışmaları

Patojenisite çalışmalarında sörvey alanlarını temsilen farklı morfolojik yapıya sahip *F. sambucinum*, *B. cinerea*, *M. phaseolina*, *G. candidum*, *C. coccodes*, *F. solani*, *F. culmorum*, *F. acuminatum*, *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. graminearum*, *F. verticillioides*, *R. solani* ve *A. alternata* gibi yaygın primer fungal hastalık etmenlerinin tek spor/misel izolatlarından elde edilen fungal kültürler kullanılmıştır. İnokule edilmiş yumrular 22°C sıcaklıkta 10 gün boyunca bekletilmiş ve patates yumrularındaki inokulasyon noktaları hastalık belirtisi yönünden kontrol yumrularındaki belirtilerle kıyaslanarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.6).

Test edilen farklı morfolojik yapıya ait izolatların tamamı yumrular üzerinde test edilen fungal hastalık etmenlerine bağlı olarak 7 ila 15 gün sonrasında izole edildikleri hastalıklı yumrularda gözlenen ilk belirtilere benzer belirtilere neden olmuşlardır (Şekil 4.6). Tüm izolatlar inokule edilen noktalardan yeniden izole edilmiş ve orijinal izolatla aynı morfolojik özelliklere sahip olduğu teyit edilmiştir.



Şekil 4.6. Farklı fungal hastalık etmenlerinin sağlıklı yumrular üzerinde yapılan patojenisite testleri. A-D Kontrol yumrularındaki belirtilerle hastalık belirtilerinin karşılaştırılması. Patates yumrularında açılan inokulum yerlerinde (E) *G. candidum*, (F) *C. coccodes* ve (G) *F. sambucinum* fungal etmenlerince oluşturulan tipik belirtiler (ok)

4.5. Fungal Hastalık Etmenlerin MALDI-TOF MS ile Tanılanması

Bu çalışmada patateslerden izole edilen 147 fungal izolattan morfolojik olarak ön seçimi bölgeyi, depoyu ve alınan örneği temsil edecek şekilde belirlenen *Fusarium* spp., *Alternaria alternata*, *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger* gibi fungal türlere ait tek spor izolatları MALDI-TOF MS ile analiz edilmiştir (Şekil 4.7). Bu izolatlar MALDI-TOF MS cihazının kütüphanesinde tanımlı türlere ait izolatların varlığına göre seçilmiştir.

Macrophomina, *Botrytis*, *Colletotrichum* ve *Rhizoctonia* gibi fungal türlere ait protein profil cihaz kütüphanesinde bulunmaması nedeniyle bu türlere ait izolatlar MALDI-TOF MS tanılama çalışmalarında kullanılmamıştır. Çalışma sonucunda elde edilen ve morfolojik olarak ön tanısı teşhis anahtarlarına göre yapılmış *F. oxysporum*, *F. proliferatum*, *F. solani*, *A. alternata*, *G. candidum* ve *A. niger* izolatları MALDI-TOF MS ile sistemde tanımlı referans izolatlarla oldukça yüksek güvenilirlik skorunda tanımlanmışlardır (Şekil 4.7). Çalışmada en yüksek oranda tespit edilen *F. sambucinum* FK-M27 izolatı MALDI-TOF MS kütüphanesinde tanımlı olmaması nedeniyle ismine doğru tanımlanamıştır.

Analyte Name: E1
 Analyte Description:
 Analyte ID: FK-A57
 Analyte Creation Date/Time: 2021-01-29T12:18:26:486
 Applied MSP Library(ies):
 Applied Taxonomy Tree: Taxonomy, Bruker Taxonomy, Projects

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Geotrichum candidum DSM 1240 DSM	2.197	27317
2 (++)	Geotrichum silvicola 04_322 LBK	2.072	215419
3 (+)	Geotrichum silvicola 04_007 LBK	1.94	215419

Analyte Name: G3
 Analyte Description:
 Analyte ID: FK-M17
 Analyte Creation Date/Time: 2021-03-31T08:23:41.649
 Applied MSP Library(ies): Filamentous Fungi
 Applied Taxonomy Tree:

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Fusarium solani RV_2009_St_3 LLH	2.243	169388
2 (++)	Fusarium solani D_16_256_6_1 LLH	2.089	169388
3 (++)	Fusarium solani DSM 15964 DSM	2.039	169388

Analyte Name: G2
 Analyte Description:
 Analyte ID: FK-E56
 Analyte Creation Date/Time: 2020-11-02T03:18:00.304 2021-01-15T11:14:38.481
 Applied MSP Library(ies): Filamentous Fungi
 Applied Taxonomy Tree:

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	Fusarium proliferatum 11204740 MVD	2.174	42674
2 (++)	Fusarium proliferatum C0450 CDD	2.138	42674
3 (++)	Fusarium proliferatum DSM 21735 DSM	2.074	42674

Analyte Name: D10
 Analyte Description:
 Analyte ID: FK-E18
 Analyte Creation Date/Time: 2021-12-24T09:18:02.709
 Applied MSP Library(ies): Filamentous Fungi
 Applied Taxonomy Tree:

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	Fusarium oxysporum 17122074 LMU	2.471	5507
2 (+++)	Fusarium oxysporum 1712342 ERL	2.423	5507
3 (++)	Fusarium proliferatum 1712853 ERL	2.051	42674

Analyte Name: B11
 Analyte Description:
 Analyte ID: FK-A6
 Analyte Creation Date/Time: 2021-01-29T06:32:23.797
 Applied MSP Library(ies):
 Applied Taxonomy Tree: Projects, Taxonomy, Bruker Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (+++)	Alternaria alternata 2027 LMU	2.448	5599
2 (+++)	Alternaria alternata DSM 62010 DSM	2.317	5599
3 (+++)	Alternaria alternata DSM 62006 DSM	2.228	5599

Analyte Name: D8
 Analyte Description:
 Analyte ID: FK-A27
 Analyte Creation Date/Time: 2021-12-24T09:18:02.714
 Applied MSP Library(ies): Filamentous Fungi
 Applied Taxonomy Tree:

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

Şekil 4.7. Hastalıklı bitkilerden elde edilen *G. candidum*, *Fusarium* spp., *A. alternata* ve *A. niger* türlerine ait izolatların MALDI-TOF tanı sonucu

4.6. Fungal Hastalık Etmenlerin Moleküler Tanılanması

Farklı fungal türlere ait morfolojik olarak tanısı yapılan izolatlar arasından patojenisite testinde şiddetli hastalık belirtilerine neden olanlar arasından temsili seçilen izolatların kesin tür tanısı MALDI-TOF MS'in yanısıra, yaygın türlerin moleküler tanısı Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgesine spesifik ITS1-4 ile ITS 4-5 primerleri (White ve ark., 1990) ile teyit edilmiştir. Gönderilen sekans sonuçlarına göre eşleşme Çizelge 4.2'de ki gibi olmuştur. Elde edilen dizileri GenBankasına yüklenmiştir.

Fusarium'un farklı türlerine ait morfolojik olarak tanısı yapılan tüm izolatları temsilen seçilen izolatların kesin tür tanısı bazı türleri için MALDI-TOF MS ile, yaygın türlerin moleküler tanısı ise Internal Transcribed Spacer (ITS) (*Fusarium sambucinum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*) gen bölgesine spesifik primer çifti ile teyit edilmiştir. İzolasyonlarda en yaygın tür olan ve biyolojik mücadele çalışmalarında da kullanılan *Fusarium sambucinum* izolatının moleküler tanısı ayrıca translation elongation factor-1 α (*TEF-1 α*) ve second largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*) gen bölgelerine spesifik primerler kullanılmak suretiyle kesin tür tanıları yapılmıştır.

Yapılan Blast tarama sonucunda elde edilen morfolojik ve MALDI-TOF MS ile tanısı yapılmış izolatların tamamı moleküler olarak teyit edilmiştir. *Botrytis cinerea* FK-E29 (ITS GenBank erişim no: **OQ259506**), *Macrophomina phaseolina* FK-M2 izolatı (ITS GenBank erişim no: **OQ261768**), *Geotrichum candidum* FK-A57 izolatı (ITS GenBank erişim no: **OQ259534**), *Fusarium solani* FK-M17 (ITS GenBank erişim no: **OQ259999**), *Fusarium culmorum* FK-S6 (ITS GenBank erişim no: **OQ257375**), *Rhizoctonia solani* FK-K1 (ITS GenBank erişim no: **OQ263022**), *Fusarium sambucinum* FK-M27 (ITS GenBank erişim no: **OQ259321**, *TEF-1 α* GenBank erişim no: **PP848958**, *RPB2* GenBank erişim no: **PP848959**), *Alternaria alternata* FK-A6 (ITS GenBank erişim no: **OQ257374**), *Fusarium acuminatum* FK-A11 (ITS GenBank erişim no: **OQ259956**) ve *Colletotrichum coccodes* FK-E17 (ITS GenBank erişim no: **OQ261719**) izolatları tanısı yapıldıktan sonra Gen Bankasına dizileri kayıt edilmiş, genellikle patates veya farklı konukçulardan (*Solanum tuberosum*, *Nicotiana tabacum*, *Solanum lycopersicum*, *Clavelina lepadiformis*, *Vitis vinifera*, *Ageratina adenophora*, *Scutellaria baicalensis*) izole edilen aynı türler ile %100 oranında benzerlik göstermiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Hastalıklı patates yumrularından izole edilen fungal etmenlerin BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) analizlerle belirlenen moleküler tanı sonuçları

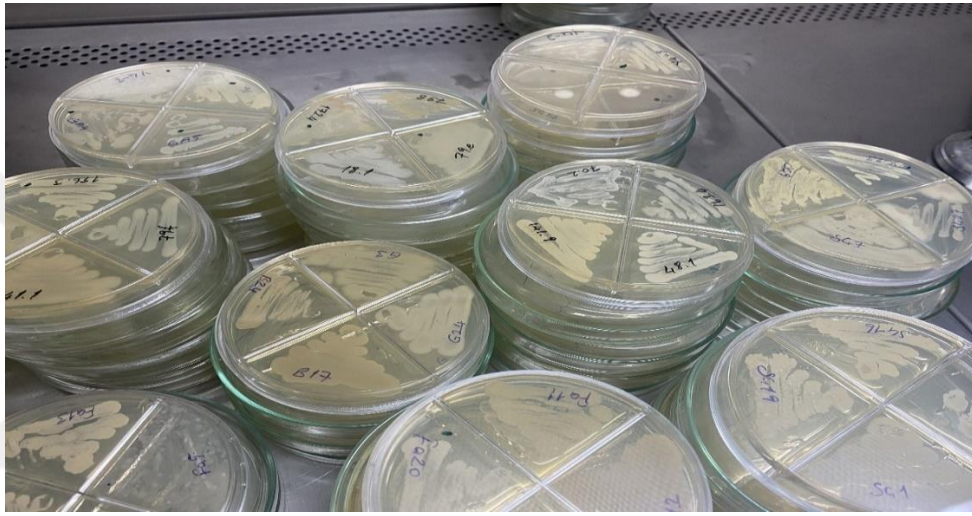
Tanısı yapılan fungal izolatlar (<i>Gen bölgesi</i>)	Gen Bankası Erişim Numaraları	Eşleştiği Gen Bankası Erişim Numarası Benzerlik Oranı (%) Konukçu bitkisi
<i>Botrytis cinerea</i> FK-E29 (ITS)	OQ259506	MW629853 %100 <i>Nicotiana tabacum</i>
<i>Macrophomina phaseolina</i> FK-M2 (ITS)	OQ261768	GU046855 %100 <i>Solanum tuberosum</i>
<i>Geotrichum candidum</i> FK-A57 (ITS)	OQ259534	MT738583 %100 <i>Clavelina lepadiformis</i>
<i>Fusarium solani</i> FK-M17 (ITS)	OQ259999	OR192937 %100 <i>Solanum lycopersicum</i>
<i>Fusarium culmorum</i> FK-S6 (ITS)	OQ257375	AB586990 %100 Genomic DNA
<i>Rhizoctonia solani</i> FK-K1 (ITS)	OQ263022	MZ931296 %100 Genomic DNA
<i>Fusarium sambucinum</i> FK-M27 (ITS)	OQ259321	KY926891 (%100) <i>Vitis vinifera</i>
<i>Fusarium sambucinum</i> FK-M27 (<i>TEF-1α</i>)	PP848958	MK752457 %100 <i>Solanum tuberosum</i>
<i>Fusarium sambucinum</i> FK-M27 (<i>RPB2</i>)	PP848959	OR727764 %100 <i>Solanum tuberosum</i>
<i>Alternaria alternata</i> FK-A6 (ITS)	OQ257374	MW961423 %100 <i>Ageratina adenophora</i>
<i>Fusarium acuminatum</i> FK-A11 (ITS)	OQ259956	ON303736 %100 <i>Scutellaria baicalensis</i>
<i>Colletotrichum coccodes</i> FK-E17 (ITS)	OQ261719	JX293927(%100) <i>Solanum tuberosum</i>

Biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılan *Fusarium sambucinum* FK-M27 izolatı ITS primerlerinin yanısıra ayrıca translation elongation factor-1α (*TEF-1α*) ve second largest subunit of RNA polymerase II (*RPB2*) gen bölgelerine spesifik primerler kullanılmak suretiyle kesin tanılanmıştır. ITS eşleşmesinde olduğu gibi *Fusarium sambucinum* FK-M27 izolatının gerek *TEF-1α*, gerekse *RPB2* gen bölgesine ait dizi analizleri sonucu aynı türle %100 oranında eşleşmiştir.

4.7. Aday Endofit Bakterilerin İzolasyonu

Hastalık sürveylerinin yapıldığı Konya ili Karapınar, Meram, Altınekin, Seydişehir ve Ereğli ilçelerindeki patates depolarında hastalıklı yumruların alındığı örnekleme kümelerinde bulunan “sağlıklı” patates yumruları aday antagonist özelliklere sahip

endofit bakterileri izole etmek amacıyla ayrıca örneklenmiştir. Toplam 125 farklı “sağlıklı” patates yumrusunun iç dokularından yapılan endofit bakteri izolasyonları King B Besiyeri üzerinde yapılmıştır. Yumrulardan yapılan izolasyonlar sonucu 134 bakteri izolatu elde edilmiştir. Elde edilen 134 bakteri izolatu arasından aynı morfolojik görünüşe sahip temsilen 71 adet farklı morfolojik görünümlü aday antagonist bakteri izolatu seçilmiştir. Elde edilen bakteri izolatlarının tamamı tek koloniden saflaştırılarak TSA besiyeri içeren 4 bölmeli petrilerde çoğaltılmış ve daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere buzdolabında 4 °C’de muhafaza edilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Sağlıklı yumrulardan izole edilmiş aday endofit antagonist bakteri izolatları

4.8. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Seçimi

Farklı patates yumrularından izole edilen ve temsili seçilen 71 aday endofit bakteri izolatları için ilk olarak tütün bitkilerinde aşırı duyarlılık (HR) testi ve patates yumrularında yumuşak çürüklük testi yapılmıştır (Şekil 3.4). Tütünde aşırı duyarlılık gerçekleştirmeyen aday 61 bakteri izolatu patates dilimi kullanılarak yumuşak çürüklük testine tabi tutulmuştur. Gerek tütünde aşırı duyarlılık gerekse patatestte yumuşak çürüklük testinde negatif sonuç veren izolatlar için insan patojeni olup olmadığının belirlenmesi açısından 47 adet izolat TSA besiyerine çizilmiştir. Akabinde 37 °C en az 48-72 saat inkübasyona bırakılmış ve gelişmeyen 47 adet bakteri izolatları biyolojik mücadele etkinlik çalışmalarında aday bakteri izolatu olarak kullanılmıştır (Çizelge 4.3).

4.9. Endofit Bakteri İzolatlarının Tanısı

Tütün bitkilerinde aşırı duyarlılık, patatestte yumuşak çürüklük testi ve insan patojeni olup olmadığının belirlenmesi 37 °C gelişim bakımından negatif sonuç veren 47 adet aday bakteri izolatların tür teşhisleri MALDI-TOF cihazı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) analizleri ile belirlenmiştir (Aktan ve Soylu, 2020). MALDI-TOF sonucu tanılamaları yapılmış bakteri izolatların tür bazında isimleri ve özellikleri Çizelge 4.3’de belirtilmiştir.

MALDI-TOF MS ile yapılan tanılama sonucunda Gram pozitif olarak 36 izolatın farklı *Bacillus* spp., 2 izolat *Lysinibacillus* spp., 1’er izolat ise *Clostridium novyi*, *Lactobacillus paracasei* ve *Staphylococcus warneri*, Gram negatif olarak 1’er izolat *Cronobacter* sp., *Enterobacter cloacae*, *Flavobacterium anhuiense*, *Leclercia adecarboxylata*, *Panteo agglomerans*, *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanılanmıştır. *Bacillus* spp. arasında en yaygını 8 izolatla *Bacillus cereus* olup, bu türü 6 izolatla *Bacillus subtilis*, 4 izolatla *Bacillus amyloliquefaciens*, 3 izolatla *Bacillus mojavensis*, 2’şer izolatla *Bacillus amyloliquefaciens plantarum*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus simplex*, 1’er izolatla *Bacillus mycoides*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus horneckiae*, *Bacillus kochii*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis spizizenii* ve *Bacillus thuringiensis* türleri izlemiştir (Çizelge 4.3)

Çizelge 4.3. Farklı patates depolarındaki sağlıklı patates yumrularından izole edilen endofit bakteri izolatların tanılanma sonuçları ve genel özellikleri

İzolat Adı	İzole Edildiği Depo	Gram Reaksiyon	MALDI Benzerlik İndeksi
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB4	Meram	+	1.90
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB40	Altınekin	+	2.55
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10	Meram	+	1.79
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB19	Seydişehir	+	1.79
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB20	Karapınar	+	2.20
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB29	Altınekin	+	1.78
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1	Ereğli	+	2.52
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB25	Meram	+	2.44
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36	Altınekin	+	2.41
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB8	Karapınar	+	2.43
<i>Bacillus cereus</i> FKB16	Ereğli	+	1.84
<i>Bacillus cereus</i> FKB21	Meram	+	2.24

Çizelge 4.3. (Devamı) Farklı patates depolarındaki sağlıklı patates yumrularından izole edilen endofit bakteri izolatların tanılanma sonuçları ve genel özellikleri

<i>Bacillus cereus</i> FKB26	Seydişehir	+	2.08
<i>Bacillus cereus</i> FKB27	Ereğli	+	2.05
<i>Bacillus cereus</i> FKB28	Meram	+	2.34
<i>Bacillus cereus</i> FKB41	Meram	+	2.01
<i>Bacillus cereus</i> FKB48	Meram	+	2.31
<i>Bacillus cereus</i> FKB5	Altınekin	+	2.11
<i>Bacillus horneckiae</i> FKB47	Seydişehir	+	1.91
<i>Bacillus kochii</i> FKB43	Altınekin	+	1.89
<i>Bacillus megaterium</i> FKB6	Ereğli	+	2.39
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB13	Altınekin	+	2.36
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB23	Altınekin	+	2.42
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB35	Seydişehir	+	1.88
<i>Bacillus mycoides</i> FKB44	Karapınar	+	2.21
<i>Bacillus pumilus</i> FKB15	Seydişehir	+	2.42
<i>Bacillus simplex</i> FKB32	Altınekin	+	2.51
<i>Bacillus simplex</i> FKB45	Altınekin	+	2.08
<i>Bacillus subtilis</i> FKB12	Ereğli	+	1.85
<i>Bacillus subtilis</i> FKB22	Altınekin	+	1.98
<i>Bacillus subtilis</i> FKB24	Karapınar	+	2.42
<i>Bacillus subtilis</i> FKB33	Ereğli	+	2.16
<i>Bacillus subtilis</i> FKB34	Meram	+	2.32
<i>Bacillus subtilis</i> FKB42	Ereğli	+	2.45
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> FKB2	Altınekin	+	2.42
<i>Bacillus thuringiensis</i> FKB3	Karapınar	+	2.40
<i>Clostridium novyi</i> FKB11	Seydişehir	+	2.05
<i>Cronobacter sp.</i> FKB37	Altınekin	-	2.49
<i>Enterobacter cloacae</i> FKB14	Karapınar	-	1.94
<i>Flavobacterium anhuiense</i> FKB18	Meram	-	2.13
<i>Leclercia adecarboxylata</i> FKB17	Meram	-	1.91
<i>Lactobacillus paracasei</i> FKB9	Altınekin	+	2.21
<i>Lysinibacillus sphaericus</i> FKB30	Altınekin	+	2.21
<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> FKB38	Ereğli	+	2.46
<i>Panteo agglomerans</i> FKB46	Seydişehir	-	1.76
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> FKB7	Altınekin	-	2.17
<i>Staphylococcus warneri</i> FKB39	Seydişehir	+	2.35

Bitkiler gerek toprak altı (rhizosfer), gerekse toprak üstü (filosfer) organlarında birçok mikroorganizmayla yakın ilişki içindedir. Bitkilerin gerek yüzeyi (epifit) gerekse iç (endofit) dokuları birçok türe ait bakterilere konukçuluk eder. Bu tür bakteriler bitkide hastalık oluşturmada bitkilerde verimi, tohum çimlenmesini, kök ve sürgün gelişimini teşvik etmelerinin yanı sıra, farklı hastalıklara karşı dayanıklılık mekanizmalarını aktive

ederler. Genelde bu özelliğe sahip *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Flavobacterium*, *Microbacterium*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* gibi bakteri türleri üzerinde yaşadıkları bitkilerde hem bitki gelişimini teşvik etmişler, hem de farklı fungal, bakteriyel ve viral hastalık etmenlerine karşı konukçu bitkilerini korumuşlardır (Somers ve ark., 2004; Barriuso ve ark., 2005; Çakmakçı ve ark., 2005; Egamberdieva ve Islam, 2008; Lugtenberg ve Kamilova, 2009; Sayyed ve Chincholkar, 2009; Sayyed ve Patel, 2011; Saharan ve Nehra, 2011; Rajasekar ve Elango, 2011; Egamberdieva ve ark., 2013; Berg ve ark., 2013; Jabborova ve ark., 2013; Sayyed ve ark., 2012, 2013).

4.10. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Yaygın Fungal Hastalık Etmenlerine Karşı *in vitro* Antagonistik Etkinliğinin Belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının sörvey yapılan depolardaki hasta yumrulara yaygın olarak görülen *Fusarium sambucinum*, *Colletotrichum coccodes* ve *Geotrichum candidum* gibi primer fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini engelleme (antagonistik) potansiyelleri PDA besi yerleri üzerinde ikili kültür testleri ile belirlenmiştir (Şekil 4.9). Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5'te verilmiştir. Bakteri izolatlarının hastalık etmenlerinin misel gelişimlerini engelleme oranları; (a) “hiç engelleyemeyenler”, (b) %0.5-24.9 oranlarında “zayıf” seviyede engelleyenler, (c) %25.0-49.9 oranları arasında “orta seviyede” engelleyenler ve (d) %50.0> oranında “güçlü seviyede” engelleyen izolatlar olmak üzere 4 grup altında değerlendirilmiştir (Dalal ve Kulkarni, 2013).

Sağlıklı yumrulardan izole edilen 47 farklı aday antagonist bakteri izolatının ikili kültür testleri sonucunda *F. sambucinum*'un misel gelişimini engelleme düzeyleri değerlendirildiğinde; 2 izolat (%4.25) %17.78-23.33 gibi farklı oranlarda “zayıf” düzeyde, 11 izolat (%23.4) misel gelişimini %25.0-50.00 gibi farklı oranlarda “orta” seviyede, diğer 34 izolatın (%72.34) ise misel gelişimini >%50 oranlarda “güçlü” seviyede engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). Güçlü düzeyde antagonistik etki gösteren 34 bakteri izolat arasında 29 tanesinin Gram pozitif (+) *Bacillus* spp.'ye ait izolatlar olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

F. sambucinum'un misel gelişimi en güçlü bir şekilde %86,12 engelleme oranı ile *Lactobacillus paracasei* FKB9 ve *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 izolatları tarafından engellenirken, bu izolatları sırasıyla %83.88 ve %82.22 engelleme oranlarıyla *Bacillus*

amyloliquefaciens FKB20 ve *Bacillus cereus* FKB48 izolatları takip etmiştir (Şekil 4.9A, Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). Misel gelişimini engellemede farklı türdeki bakteri izolatları arasında olduğu kadar aynı türdeki bakteri izolatların antagonist etkinliklikleri açısından da istatistiksel olarak önemli düzeylerde farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çalışmamızda en etkili tür olarak belirlenen *Lactobacillus paracasei*'nin daha önceden *F. sambucinum*'a karşı biyokontrol etkinliğinin belirlenmesine yönelik yapılmış bir çalışmanın olmadığı, bakterinin fungal etmene biyokontrol etkinliğinin olduğu ilk kez bu çalışmayla ortaya konulmuştur. Genellikle ekşi mayalı gıdalardan izole edilmiş *Lactobacillus paracasei*'nin farklı *Fusarium* türlerine karşı biyokontrol etkinliğinin bulunduğu yapılan *in vitro* çalışmalarda bildirilmiştir (Hassan ve ark., 2008; Bartkiene ve ark., 2020; López-Seijas ve ark., 2019; Dinev ve ark., 2022; Kavková ve ark., 2023).

Çizelge 4.4. Aday antagonist endofit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde yaygın fungal hastalık etmenlerin misel gelişimi (mm) üzerine antagonistik etkinlikleri

<i>Endofit Bakteri İzolatu</i>	<i>Misel Gelişimi</i> ^a		
	<i>F.sambucinum</i>	<i>G.candidum</i>	<i>C.coccodes</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i> FKB9	8.33 ^a	12.33 ^a	8.33 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10	8.33 ^a	18.33 ^{e-h}	10.00 ^{a-c}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB20	9.67 ^{ab}	13.67 ^{a-c}	10.33 ^{bc}
<i>Bacillus cereus</i> FKB48	10.67 ^b	17.33 ^{d-g}	15.67 ^{i-k}
<i>Bacillus cereus</i> FKB5	12.67 ^c	17.00 ^{d-g}	13.67 ^{e-i}
<i>Bacillus cereus</i> FKB28	12.67 ^c	14.33 ^{a-d}	15.67 ^{i-k}
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> FKB2	13.00 ^c	23.00 ^{jk}	14.00 ^{e-i}
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1	13.33 ^c	11.67 ^a	13.33 ^{e-h}
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB25	13.33 ^c	12.33 ^a	9.00 ^{a-c}
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB40	14.00 ^{cd}	19.33 ^{e-i}	21.00 ^{no}
<i>Bacillus subtilis</i> FKB24	14.33 ^{cd}	13.33 ^{ab}	8.67 ^{ab}
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB8	15.33 ^d	16.67 ^{c-f}	12.67 ^{ef}
<i>Bacillus thuringiensis</i> FKB3	17.33 ^e	19.00 ^{e-i}	17.33 ^{kl}
<i>Bacillus pumilus</i> FKB15	17.67 ^e	16.67 ^{c-f}	15.33 ^{h-j}
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB13	18.33 ^{ef}	18.33 ^{e-h}	15.00 ^{g-i}
<i>Bacillus subtilis</i> FKB42	18.33 ^{ef}	19.67 ^{e-j}	10.00 ^{a-c}
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB29	18.67 ^{e-g}	18.00 ^{e-g}	13.33 ^{e-h}
<i>Bacillus subtilis</i> FKB22	19.00 ^{e-h}	21.67 ^{h-k}	13.67 ^{e-i}
<i>Bacillus cereus</i> FKB27	19.00 ^{e-h}	20.33 ^{a-g-j}	14.67 ^{f-i}
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB4	20.00 ^{f-i}	19.00 ^{e-i}	18.00 ^{lm}

Çizelge 4.4. (Devamı) Aday antagonist endofit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde yaygın fungal hastalık etmenlerin misel gelişimi (mm) üzerine antagonistik etkinlikleri

<i>Bacillus mojavensis</i> FKB35	20.00 ^{f-i}	20.00 ^{f-j}	15.33 ^{h-j}
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36	20.33 ^{g-i}	17.67 ^{e-g}	13.00 ^{e-g}
<i>Bacillus horneckiae</i> FKB47	20.67 ^{hi}	24.67 ^{kl}	19.33 ^{mn}
<i>Clostridium novyi</i> FKB11	21.33 ⁱ	16.33 ^{b-e}	10.33 ^{bc}
<i>Bacillus subtilis</i> FKB33	21.67 ⁱ	24.67 ^{kl}	17.00 ^{j-l}
<i>Bacillus cereus</i> FKB41	21.67 ⁱ	19.67 ^{e-j}	20.33 ^{no}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> FKB7	24.00 ^j	17.67 ^{e-g}	10.00 ^{a-c}
<i>Bacillus subtilis</i> FKB34	24.33 ^{jk}	25.00 ^{kl}	15.67 ^{i-k}
<i>Bacillus subtilis</i> FKB12	25.00 ^{j-l}	20.33 ^{g-j}	10.67 ^{cd}
<i>Bacillus cereus</i> FKB21	25.67 ^{k-m}	20.00 ^{f-j}	14.67 ^{f-i}
<i>Flavobacterium anhuiense</i> FKB18	26.33 ^{lm}	22.00 ^{i-k}	12.33 ^{de}
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB23	26.67 ^m	22.33 ^{i-k}	13.33 ^{e-h}
<i>Bacillus cereus</i> FKB16	29.67 ⁿ	23.00 ^{jk}	21.67 ^o
<i>Bacillus cereus</i> FKB26	29.67 ⁿ	22.33 ^{i-k}	17.00 ^{j-l}
<i>Cronobacter</i> sp. FKB37	30.00 ⁿ	24.67 ^{kl}	27.67 ^{r-t}
<i>Leclercia adecarboxylata</i> FKB17	31.00 ^{no}	34.00 ^p	31.67 ^v
<i>Bacillus mycoides</i> FKB44	31.00 ^{no}	30.67 ^{no}	26.00 ^l
<i>Panteo agglomerans</i> FKB46	31.67 ^{op}	40.33 ^r	33.67 ^y
<i>Bacillus megaterium</i> FKB6	32.00 ^{op}	29.33 ^{no}	28.00 st
<i>Bacillus simplex</i> FKB45	33.00 ^p	24.33 ^{kl}	31.33 ^v
<i>Bacillus kochii</i> FKB43	34.67 ^r	26.33 ^{lm}	18.33 ^{lm}
<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> FKB38	36.33 ^s	31.67 ^{op}	24.00 ^p
<i>Enterobacter cloacae</i> FKB14	40.00 ^t	28.00 ^{mn}	26.67 ^m
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB19	40.67 ^t	30.00 ^{no}	27.67 ^m
<i>Lysinibacillus sphaericus</i> FKB30	45.00 ^u	38.00 ^r	24.00 ^p
<i>Bacillus simplex</i> FKB32	46.00 ^u	32.33 ^{op}	29.00 ^{tu}
<i>Staphylococcus warneri</i> FKB39	49.33 ^v	32.33 ^{op}	30.33 ^{uv}
Kontrol	60.00 ^y	60.00 ^s	40.00 ^z

^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). Yüksek etkinlik gösteren izolatlar **koyu** renkle belirtilmiştir

Çizelge 4.5. Aday antagonist endofit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde yaygın fungal hastalık etmenlerin misel gelişiminin engellenmesi (%) üzerine antagonistik etkinlikleri

<i>Endofit Bakteri İzolat</i>	Misel Gelişiminin Engellenmesi %		
	<i>F.sambucinum</i>	<i>G. candidum</i>	<i>C.coccodes</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i> FKB9	86.12	79.45	79.18
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10	86.12	69.45	75.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB20	83.88	77.22	74.18
<i>Bacillus cereus</i> FKB48	82.22	71.12	60.83
<i>Bacillus cereus</i> FKB5	78.88	71.67	65.83
<i>Bacillus cereus</i> FKB28	78.88	76.12	60.83
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> FKB2	78.33	61.67	65.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1	77.78	80.55	66.68
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB25	77.78	79.45	77.50
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB40	76.67	67.78	47.50
<i>Bacillus subtilis</i> FKB24	76.12	77.78	78.33
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB8	74.45	72.22	68.33
<i>Bacillus thuringiensis</i> FKB3	71.12	68.33	56.68
<i>Bacillus pumilus</i> FKB15	70.55	72.22	61.68
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB13	69.45	69.45	62.50
<i>Bacillus subtilis</i> FKB42	69.45	67.22	75.00
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB29	68.88	70.00	66.68
<i>Bacillus subtilis</i> FKB22	68.33	63.88	65.83
<i>Bacillus cereus</i> FKB27	68.33	66.12	63.33
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB4	66.67	68.33	55.00
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB35	66.67	66.67	61.68
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36	66.12	70.55	67.50
<i>Bacillus horneckiae</i> FKB47	65.55	58.88	51.68
<i>Clostridium novyi</i> FKB11	64.45	72.78	74.18
<i>Bacillus subtilis</i> FKB33	63.88	58.88	57.50
<i>Bacillus cereus</i> FKB41	63.88	67.22	49.18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> FKB7	60.00	70.55	75.00
<i>Bacillus subtilis</i> FKB34	59.45	58.33	60.83
<i>Bacillus subtilis</i> FKB12	58.33	66.12	73.33
<i>Bacillus cereus</i> FKB21	57.22	66.67	63.33
<i>Flavobacterium anhuiense</i> FKB18	56.12	63.33	69.18
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB23	55.55	62.78	66.68
<i>Bacillus cereus</i> FKB16	50.55	61.67	45.83
<i>Bacillus cereus</i> FKB26	50.55	62.78	57.50
<i>Cronobacter sp.</i> FKB37	50.00	58.88	30.83
<i>Leclercia adecarboxylata</i> FKB17	48.33	43.33	20.83

Çizelge 4.5. (Devamı) Aday antagonist endofit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde yaygın fungal hastalık etmenlerin misel gelişiminin engellenmesi (%) üzerine antagonistik etkinlikleri

<i>Bacillus mycoides</i> FKB44	48.33	48.88	35.00
<i>Panteo agglomerans</i> FKB46	47.22	32.78	15.83
<i>Bacillus megaterium</i> FKB6	46.67	51.12	30.00
<i>Bacillus simple</i> FKB45	45.00	59.45	21.68
<i>Bacillus kochii</i> FKB43	42.22	56.12	54.18
<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i> FKB38	39.45	47.22	40.00
<i>Enterobacter cloacae</i> FKB14	33.33	53.33	33.33
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB19	32.22	50.00	30.83
<i>Lysinibacillus sphaericus</i> FKB30	25.00	36.67	40.00
<i>Bacillus simplex</i> FKB32	23.33	46.12	27.50
<i>Staphylococcus warneri</i> FKB39	17.78	46.12	24.18
Kontrol	0.00	0.00	0.00

- Yüksek etkinlik gösteren izolatlar **koyu** renkle belirtilmiştir



Şekil 4.9. Sağlıklı yumrulardan izole edilmiş endofit bakteri izolatlarının ikili kültür testlerinde (A) *F. sambucinum*, (B) *G. candidum* ve (C) *C. coccodes* hastalık etmenlerinin misel gelişimini engelleme potansiyelleri

Patates çürüklükleriyle mücadele etmek için araştırılan alternatifler arasında mikrobiyal etmenlerin ve özellikle *Bacillus* izolatlarının kullanımı önemli bir potansiyel göstermiştir (Hussain ve ark., 2023). Ramlawi ve ark. (2021) tarafından yapılan çalışmada *Bacillus subtilis* B9-8, *Pseudomonas moraviensis* F9-6, *Pseudomonas koreensis* F9-9 ve *Pseudomonas gessardii* M9-16 izolatları ile hücre kültür ekstraktlarının *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda *F. sambucinum*'un misel gelişimi ve konidi çimlenmesinin engellenmesinde antagonistik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Ben Khedher ve ark. (2021) tarafından yapılan bir diğer çalışmada *Bacillus subtilis* V26 izolatının IAA, siderophore, hidrolitik enzim iturin, fengycin, surfactin, bacylomycin, macrolactin, bacillaene ve bacilysin üretiminin yanı sıra azot fiksasyonu ve inorganik fosforu çözme potansiyeline sahip olduğu, patates kuru çürüklük hastalığı etmenlerinden *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum* ve *F. sambucinum* gelişimini %54.7 ile %85 oranında engellediği bildirilmiştir. *F. sambucinum* ile inokule edilmiş patates tohumluk yumrularına yapılan fungusit ve antagonist bakteri uygulamaları sonucunda hastalık çıkışı fludioxonil uygulaması tarafından %55.7 tarafından engellenmiş olup, bu uygulamayı %47.5 engelleme oranı ile hardal uygulaması, %35 ve %26.5 engelleme oranları ile antagonist *Pseudomonas fluorescens* ve *Enterobacter cloacae* izolatları takip etmiştir (Al-Mughrabi, 2010)

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, farklı kaynaklardan elde edilmiş PGPR bakteri *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus macerans* ve *Flavobacter balastinium* izolatlarının patates kuru çürüklük hastalığı etmenleri *Fusarium sambucinum*, *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium culmorum*'a karşı *in vitro* ve yarı *in vivo* testlerde değişen oranlarda antifungal etkinlik gösterdiği, en yüksek etkinliğin *Burkholderia cepacia* tarafından gösterildiği tespit edilmiştir (Kotan ve ark., 2009). *B. amyloliquefaciens* DA12'nin 8 toksijenik *Fusarium* spp. ırkın misel büyümesini %57,1 ile 74,0 arasında değişen engelleme oranlarda baskıladığı bildirilmiştir (Lee ve ark., 2017). Shternshis ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada *Fusarium sambucinum*'un neden olduğu ahududu meyve hastalığının biyolojik mücadelesinde *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* ve *Bacillus amyloliquefaciens* izolatlarının antagonistik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Patates yumrularında sık ratlanılan bir diğer fungal patojen lastik çürüklük hastalığı etmeni *G. candidum* olarak belirlenmiştir (Şekil 4.9B). Test edilen 47 aday antagonist bakteri izolatu arasında 7 izolatin (%14.9) misel gelişimini %32.78-48.88 gibi farklı seviyelerde “orta” düzeyde, diğer 40 izolatin (%85.1) >%50 oranlarda “güçlü” seviyede engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). İstatistik analiz sonucunda aday antagonist bakteri izolatları arasında ciddi farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. *F. sambucinum*’a karşı etkili olan izolatlarında aralarında bulunduğu *Bacillus spp.*’ye bağlı izolatlar *G. candidum*’un misel gelişimini oldukça yüksek düzeylerde engellediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). İstatistik olarak aynı gruba düşen 6 izolat arasında *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatu *G. candidum*’un misel gelişimi %80.55 engelleme oranı ile en güçlü bir şekilde engellerken, bu bakteri izolatını sırasıyla %79.45-76.12 engelleme oranlarıyla *Lactobacillus paracasei* FKB9, *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25, *Bacillus subtilis* FKB24, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20 ve *Bacillus cereus* FKB28 izolatları izlemiştir (Çizelge 4.4). Misel gelişimini engellemede farklı türdeki bakteri izolatları arasında olduğu kadar aynı türdeki bakteri izolatların antagonist etkinliklikleri açısından da istatistiksel olarak önemli düzeylerde farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Yapılan literatür taramasında gerek ülkemizde gerekse diğer ülkelerde patates lastik çürüklük hastalığı etmeni *G. candidum*’a karşı antagonist bakterilerin biyolojik mücadele etkinliğinin belirlenmesi üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamış olup, antagonist bakterilerin patates lastik çürüklük hastalığı etmeni *G. candidum*’a karşı biyokontrol etkinliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Havuçlarda görülen acı çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum candidum*’a karşı 15 bakteriyel biyokontrol etmeninin *in vitro* antagonist etkinlikleri test edilmiştir. İkili kültür testleri sonunda, bakteriyel biyokontrol etmenlerin misel gelişimini engelleme seviyeleri %7.40-37.96 oranlarında gerçekleşmiştir. *In vitro* koşullarda *G. candidum*’un gelişimi üzerine en güçlü etkiyi %37.96 oranla *Pseudomonas fluorescens* RK-254 izolatu göstermiş olup bunu *Pseudomonas fluorescens* FDG-37 ve *Bacillus subtilis* RK-506 izolatları izlemiştir (Tozlu, 2016).

Emdirme (2019) tarafından yapılan lisansüstü tez çalışmasında kökü yenen kültür bitkilerinden izole edilen toplam 46 endofit ve epifit bakteri izolatının *Geotrichum candidum*, *Botrytis cinerea* ve *Sclerotinia sclerotiorum* gibi fungal patojenlerin misel

gelişimini *in vitro* koşullarda etkili bir şekilde engellediği belirlenmiştir. Test sonuçlarına göre endofit bakteriler, epifit bakterilere göre daha güçlü seviyede antagonistik etki göstermiştir. *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp.'ye ait izolatların tamamı, söz konusu patojenlerin misel gelişimini engellemede etkili olmuştur. *Pseudomonas brassicacearum*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mojavensis*, *Pseudomonas chloropsis*, *Pseudomonas koreensis* ve *Acinetobacter tandoii* türlerine ait izolatlar, fungal misel gelişimini %75'in üstünde engelleyerek en güçlü etki gösteren bakteriyel antagonistler olarak belirlenmiştir. *Pseudomonas choloraphis*, *Bacillus mojevensis*, *Bacillus subtilis* ve *Acinetobacter tandoii* izolatları *B. cinerea*'nın ve *Bacillus subtilis* izolatları *S. sclerotiorum*'un; engelleme bölgesi civarındaki misellerde erime, kararma ve pıhtılaşma, kararma ve erime gibi kayda değer morfolojik değişikliklere neden olmuştur.

Hong ve ark. (2014) %2 sodyum bikarbonat, 2 dakika süre boyunca 45°C sıcak suda bekletilmiş ve akabinde *B. amyloliquefaciens* bakterisi püskürtülmüş mandarin meyvelerinde *G. candidum* tarafından neden olunan ekşi çürüklük hastalığının fungusit uygulamalarındaki etkinliğe eşdeğer bir engellenme tespit etmişlerdir.

Soylu ve ark. (2022) tarafından turunçgil meyvelerinde ekşi çürüklük hastalığı etmeni *Geotrichum citri-aurantii*'nin biyolojik mücadelesinde endofit bakterilerin biyokontrol potansiyelleri belirlenmiştir. Sağlıklı turunçgil ağaçlarından elde edilen bakteriler arasında *Bacillus* spp.'ye ait izolatlar fungal etmenin *in vitro* misel gelişimini %78.6, *in vivo* meyve çürüklüğü belirtilerini ise %83.3 gibi yüksek oranlarda engellemiştir. En yüksek antagonistik etkinlik *B. subtilis* CM8 izolatı tarafından gösterilmiştir. *Bacillus* spp.'ye ait izolatlar engellenme bölgesine yakın noktalardaki hastalık etmenin hiflerinde vakuolleşme, büzüşme, şişme ve erime gibi önemli morfolojik değişikliklere neden olmuştur.

Çalışmada izole edilen antagonist bakterilerin biyoetkinlikleri bir diğer önemli depo pataojeni olan patates siyah nokta hastalığı etmeni *C. coccodes*'e karşıda belirlenmiştir (Şekil 4.9C). Antagonist bakteri izolatı arasında *C. coccodes*'in misel gelişimi 4 izolat (%8.5) tarafından %15.83-24.17 oranlarında değişen düzeylerde “zayıf” olarak engellenmiş olup, 11 izolatın (%23.4) misel gelişimini %27.5-49.18 gibi değişen oranlarda “orta” seviyede, diğer 32 izolatın (%68,08) ise misel gelişimini >%50 oranlarda “güçlü” seviyede engellediği belirlenmiştir (Çizelge 4 ve Çizelge 5). İstatistik analiz

sonucuna göre izolatlar arasında kayda değer farklılıkların olduğu, *Pseudomonas aeruginosa* FKB7 haricinde *Bacillus* spp.'ye bağlı gram pozitif (+) bakteri izolatlarının *C. coccodes*'in misel gelişimini oldukça etkili düzeylerde engellediği tespit edilmiştir. *C. coccodes*'in misel gelişimi %79.18 engelleme oranı ile en yüksek şiddetle *Lactobacillus paracasei* FKB9 izolatı tarafından engellenirken, bu izolatları sırasıyla %78.33 ve %77.5 engelleme oranlarıyla *Bacillus subtilis* FKB24 ve *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25 izolatları izlemiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). Misel gelişimini engellemede farklı türdeki bakteri izolatları arasında olduğu kadar aynı türdeki bakteri izolatlar arasında istatistiksel olarak önemli düzeylerde farklılıklar tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Yapılan literatür taramasında gerek ülkemizde gerekse diğer ülkelerde patates siyah leke hastalığı etmeni *C. coccodes*'e karşı antagonist bakterilerin biyolojik mücadele etkinliğinin belirlenmesi üzerine yapılmış bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Antagonist bakterilerin patates siyah leke hastalığı etmeni *C. coccodes*'e karşı biyokontrol etkinliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Yakın zamanda *C. acutatum*, *C. coccodes*, *C. dematium* ve *C. gloeosporioides* gibi tropikal meyvelerde antraknoza sebep olan etmenlerin misel gelişimini engellemede bakteriyel biyokontrol etmeni *Bacillus velezensis*'in uçucu bileşiklerinin oldukça yüksek düzeyde etki gösterdiği bildirilmiştir (Kim ve ark., 2022). Wei ve ark. (2022) tarafından yapılan bir diğer çalışmada mera toprağından izole edilen endofitik bakteri *Bacillus mojavensis* ZA1 izolatının hücre kültüründen elde edilen etil asetat ekstraktının patates siyah leke hastalığı etmeni *C. coccodes*'in misel gelişimini %60.95 oranında engellemek suretiyle biyokontrol etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Hücre kültür ekstraktının kimyasal bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla GC-MS analizi yapılmış, sonuçlara göre asitler, esterler, ketonlar, alkoller, amino asit amonyum tuzları, siklik eterler, aromatik hidrokarbonlar ve heterosiklik bileşikler dahil olmak üzere otuz beş farklı kimyasal, *C. coccodes*'e karşı antifungal etkiye sahip metabolitler olduğu belirlenmiştir.

Sağlıklı patates yumrularından izole edilen 47 adet bakteri izolatının 3 farklı fungal hastalık etmeninin (*F. sambucinum*, *G. candidum* ve *C. coccodes*) misel gelişiminin engellenmesinde göstermiş oldukları antagonistik etkinlikleri genel olarak değerlendirildiğinde; izolatların *F. sambucinum*'a karşı engelleme yüzdesinin %17.78-86.12 aralığında, engelleme oranlarının ortalamasının ise %60.58 olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). *G. candidum*'a karşı engelleme yüzdelik oranlarının

%32.78-80.55 arasında değiştiği, engelleme ortalamasının ise %63.13 değerinde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5). *C. coccodes* açısından antagonist etkinlik yorumlandığında ise bakteri izolatlarının misel gelişimini engelleme yüzdeleri %15.83-79.18 aralığında değişkenlik göstermiş olup engelleme yüzdeler ortalamasının %55.39 olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Söz konusu olan 3 farklı hastalık etmeni fungusun misel gelişimi üzerinde güçlü düzeyde (>%50) engelleme etkinliği gösteren toplam izolat sayısı 31 adet olarak tespit edilmiştir. Test edilen 3 farklı hastalık etmeninin misel gelişiminin engellenmesi üzerinde oldukça yüksek düzeyde ($\geq$ %70) antagonistik etkinlik gösteren 4 bakteri izolatı *Lactobacillus paracasei* FKB9, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20, *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25 ve *Bacillus subtilis* FKB24 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5).

Endofit bakteriler zengin biyolojik çeşitliliğe sahip ve konukçu bitkiler üzerinde olumlu etkileri olup bitkilerde yaygın olarak bulunur. Tarımdaki mevcut en büyük zorluklardan biri, daha yüksek bitkisel ürün verimi elde etmektir. Bazı endofit *Bacillus* türleri hâlihazırda bitkisel ürün yönetimi için tamamlayıcı, etkili ve güvenli alternatifler olarak kullanılmaktadır. Endofit *Bacillus* türleri bitkileri fitopatojenik mikroorganizmalar, böcekler ve nematodlardan korur, hastalık direncini arttır ve çevreye zarar vermeden bitki büyümesinin teşvik ederek bitkiye bir dizi katkı sağlar. (Xia ve ark., 2015; Radhakrishnan ve ark., 2017; Lopes ve ark., 2018;).

Bacillus spp. ayrıca uçucu organik bileşikler (*Volatile Organic Compounds*) olarak adlandırılan, potansiyel antifungal aktiviteye sahip metabolitler üretirler. Bu tür uçucu bileşiklerin hastalık etmeni mikroorganizmaların hücre duvarını tahrip ederek doğrudan veya bitkide hastalıklara karşı sistemik kazandırılmış dayanıklılığı (Systemic Acquired Resistance-SAR) teşvik ederek dolaylı yöndende etki gösterebildiği rapor edilmiştir (Chen ve ark., 2008; Zheng ve ark., 2013).

Endofit bakterilerin, özellikle *Bacillus* cinsi bakterilerin uygulanması, sürdürülebilirlikleri ve ekolojik güvenlikleri nedeniyle bitki fungal hastalıklarının biyokontrolü için umut verici bir strateji sunmaktadır. Çeşitli endofit bakterilerde antifungal kapasite gösteren çok sayıda sekonder metabolit tanımlanmış olmasına rağmen, bunların biyosentezinin düzenleyici mekanizmaları büyük ölçüde bilinmemektedir (Tian ve ark., 2021). Biyolojik bitki koruma ürünlerinin en büyük

grubunu *Bacillus* cinsine dâhil izolatları içeren preparatlar oluşturur. Söz konusu preparatların ana maddesi olan *Bacillus* spp.'ye ait izolatlar, uygulandıkları ortamlarda antibiyotikler, biyofilmler, kitinazlar, glukanaazlar gibi çok sayıda enzimatik protein metabolitleri sentezleme kapasitesine sahiptir (Liu ve ark. 2010).

Daha önceden yapılmış olan biyolojik mücadele çalışmalarında *B. subtilis*'in farklı konukçu bitkilerde hastalık etmeni olan *F. sambucinum*, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, *F. solani* ve *F. graminearum* dâhil olmak üzere çeşitli *Fusarium* türlerinin misel gelişimini %85 gibi yüksek oranlarda engellediği bildirilmiştir (Kotan ve ark, 2009; Mardanova ve ark., 2017; Mohamed ve ark., 2017; Kalantari ve ark., 2018; Ben Khedher ve ark., 2021; Mehmood ve ark., 2021; Ramlawi ve ark., 2021; Alfiky ve ark., 2022). *B. subtilis* B9-8 izolatının *F. sambucinum* büyümesini azaltmada en etkili mikrobiyal etmen arasında yer almış ve aynı zamanda patatesin kuru çürümesine karşı en baskılayıcı etmen olmuştur (Ramlawi ve ark., 2021).

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

İkili kültür testlerinde fungal etmenlerin misel gelişimini farklı oranlarda engelleyen antagonistik türleri temsilen 21 farklı türe ait izolat seçilmiştir. Bu izolatlar fungal hastalık etmenlerinin misel gelişiminin engellenmesinde (antagonistik) rol oynayan biyokontrol etki mekanizmalarından siderofor, proteaz, hidrojen siyanür (HCN) ve amonyak (NH₃) üretme potansiyelleri değerlendirilmiştir. Bakteri izolatların bu mekanizmalara spesifik besi yerlerinde oluşturdukları engelleme bölgelerinin (zonların) bakteri çapına kıyaslanarak hesaplanmış indeks değerleri ile kantitatif, geliştikleri besi yerlerinde neden oldukları renk değişiklik derecesine göre ise kalitatif olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da toplu olarak verilmiştir.

Siderofor oluşturma potansiyeli açısından test edilen 21 izolat arasından 17 izolat besi yeri üzerinde 1.11-2.09 indeks değerleri aralığında “siderofor” üretmiştir. Farklı türlerin veya aynı türe bağlı izolatlar siderofor oluşturma açısından istatistiksel olarak birbirlerinden önemli düzeyde farklılık gösterdikleri belirlenmiştir. Çizelge 4.6'da gösterildiği gibi en yüksek siderofor etkinliği 2.09 indeks değeri ile *Enterobacter cloacae* FKB14 izolatı tarafından gösterilmiştir. Bu izolatı 1.57 indeks değeri ile farklı istatistik

grubuna düşen *Staphylococcus warneri* FKB39, *Bacillus horneckiae* FKB47 ve *Bacillus kochii* FKB43 izolatları izolatları izlemiştir (Çizelge 4.6).

Proteaz enzim etkinliği 21 izolat arasından 15 izolat tarafından gösterilmiştir. En yüksek proteaz etkinliği 3.61 indeks değeriyle *Flavobacterium anhuiense* FKB18 izolatı tarafından gösterilirken bu izolatı 3.52 indeks değeri ile *Bacillus subtilis* FKB33 ve 2.58 indeks değeri ile *Bacillus atrophaeus* FKB36 izolatları takip etmiştir. Test edilen tüm izolatlar arasında istatistik farklılıklar açık bir şekilde gözlenmiştir (Çizelge 4.6).

Test edilen 21 izolatın tamamı besi yerinde amonyak üretme etkinliği göstermiştir. İzolatlar arasında *Bacillus horneckiae* FKB47, *Pseudomonas aeruginosa* FKB7, *Flavobacterium anhuiense* FKB18, *Bacillus megaterium* FKB6 ve *Bacillus subtilis* FKB24 en yüksek düzeyde (+++ şiddetinde) amonyak etkinliği göstermiş, bu izolatları ++ etkinlik düzeyi ile *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10, *Leclercia adecarboxylata* FKB17, *Bacillus cereus* FKB5, *Bacillus subtilis* FKB33 ve *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatları takip etmiştir (Çizelge 4.6).

Test edilen 21 bakteri izolat arasından sadece *Pseudomonas aeruginosa* FKB7, *Bacillus pumilus* FKB15 ve *Staphylococcus warneri* FKB39 izolatlarının HCN ürettikleri tespit edilmiştir. Test edilen diğer 18 bakteri izolatının hidrojen siyanür (HCN) üretmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Antagonist bakteri izolatların misel gelişiminin engellenmesinde rol oynayan olası antagonistik etki mekanizmaları^a

Bakteri İzolatı	Sid-Ind	Pro-Ind	NH ₃	HCN
<i>Enterobacter cloacae</i> FKB14	2.09 ^h	0.00 ^a	+	-
<i>Staphylococcus warneri</i> FKB39	1.57 ^g	0.00 ^a	+	±
<i>Bacillus horneckiae</i> FKB47	1.57 ^g	0.00 ^a	+++	-
<i>Bacillus kochii</i> FKB43	1.57 ^g	0.00 ^a	+	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10	1.49 ^{fg}	1.36 ^{bc}	++	-
<i>Bacillus thuringiensis</i> FKB3	1.44 ^{e-g}	1.64 ^{b-d}	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> FKB7	1.40 ^{d-g}	2.06 ^{d-f}	+++	+++
<i>Leclercia adecarboxylata</i> FKB17	1.40 ^{d-g}	0.00 ^a	++	-
<i>Bacillus cereus</i> FKB5	1.39 ^{c-g}	1.64 ^{b-d}	++	-
<i>Flavobacterium anhuiense</i> FKB18	1.33 ^{b-g}	3.61 ^g	+++	-
<i>Lysinibacillus sphaericus</i> FKB30	1.27 ^{b-f}	0.00 ^a	±	-
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB23	1.19 ^{b-e}	1.31 ^{bc}	±	-
<i>Bacillus pumilus</i> FKB15	1.19 ^{b-e}	1.85 ^{c-e}	+	+
<i>Bacillus megaterium</i> FKB6	1.16 ^{b-d}	2.35 ^{ef}	+++	-
<i>Bacillus subtilis</i> FKB24	1.13 ^{bc}	1.23 ^{bc}	+++	-

Çizelge 4.6. (Devam) Antagonist bakteri izolatların misel gelişiminin engellenmesinde rol oynayan olası antagonistik etki mekanizmaları^a

<i>Bacillus simplex</i> FKB45	1.12 ^{bc}	1.13 ^b	+	-
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB4	1.11 ^b	1.89 ^{c-e}	+	-
<i>Bacillus subtilis</i> FKB33	0.00 ^a	3.52^g	++	-
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36	0.00 ^a	2.58^f	±	-
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> FKB2	0.00 ^a	1.88 ^{c-e}	+	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1	0.00 ^a	1.13 ^b	++	-

Sid-Ind: Siderofor; indeksi **Pro-Ind:** Proteaz indeksi; **NH₃:** Amonyak; **HCN:** Hidrojen Siyanür; -, renk değişimi olmadığını, ±, +, ++, +++ ise HCN veya amonyak konsantrasyonunun artışına paralel renk değişim şiddetindeki artışını gösterir. Yüksek etkinlik gösteren izolatlar **koyu** renkle belirtilmiştir.

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

İkili kültür testlerinde kullanılan ve antagonistik etkinlikleri belirlenen her bir türü temsilen seçilmiş 21 farklı bakteri izolatın bitki büyümesini teşvik etmekten sorumlu olabilecek olası etki mekanizmalarından indol asetik asit (IAA) hormonunu üretme ve besi yeri üzerinde bağlı fosforu çözme potansiyelleri kantitatif olarak belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7’de gösterilmiştir. Bitki büyümesini teşvik eden hormonlardan olan IAA üretimi test edilen 21 izolatın tamamının 1,15-113,44 µg/ml (ppm) konsantrasyonunda üretildiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). En yüksek IAA 113,44 ppm konsantrasyonu ile *Enterobacter cloacae* FKB14 izolatı tarafından üretilmiş olup, bu izolatı 49,34 ppm konsantrasyonu ile *Bacillus atrophaeus* FKB36, 32,58 ppm konsantrasyonu ile *Lysinibacillus sphaericus* FKB30 izolatları izlemiştir (Çizelge 4.7). *Actinomyces*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Arthrobacter*, *Sthaphylococcus*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Gluconacetobacter*, *Azotobacter*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Caulobacter* cinsi gibi birçok bakterinin genellikle bitki büyümesini düzenleyen İndol Asetik Asit (IAA) hormonu ürettiği bildirilmiştir (Hayat ve ark., 2010). Hidrojen siyanür (HCN), siderofor, proteaz ve amonyak (NH₃) üretimi *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. ve *Acinetobacter* spp.’ye ait izolatları tarafından sıklıkla rapor edilmiş “antagonistik” etki mekanizmalarından bazılarıdır. Ayrıca, en etkili “bitki büyümesini teşvik eden” mekanizmalar olarak IAA üretimi ve fosfor çözme etkinliği belirlenmiştir (Emdirme, 2019).

Antagonistlerin hasat sonrası hastalıkların gelişimini kontrol ettiği mekanizmalardan bazıları muhtemelen *in vitro* olarak ortaya çıkmazlar. Ancak *in vitro*

koşullarda antagonist etkinlik gösteremeyen izolatların bitki aktivatörü olarak bitki hücrelerinde patojenlere karşı savunma mekanizmalarının uyarılmasında rol oynarlar (Kumar ve ark., 2020). Bu tür izolatlar ayrıca patates yumrusunda yer ve/veya besin maddesi açısından funguslarla rekabete girerek hastalık etmenlerin gelişimini baskılayabilirler (Dukare ve ark., 2019).

Test edilen bakteri izolatların bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası mekanizmalardan fosfor çözme potansiyelleri ise tri kalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besi yeri üzerinde belirlenmiştir. Endofit bakterilerin fosfor çözme potansiyelleri ürettiği enzimler sebebiyle tri kalsiyum fosfatın çözülmesi sonucu koloni etrafında oluşan temizleme bölgesinin bakteri çapına kıyaslanmasıyla hesaplanmış indeks değerleri ile kantitatif olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre test edilen 21 izolat arasından sadece 9 izolat PVK besi yeri üzerinde fosfor çözme etkinliği göstermiştir. En yüksek etkinliğin 2.32 indeks değeri ile *Leclercia adecarboxylata* FKB17 izolatı tarafından gösterildiği belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Bu izolatı 1.78 ve 1.75 indeks değeri ile *Enterobacter cloacae* FKB14 ile *Pseudomonas aeruginosa* FKB7 izolatları takip etmiştir. Aralarında güçlü antagonistik etkinlik gösteren izolatlarında bulunduğu birçok izolatın PVK besi yeri üzerinde fosforu çözme etkinliği göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Çeşitli endofit antagonist 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>Enterobacter cloacae</i> FKB14	113.44 ⁱ	1.78 ^d
<i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36	49.34 ^h	0.00 ^a
<i>Lysinibacillus sphaericus</i> FKB30	32.58 ^g	0.00 ^a
<i>Bacillus thuringiensis</i> FKB3	25.63 ^f	0.00 ^a
<i>Bacillus pumilus</i> FKB15	14.22 ^e	1.11 ^b
<i>Staphylococcus warneri</i> FKB39	14.07 ^{de}	1.50 ^c
<i>Bacillus altitudinis</i> FKB4	12.70 ^{c-e}	1.17 ^b
<i>Bacillus kochii</i> FKB43	9.27 ^{b-e}	0.00 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1	7.91 ^{a-e}	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> FKB24	7.85 ^{a-e}	0.00 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> FKB7	7.48 ^{a-d}	1.75 ^d

Çizelge 4.7. (Devam) Çeşitli endofit antagonist bakteri izolatların bitki gelişimini teşvik etmede kullandıkları olası mekanizmaları^a

<i>Bacillus subtilis</i> FKB33	6.34 ^{a-c}	0.00 ^a
<i>Flavobacterium anhuiense</i> FKB18	6.26 ^{a-c}	0.00 ^a
<i>Bacillus megaterium</i> FKB6	5.99 ^{c-e}	1.10 ^b
<i>Bacillus simplex</i> FKB45	3.22 ^{ab}	0.00 ^a
<i>Bacillus horneckiae</i> FKB47	3.05 ^{ab}	0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i> FKB5	2.41 ^a	0.00 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10	1.88 ^a	1.08 ^b
<i>Bacillus subtilis spizizenii</i> FKB2	1.34 ^a	0.00 ^a
<i>Bacillus mojavensis</i> FKB23	1.30 ^a	1.08 ^b
<i>Leclercia adecarboxylata</i> FKB17	1.15 ^a	2.32^e

^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). Yüksek etkinlik gösteren izolatlar koyu renkle belirtilmiştir

Biyolojik mücadele etmeni bakteriler antibiyosis, hiperparazitizm, antimikrobiyal bileşikler/metabolitler, patojenlerle besin ve yer rekabetine girerek, indol asetik asit (IAA), amonyak (NH₃), siderofor, organik asit, hidrojen siyanür (HCN), proteaz, kitinaz, selüloz gibi litik enzimleri üretmek suretiyle çeşitli etki mekanizmaları kullanarak bitki hastalıklarına karşı biyoetkinlik gösterebilir. Bu tür faydalı bakteriler topraktaki organik maddeleri inorganik maddelere çevirerek toprağın verimini artırır. Toprakta mevcut fakat bitkinin alabileceği formda olmayan besin maddelerini bitki tarafından alınabilir forma çevirirler. Bu mekanizmaların yanında faydalı bakteriler konukçu bitkide hastalık etmenlerine karşı dayanıklılığı teşvik ederek de etkili olabilirler (Babalola, 2010; Khabbaz ve ark., 2015).

Zhang ve ark. (2015) patates yumrusu, etrafındaki topraklar ve soya fasulyesi yapraklarından izole ettikleri *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* sp. ve *Paenibacillus polymyxa* olarak tanılaması yapılmış 13 farklı bakteri izolatı *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* dâhil 10 değişik bitki patojenine karşı test etmişlerdir. Bakteri türlerinin farklı kimyasal yapıda antimikrobiyal bileşikler ürettikleri, bu sebeple farklı fungal patojenlere karşı değişken seviyelerde etkinlikler gösterdiği, izolatların HCN, kitinaz, proteaz, siderophores, IAA, β -1,3-glukanaz, salisilik asit gibi bileşiklerin yanı sıra azot fiksasyonu ve fosforu çözme kabiliyetlerinin farklı seviyelerde olduğunu bildirmişlerdir.

4.12. Aday Endofit Bakteri İzolatlarının Hastalık Çıkışı Üzerine Yarı *in vivo* Etkinliğinin Belirlenmesi

Aday endofit bakteri izolatlarının patates yumrularında hastalık çıkışının engellenmesi üzerine *in vivo* biyokontrol etkinliği *C. coccodes* izolatının hastalık belirtilerinin uzun sürmesi nedeniyle sadece *F. sambucinum* ve *G. candidum*'a karşı araştırılmıştır. Çalışmalarda her iki fungal hastalık etmenine karşı *in vitro* ikili kültür testlerinde antagonistik etkinliği yüksek *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1, *Bacillus thuringiensis* FKB3, *Bacillus cereus* FKB5, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10, *Bacillus subtilis* FKB24 ve *Bacillus atrophaeus* FKB36 gibi 6 farklı bakteri izolatı kullanılmıştır.

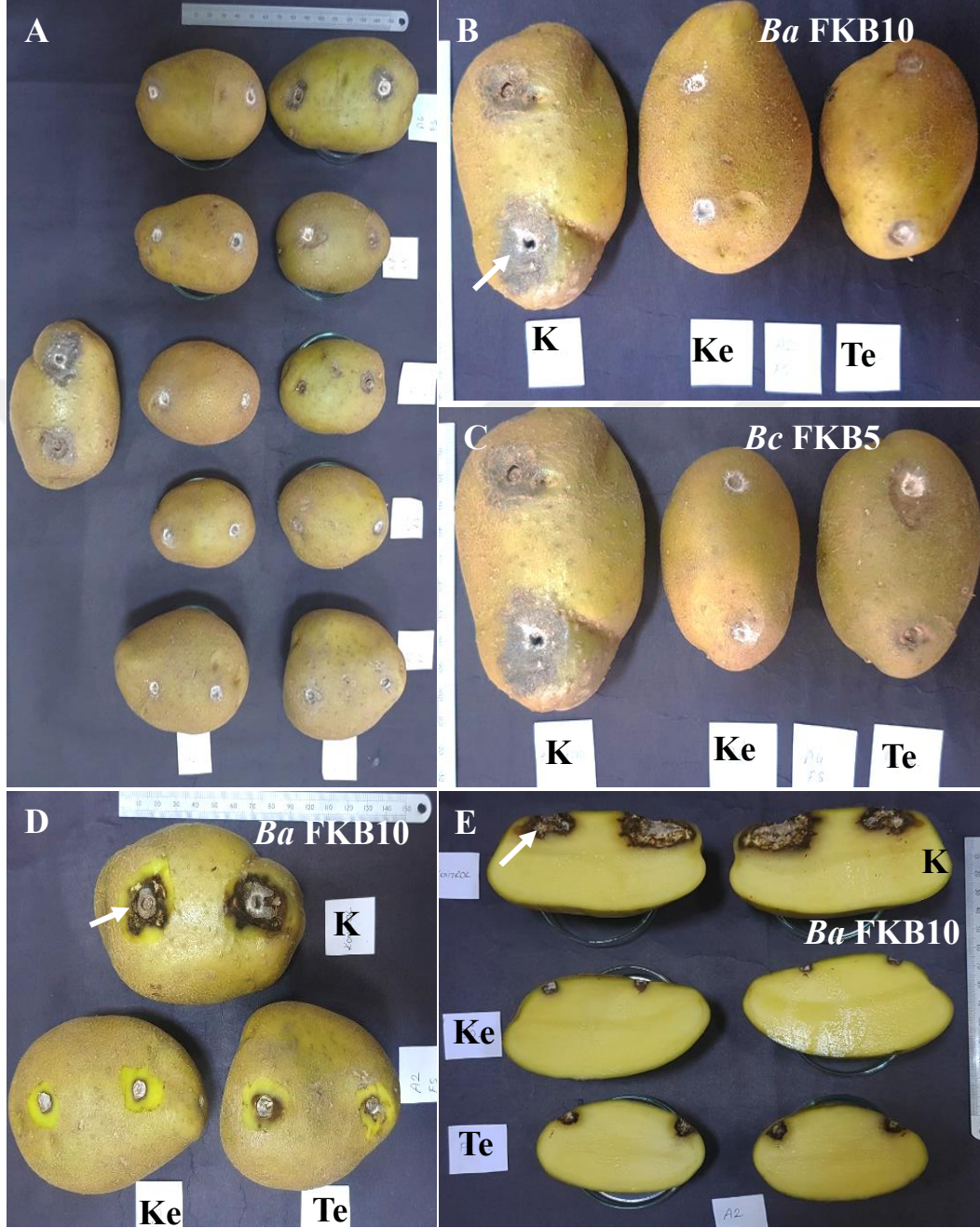
Antagonist bakterilerin patates yumruları üzerinde hastalık çıkışının engellenmesinde koruyucu ve tedavi edici etkileri araştırılmıştır. Uygulamadan 15 gün sonra farklı bakteri izolatları ile uygulama yapılmış patates yumruları hastalık gelişimi inokulasyon noktalarında ortaya çıkan çürüme şeklindeki lezyonların alanlarının ölçümleri yapılarak negatif (sadece bakteri uygulanmış, patojen inokule edilmemiş) ve pozitif (steril su uygulanmış, patojen inokule edilmiş) kontrol uygulamaları ile karşılaştırılmak suretiyle bakterilerin yarı *in vivo* etkinlikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.10)

Test edilen *F. sambucinum* ve *G. candidum* fungal etmenlerine karşı antagonistlerin biyoetkinliklerinin inokulasyondan iki gün önce ön inkübasyona bırakılmış uygulamalarda (koruyucu etki) daha yüksek seviyelerde gerçekleştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.10).

Fungal hastalık etmeni *F. sambucinum* izolatına karşı en yüksek ilk 3 biyokontrol etki 2 gün ön inkübasyona bırakılmak suretiyle yapılan uygulama şeklinde lezyon gelişimini %70.98 oranında engelleyen *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 izolatı tarafından gösterilmiş olup, bu izolatı %66.32 ile *Bacillus cereus* FKB5, %65.28 ile *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatları izlemiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.10).

Fungal hastalık etmeni *G. candidum* izolatına karşı en yüksek ilk 3 biyokontrol etki 2 gün ön inkübasyona bırakılmak suretiyle yapılan uygulama şeklinde lezyon gelişimini %65.85 oranında engelleyen *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatınca

gösterilmiş olup, bu izolatu %56.10 ile *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10, %52.03 ile *Bacillus cereus* FKB5 izolatları izlemiştir (Şekil 4.11, Çizelge 4.8).



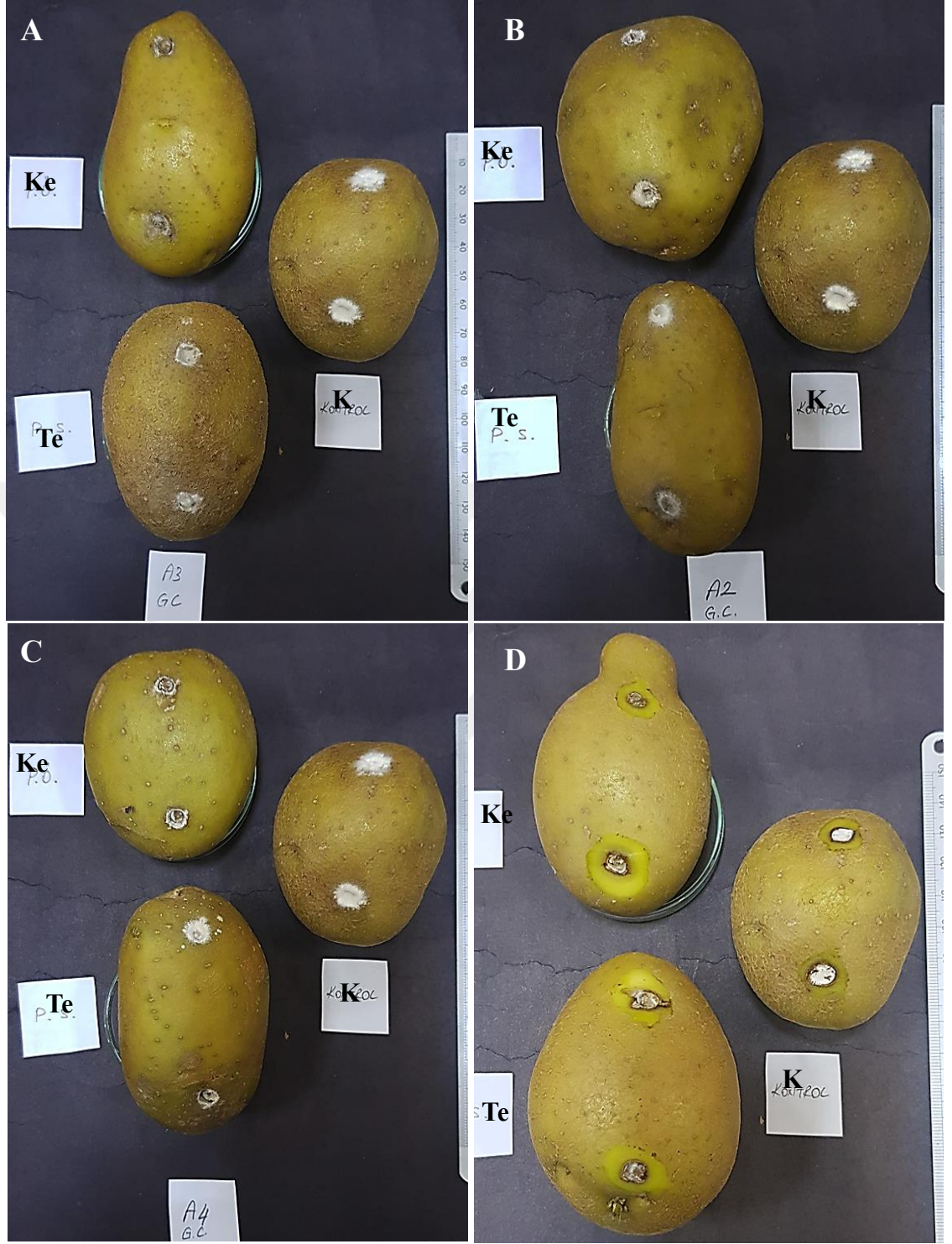
Şekil 4.10. Endofit bakterilerin yarı *in vivo* koşullarda *F. sambucinum* tarafından neden olunan lezyon gelişiminin engellenmesi üzerine olan etkinliklerinin belirlenmesi (A) Farklı bakteri uygulamaları, (B) *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 ve (C) *Bacillus cereus* FKB5 izolatların etkinliği. (D ve E) *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 uygulanmış patates yumrusu üzerindeki lezyon belirtilerinin (ok) engellenmesi

Çizelge 4.8. Farklı antagonist bakteri uygulamalarının yarı *in vivo* koşullarında patates yumrularında hastalık lezyon gelişiminin (mm)a engellenmesi üzerine olan etkinliği (%)

Bakteriyel izolatlar ve uygulama şekli	<i>F. sambucinum</i>		<i>G. candidum</i>	
	LG	LGE	LG	LGE
Kontrol (patojen)	24.13 ^h	0.00	15.38 ^h	0.00
A2 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10 Ke	7.00^a	70.98	6.75^b	56.10
A2 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FKB10 Te	9.25 ^{bc}	61.66	10.00 ^f	34.96
A4 <i>Bacillus cereus</i> FKB5 Ke	8.13^{ab}	66.32	7.38^{bc}	52.03
A4 <i>Bacillus cereus</i> FKB5 Te	11.63 ^e	51.81	10.00 ^f	34.96
A3 <i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1 Ke	8.38^{ab}	65.28	5.25^a	65.85
A3 <i>Bacillus amyloliquefaciens plantarum</i> FKB1 Te	13.25 ^f	45.08	8.75 ^{de}	43.09
A8 <i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36 Ke	10.13^{cd}	58.03	8.38^{de}	45.53
A8 <i>Bacillus atrophaeus</i> FKB36 Te	14.88 ^g	38.34	9.88 ^f	35.77
A6 <i>Bacillus thuringiensis</i> FKB3 Ke	11.00^{de}	54.40	9.13^{ef}	40.65
A6 <i>Bacillus thuringiensis</i> FKB3 Te	15.00 ^g	37.82	11.63 ^g	24.39
A5 <i>Bacillus subtilis</i> FKB24 Ke	9.25^{bc}	61.66	8.13^{cd}	47.12
A5 <i>Bacillus subtilis</i> FKB24 Te	10.38 ^{c-e}	56.98	8.88 ^{de}	42.24

LG: Lezyon gelişim çapı (mm); **LGE:** Lezyon gelişiminin % engellenme oranı; **Ke:** Koruyucu etki, Patojen inokulasyonu öncesi ön inkübasyon; **Te:** Tedavi edici etki, Patojenle birlikte inokulasyon

^a Sütun içerisinde yer alan ortalama lezyon çaplarının (mm) yanındaki aynı harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)



Şekil 4.11. Endofit bakterilerin yarı *in vivo* koşullarda *G. candidum* tarafından neden olunan lezyon gelişiminin engellenmesi üzerine olan etkinliklerinin belirlenmesi (A) *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1, (B) *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 (C) *Bacillus cereus* FKB5 izolatların etkinliği. (D) *Bacillus atrophaeus* FKB36 uygulanmış patates yumrusu üzerindeki lezyon belirtilerinin engellenmesi

Antagonist bakterilerin fungus patojen inokulasyonu öncesi bırakıldığı ön inkübasyon süresine bağlı olarak *in vitro* antagonistik etkinliği artış göstermiştir (Sönmez, 2018). Depolamadan hemen önce uygulandığında *B. subtilis* izolatların yumrulara hastalıklara karşı savunma mekanizmalarının yanısıra yumruların raf ömrünü uzatmaktan sorumlu fizyolojik süreçleri teşvik ettiği bildirilmiştir (Lastochkina ve ark., 2020). Geleneksel ve soğuk depolama koşullarında 6 ve 8 ay süre ile depolanan, carbendazim fungusiti ile muamele edilenlerle karşılaştırıldığında *B. cereus* ile muamele edilen patates yumrularında kuru çürüklük hastalık çıkışının önemli ölçüde baskılandığı belirlenmiştir (Sadfi ve ark., 2002).

Cherif ve ark. (2002) tarafından yapılan biyoetkinlik çalışmasında, patates kuru çürüklüğüne sebep olan *Fusarium roseum* var. *sambucinum* ile bakteriyel antagonistler *Bacillus cereus* X16 ve *Bacillus thuringiensis* 55T izolatlarının etkileşimi araştırılmıştır. Her iki bakteri izolatu yaralı patates yumrularındaki *Fusarium* kuru çürüklüğünün gelişimini güçlü bir şekilde baskılamıştır. Petri uygulamasında *B. cereus* X16 izolatının *B. thuringiensis* 55T izolatına kıyasla fungal patojene karşı daha etkili bir engelleme bölgesi oluşturmuştur. Işık mikroskopunda incelendiğinde *B. cereus* X16 ile fungal patojen karşılaştıktan engelleme bölgesinde genellikle yoğun lekeli protoplazmaya sahip bozulmamış fungal hücreleri görülmüşken, *B. thuringiensis* izolatu fungus hücre duvarında ciddi morfolojik bozukluklara neden olmuştur. Bu gözlemler, beklentilerin aksine, *B. thuringiensis* 55T izolatının antibiyotik ve kitinolitik aktivitelerinin, fungal patojenin parazitizminde oldukça önemli olabileceğini göstermiştir.

Bitki iç dokularını kolonileştirme ve patojenlerle aynı ekolojik konumlarda yaşama yeteneklerinin yanısıra hasat sonrası çürümeleri azaltmasında oldukça etkili olmaları *Bacillus* spp.'nin endofit izolatlarının hasat sonrası hastalıkların biyolojik mücadelesinde diğer türlere kıyasla daha avantajlı kılmaktadır. Yapılan çalışmalar *Bacillus* spp.'nin bazı sebzelerin hasat sonrası birden fazla patojene karşı dayanıklılığını arttırdığı, depolama süresini azalttığı, dolayısıyla ürünlerin besin kalitesini etkili bir şekilde koruduğu bildirilmiştir (Sharma ve ark., 2009; Lastochkina ve ark., 2019).

Uzun süreli depolama sırasında *B. subtilis* izolatlarının *Fusarium* kuru çürüklüğüne karşı bir diğer etki mekanizmasında patojenik mantarlarla beslenme ve yer bakımında etkili bir şekilde rekabet edebilme yeteneğinde olması olarak açıklanmıştır (Lastochkina ve ark., 2020).

B. subtilis V26'nın izolatının koruyucu etki şeklindeki uygulaması, çeşitli *Fusarium* spp. tarafından neden olunan *Fusarium* kuru çürüklüğü hastalığı şiddetini %43-64 gibi önemli ölçüde azaltmıştır (Ben Khedher ve ark., 2021). Antifungal bileşiklerin *Fusarium* kuru çürüklük hastalığı etmeni *Fusarium sambucinum*'un misel büyümesi ve konidial çimlenmesine karşı kompostlardan elde edilen antagonist bakterilerce üretilen kültür ekstraktları elde edilmiştir. *In vitro* çalışmalarda test edilen 32 bakteri izolat arasında 30 izolatın *F. sambucinum*'un misel gelişimini etkili bir şekilde baskıladığı belirlenmiştir. Yüksek bakteri konsantrasyonunda kullanıldığında bakterilerin patates kuru çürüklük belirtilerini azalttığı, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar kombine olarak değerlendirildiğinde en etkili türlerin *Bacillus subtilis* B9-8, *Pseudomonas moraviensis* F9-6, *Pseudomonas koreensis* F9-9 ve *Pseudomonas gessardii* olduğu bildirilmiştir. Bakteriden elde edilen hücre süspansiyon ekstraktları *F. sambucinum*'un misel gelişimini ve/veya konidial çimlenmesini engellemiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, çok sayıda antagonistik bakterinin, patates yumrularında *Fusarium* kuru çürüklüğünü kontrol etmede faydalı olabileceğini göstermiştir (Ramlawi ve ark., 2021). Gachango ve ark. (2012b) tarafından yapılan bir diğer çalışmada *B. subtilis* ve *B. pumilus* izolatlarının test edildikleri hastalık etmenlerine bağlı olarak depo hastalığı gelişiminin engellenmesinde değişken etkileri olduğu bildirilmiştir.

Kimyasal fungisitlerin zararlı etkilerini en aza indirmek ve gıda üretimini ve kalitesini artırmak için alternatif hastalık kontrol yöntemleri yirminci yüzyılın başlarından beri incelenmekte ve test edilmektedir (Ahmad and Baker, 1987; Adetunji ve ark., 2019; Ons ve ark., 2020; Awuchi ve ark., 2021). Bu yöntemler arasında, bitki patojenlerini kontrol etme potansiyeline sahip mikroorganizmaların kullanımı, geleneksel yöntemlere kıyasla umut verici, çevre dostu ve düşük maliyetli bir yaklaşım olarak giderek daha fazla kabul görmektedir (van Lenteren ve ark., 2018). Bu nedenle, antagonistik mikroorganizmaların kullanıldığı biyolojik kontrol, farklı kültürlerde fitopatojenlerin gelişimini engellemek için güçlü bir alternatif olabilir (Tariq ve ark., 2020). Ayrıca, yerli mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonu, orijinal ortamlarında rekabet etme ve hayatta kalma konusunda büyük bir kapasiteye sahip olduklarından biyolojik mücadelenin etkinliğini artırmaktadır (Figuerola-López ve ark., 2016).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Konya ili Ereğli, Karapınar, Altınekin, Seydişehir ve Meram ilçelerindeki farklı kullanım amaçlı (tohumluk, sanayilik, cipslik, yemeklik vs) patates yumrularının depolandığı tesislere uygun dönemlerde 5 farklı tarihte sürveyler yapılmıştır. Ereğli, Karapınar, Altınekin ve Seydişehir ilçelerinde modern depolar mevcut olup Meram ilçesinde volkanik kaya depo bulunmaktadır. Yapılan izolasyonlar sonucu farklı hastalık belirtilerin gözlemlendiği 226 adet şüpheli patates yumrusu örneklerinden 147 adet primer ve 41 adet sekonder fırsatçı (oportunistik) hastalık etmenlerine ait toplam 188 adet fungal izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatlar öncelikle PDA ve CLA besi yeri üzerinde morfolojik olarak, daha sonra MALDI-TOF ve moleküler yöntemlerle tanılanmıştır. Yapılan tanılama çalışma sonuçlarına göre %65.3 ile kuru çürüklük hastalık kompleksine dâhil *Fusarium* spp. (96 izolat) en yaygın hastalık etmenleri olduğu, bunu sırası ile %8.2 ile *Rhizoctonia* kanseri-siyah siğil hastalığı etmeni *Rhizoctonia solani* (12 izolat), %7.5 ile lastik çürüklüğü hastalık etmeni *Geotrichum candidum* (11 izolat), %6.8 ile *Alternaria alternata* (10 izolat), %4.8 ile gri küf hastalık etmeni *Botrytis cinerea* (7 izolat), %4.1 ile siyah benek hastalık etmeni *Colletotrichum coccodes* (6 izolat), %3.4 ile kömür çürüklüğü hastalık etmeni *Macrophomina phaseolina* (5 izolat) takip etmiştir. Çalışmada ayrıca 41 adet *Rhizopus stolonifer* (%43.9, 18 izolat), *Penicillium* spp. (%31.7, 13 izolat) ve *Aspergillus niger* (%24.4, 10 izolat) gibi sekonder saprofitik fırsatçı türlerde tanılanmıştır. Hastalık etmenlerin ülkemizde yetiştirilen patates yumrularında sorun olduğu önceden yapılmış çalışmalarda da bildirilmiştir. Hastalık etmen(ler)inin depolanan patates yumrularında çıkışı, yaygınlığı, bulunuş oranları ve elde edilen izolat sayıları göz önüne alındığında sürvey yapılan ilçeler, ürünlerin saklandığı depo tipleri ve sahip oldukları teknolojik özelliklerinin patates yumrularında hastalık çıkışı ve bulunuş oranları üzerine etkilerinin önemli olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmaların bir diğer iş paketinde hastalık etmenlerinin yaygın olarak görüldüğü depolarda yaygın olarak tespit edilen fungal etmenlerle biyolojik mücadele kapsamında, (i) sağlıklı patates yumrularından endofit bakteriyel izolatların izolasyonu ve tanısı, (ii) *F. sambucinum*, *G. candidum* ve *C. coccodes* hastalık etmenlerine karşı biyolojik mücadele etkinlikleri, (iii) hastalık etmenini engellemede ve bitki büyümesini teşvik etmede (PGPB) kullanılan etki mekanizmaları *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırılmıştır.

Hastalığın gözlemlendiği depolardaki sağlıklı patates yumrularından farklı morfolojik görünümlü 134 bakteri izolatu arasında aynı morfolojik görünüme sahip temsilen 71 adet farklı morfolojik görünümlü endofit bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlar arasında gerek tütünde aşırı duyarlılık gerekse patatesteki yumuşak çürüklük testinde negatif sonuç veren, insan patojeni olmayan 47 bakteri izolatu MALDI-TOF MS ile tanımlanmıştır.

Yapılan *in vitro* ikili kültür testlerinde aday endofit bakteri izolatlarının *Fusarium sambucinum*, *Geotrichum candidum* ve *Colletotrichum coccodes*'in misel gelişiminin engellenmesi üzerine olan antagonistik potansiyelleri tespit edilmiştir. İkili kültür testlerinde 47 aday bakteri izolat arasında 40 izolat en az bir patojene karşı yüksek antagonistik aktivite (>%50 miselyal büyüme inhibisyonu) gösterirken, 35 izolat iki, 31 izolat ise üç patojene karşı antagonistik etkinlik göstermiştir.

F. sambucinum'un misel gelişimi en güçlü bir şekilde %86.12 engelleme oranı ile *Lactobacillus paracasei* FKB9 ve *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 izolatları tarafınca engellenirken, bu izolatları sırasıyla %83.88 ve %82.22 engelleme oranlarıyla *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20 ve *Bacillus cereus* FKB48 izolatları takip etmiştir.

G. candidum'un misel gelişimi %80.55 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatu tarafınca en güçlü bir şekilde engellenirken, bu bakteri izolatlarını sırasıyla %79.45 engelleme oranlarıyla *Lactobacillus paracasei* FKB9 ve *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25 izolatları ile %77.78 engelleme oranı ile *Bacillus subtilis* FKB24 izlemiştir.

C. coccodes'in misel gelişimi %79.17 engelleme oranı ile *Lactobacillus paracasei* FKB9 izolatu tarafınca en güçlü bir şekilde engellenirken, bu izolatları sırasıyla %78.33 ve %77.5 engelleme oranlarıyla *Bacillus subtilis* FKB24 ve *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25 izolatları izlemiştir.

İkili kültür denemelerinde kullanılan *Fusarium sambucinum*, *Geotrichum candidum* ve *Colletotrichum coccodes* hastalık etmenlerine karşı *Lactobacillus paracasei* FKB9, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20, *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25 ve *Bacillus subtilis* FKB24 en yüksek düzeyde ($\geq$ %70) engelleme yapan izolatlar olarak belirlenmiştir. Söz konusu BCA izolatlarından *Lactobacillus paracasei*, *Bacillus amyloliquefaciens* ve *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* bitki patojeni *Fusarium* spp., *Geotrichum candidum* ve *Colletotrichum* spp.'ye karşı BCA olarak biyoetkinliklerinin bulunduğuna yönelik çalışmalar bulunmakla birlikte, patates yumrularında sorun olan

Fusarium sambucinum, *G. candidum* ve *C. coccodes*'e hastalık etmenlerine karşı yüksek düzeyde antifungal etkinliği ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. *Bacillus subtilis* izolatları ise bitki fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı en yaygın etkinliği bildirilen BCA bakteri türüdür. *Bacillus subtilis*'in aralarında *F. sambucinum* ve *G. candidum* gibi fungal etmenlere karşı antagonistik etkinliği bilinmekte olup, *C. coccodes*'e karşı ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Fungal etmenlerin *in vitro* ikili kültür testlerinde misel gelişiminin engellenmesinde rol oynayan bakteri izolatlarının etki mekanizmalarının tespiti amacıyla *Fusarium sambucinum*, *Geotrichum candidum* ve *Colletotrichum coccodes* hastalık etmenine karşı farklı düzeyde antagonistik etkinlik gösteren temsili 21 bakteri izolatının *in vitro* koşullarda antagonistik (siderofor, proteaz, HCN ve amonyak üretimi) ve bitki gelişimini teşvik eden (IAA ve fosfor çözme) etkinlikleri uygun yöntemler kullanılarak kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmiştir.

Test edilen 21 bakteri izolatından; 17 izolat siderofor, 15 izolat proteaz, 21 izolat amonyak, 3 izolat ise hidrojen siyanür (HCN) etkinliği göstermiştir. Test edilen izolatlar arasında *Pseudomonas aeruginosa* FKB7 ve farklı *Bacillus* spp.'ye ait yüksek antagonistik etkinlik gösteren bakteri izolatları fungal etmenlerin misel gelişiminin engellenmesinde siderofor, proteaz, amonyak ve HCN gibi antagonistik mekanizmalardan bir veya birkaçını kullandığı belirlenmiştir. Test edilen 21 bakteri izolatının tamamı bitki gelişimini teşvik etmede rol oynayan IAA hormonunu 1.15-113.44 µg/ml (ppm) konsantrasyonunda üretmiştir. Test edilen izolatlar arasında 9 izolatın ise fosfor çözme etkinliği tespit edilmiştir. İzolatlar arasında en yüksek IAA üretimi *Enterobacter cloacae* FKB14 izolatınca, en fazla fosfor çözen bakteri izolatları ise *Leclercia adecarboxylata* FKB17, *Enterobacter cloacae* FKB14 ve *Pseudomonas aeruginosa* FKB7 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak siderophore, HCN, proteaz ve amonyak üretimi gibi kuvvetli antagonistik, IAA ve fosfor çözme gibi güçlü bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalar yönünden etkinlik gösteren, *Bacillus* spp. ve *Pseudomonas* spp.'ye ait izolatların patates yumrularında hasat sonrası sorun olan yaygın fungal hastalık etmenlerine karşı biyolojik mücadele etmeni olarak geliştirilebilme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

Çalışmalarda *F. sambucinum* ve *G. candidum*'a karşı *in vitro* ikili kültür testlerinde antagonistik etkinliği yüksek farklı *Bacillus* spp.'ye ait izolatlardan *Bacillus*

amyloliquefaciens plantarum FKB1, *Bacillus thuringiensis* FKB3, *Bacillus cereus* FKB5, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10, *Bacillus subtilis* FKB24 ve *Bacillus atrophaeus* FKB36'un "koruyucu" ve "tedavi" edici olmak üzere 2 farklı biyokontrol potansiyelleri yarı *in vivo* koşullarda belirlenmiştir. Yapılan gözlemler sonucunda antagonist bakteri izolatlarının "koruyucu" olarak uygulandıklarında yumrulara *F. sambucinum* ve *G. candidum* tarafından neden olunan hastalık belirtilerinin çıkışının engellenmesinde daha yüksek etkinlik göstermişlerdir.

Farklı uygulamalar arasında *F. sambucinum* izolatı tarafından neden olunan lezyon gelişimi en yüksek oranda engelleyen uygulamanın "koruyucu" olarak uygulanmış yumrulara %70.98 engelleme oranıyla *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 izolatı tarafından gösterilmiş olup, bu izolatı %66.32 ile *Bacillus cereus* FKB5, %65.28 ile *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatları izlemiştir.

Fungal hastalık etmeni *G. candidum* izolatı tarafından neden olunan lezyon gelişimini en yüksek oranda engelleyen uygulamanın ise benzer şekilde yine "koruyucu" olarak uygulanmış yumrulara %65.85 oranında engelleyen *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1 izolatınca gösterilmiş olup, bu izolatı %56.10 ile *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10 ve %52.03 ile *Bacillus cereus* FKB5 izolatları izlemiştir.

Sonuç olarak, endofit bakterilerin *F. sambucinum* ve *G. Candidum* gibi patatestede depo hastalık etmenlerine karşı *in vitro* ve yarı *in vivo* antagonistik etki yaptığı, özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus* spp.'ye ait izolatların diğer türlere göre daha etkili olduğu, fungal patojenlerin engellemesinde antagonistik ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalardan bir veya birkaçını birlikte kullanarak etkili olduğu bulunmuştur.

Çalışmalarda elde edilen tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde aynı türe ait bakteri izolatları arasında fungus misel gelişimi (mm) üzerine antagonistik etkileri ve bitki gelişimini teşvik eden aktiviteleri arasında farklılıklar gözlenmiştir. Bu durumun antagonist bakteri izolatların geliştiği bitkinin genetik yapısına, konukçusunun yetiştigi çevre koşullarına ve izolatların genetik yapısından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Benzer durum daha önce yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir (Bernal ve ark., 2002; Araujo ve ark., 2005).

Çalışmalarımızda yaygın türler olarak tespit edilen fungal hastalık etmenlerinin tamamının toprak ve yumru kaynaklı patojenler olduğu, virülensliği yüksek, geniş konukçu yelpazesine sahip, hızlı yayıldıkları, toprakta uzun süre hayatta kaldıkları ve

fungisitlere karşı dirençli türler oldukları bilinmektedir. *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20, *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB25, *Bacillus amyloliquefaciens* FKB10, *Bacillus cereus* FKB5, *Bacillus amyloliquefaciens plantarum* FKB1, *Bacillus subtilis* FKB24 ve *Lactobacillus paracasei* FKB9 izolatlarının patateslerde sorun olan depo hastalıklarıyla mücadelede fungusitlere alternatif hastalık yönetiminde kullanılabilecek, çevre dostu biyopreparat adayı bakteri izolatları olarak değerlendirilebilir.

Patates yumrularında görülen “kuru çürüklük” bir depo hastalığı olup, hastalık etmeni *F. sambucinum* tarla koşullarında patates bitkilerinin vegetatif aksamında genelde hastalık belirtisine neden olmaz. Hastalık etmeni tarafından yumru enfeksiyonları genelde tarla koşullarında, hasada yakın zamanda gerçekleşme olup, yumrulardaki asıl belirti ve zararlar “depolanan ürünlerde” ortaya çıkar. *F. sambucinum*’a karşı etkili BCA bakterilerin pratikte uygulama şeklinin hasattan sonra sıcak hava terapisine maruz bırakılmış patates yumrularına “uygun toz formülasyonda” (özellikle kuru toz haline getirilmiş) ıslatma yapmadan toz halinde serpilerek yapılmasının uygun olduğu, diğer 2 hastalık etmeni *G. candidum* ve *C. coccodes*’e karşı ise yumruların ekilmeden önce etkili BCA izolatlar ile muamale edildikten sonra toprağa dikimlerinin uygun olacağı değerlendirilmiştir.

Bu izolatların mevcuttaki birden fazla etki mekanizmaları sebebiyle antifungal etkinlik göstermesi, kimyasal mücadeleye karşı direnç geliştirmesinin önüne geçebilir. Fungal patojenlere karşı güçlü *in vitro* ve *in vivo* antifungal ve bitki gelişimini teşvik etme potansiyeline sahip izolatların tek ve/veya karışım olarak biyopreparat formülasyonlarının geliştirilerek farklı depo hastalıklarına neden olan fungal ve/veya bakteriyel hastalıklara karşı “entegre mücadele programı” kapsamında ticari olarak kullanılabileceği değerlendirilebilir. Bu kapsamda özellikle *in vitro* ve *in vivo* koşullarda etkinlik ve etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda yüksek “antagonist” etkinliğe sahip *Bacillus amyloliquefaciens* FKB20, *Bacillus subtilis* FKB24, *Pseudomonas aeruginosa* FKB7 ile yüksek “bitki gelişimini teşvik eden mekanizma” etkinliği gösteren *Enterobacter cloacae* FKB14 gibi izolatların “karışım” halinde biyoformüle edilmesi en uygun uygulama şekli olarak değerlendirilmiştir. Karışımların yapılmadan önce bakteri izolatlarının birbirlerine karşı antagonistik etkisinin olup

olmadığının *in vitro* uygunluk testlerinin yapılarak araştırılması ayrıca önem arz etmektedir.

Biyolojik mücadelede kullanılan antagonist bakterilerin bitkide fitotoksik etkisinin olmaması, hastalık etmenlerin direnç geliştirmesinin mümkün olmaması, kullanıldığı alanlarda yaşayan diğer canlılara ve doğal çevreye zarar vermeden hastalık etmenlerini baskılama potansiyeline sahip olmaları gibi avantajlara sahiptir. Mevcut çalışma kapsamında elde edilen sonuçların, patates depo hastalıkları ve mücadelesi konularında tarla ve depo koşullarında gelecekte yapılacak birçok patolojik ve epidemiyolojik çalışmalara katkıda bulunacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abbey, J.A., Percival, D., Abbey, L., Asiedu, S.K., Prithiviraj, B. and Schilder, A., 2019. Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*) prospects and challenges. **Biocontrol Science and Technology**, 29(3):207-228.
- Abu-El Samen, F.M. and Al-Bdour, N.M., 2011. Prevalence of fungal and fungus-like diseases on potato seed tubers imported from Europe to Jordan. **Bulletin OEPP/EPPO Bulletin**, 41(3): 445–452.
- Adetunhi, C.O. and Ugbenyen, M.A., 2019. Mechanism of Action of Nanopesticide Derived from Microorganism for the Alleviation of Abiotic and Biotic Stress Affecting Crop Productivity. **Nanotechnology for Agriculture: Crop Production & Protection**, pp. 119–142.
- Ahmad, J.S. and Baker, R., 1987. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. **Phytopathology**, 77:182–9.
- Akram, W. and Anjum, T., 2011. Use of bioagents and synthetic chemicals for induction of systemic resistance in tomato against diseases. **International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science**, 1(8): 286–292.
- 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 Dergisi**, 23(3): 641-654.
- Alfiky, A., L’Haridon, F., Abou-Mansour, E. and Weisskop, L., 2022. Disease Inhibiting effect of strain *Bacillus subtilis* EG21 and its metabolites against potato pathogens *Phytophthora infestans* and *Rhizoctonia solani*. **Phytopathology**, 112(10):2099–2109.
- Ali, S., Rivera, V.V. and Secor, G.A., 2007. First Report of *Fusarium graminearum* Causing Dry Rot of Potato in North Dakota. **Plant Disease**, 89(1):105.
- Al-Mughrabi, K.I., 2010. Biological control of Fusarium dry rot and other potato tuber diseases using *Pseudomonas fluorescens* and *Enterobacter cloacae*. **Biological Control**, 53(3):280-284.
- Ammar, N., Jabnoun-Khiareddine, H., Mejdoub-Trabelsi, B., Nefzi, A., Mahjoub, M.A. and Daami-Remadi, M., 2017. Pythium leak control in potato using aqueous and organic extracts from the brown alga *Sargassum vulgare* (C. Agardh, 1820). **Postharvest Biology and Technology**, 130:81–93.
- Anonim, 2022. <https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/selim/66378/Patates%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi.pdf> Erişim tarihi: 20.03.2024
- Araujo, F. F., Henning, A. A. and Hungria, M., 2005. Phytohormones and antibiotics produced by *Bacillus subtilis* and their effects on seed pathogenic fungi and on soybean root development. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 21:1639-1645.
- Arora, N.K., Tewari, S. and Singh, R., 2013. Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs. (N.K., Arora, Editör). **Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances**, pp 411-449.
- Arora, N.K., Tewari, S., Singh S., Lal N. and Maheshwari D.K., 2012. PGPR for protection of plant health under saline conditions. (DK Maheshwari, Editor). **Bacteria in agrobiolgy: Stress management**, pp 239-258.

- Atay, M. ve Soylu, S. 2022. Biber meyvelerinde hasat sonrası çürümelere sebep olan bazı fungal hastalık etmenlerine karşı Isothiocyanate bileşiklerinin antifungal etkilerinin belirlenmesi. **Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi**, 26: 290-302.
- Avis, T.J., Gravel, V., Antoun, H. and Tweddell, R.J., 2008. Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. **Soil Biology and Biochemistry**, 40(7): 1733-1740.
- Awuchi, C.G., Ondari, E.N., Eseoghene, I.J., Twinomuhwezi, H., Amagwula, I. O. and Morya, S., 2021. Fungal growth and mycotoxins production: Types, toxicities, control strategies, and detoxification. **Fungal reproduction and growth**, pp.1-20.
- Aydın, M.H. and İnal, B., 2018. Comparative susceptibility of some commercial potato cultivars to *Fusarium sambucinum* and *F. Solani* isolates causing tuber dry rot. **Applied Ecology and Environmental Research**, 16(4):4879-4892.
- Aydın, M.H., Pala, F. and Kaplan, C., 2016. Potato tuber sprout rot caused by *Fusarium sambucinum* in Turkey. **Scientific Papers-Series A, Agronomy**, 59:189-193.
- Azil, N., Stefańczyk, E., Sobkowiak, S., Chihat, S., Bouregghda, H. and Śliwka, J., 2021. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria. **European Journal of Plant Pathology**, 159: 495–509.
- Babalola, O.O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology Letters**, 32(11):1559–1570.
- Bakker, A.W. 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(4):451-457.
- Barriuso, J., Pereyra, M.T., Lucas Garcia, J.A., Megias, M., Gutierrez Manero, F.J. and Ramos, B., 2005. Screening for putative PGPR to improve establishment of the symbiosis *Lactarius deliciosus* - *Pinus* sp. **Microbial Ecology**, 50:82–89.
- Bartkiene, E., Lele, V., Ruzauskas, M., Domig, K.J., Starkute, V., Zavistanaviciute, P., Bartkevics, V., Pugajeva, I., Klupsaite, D., Juodeikiene, G., Mickiene, R. and Rocha, J.M., 2020. Lactic acid bacteria isolation from spontaneous sourdough and their characterization including antimicrobial and antifungal properties evaluation. **Microorganisms**, 8(1):64.
- Baturo-Cieśniewska, A., Lenc, L., Grabowski, A., and Lukanowski, A., 2015. Characteristics of Polish isolates of *Fusarium sambucinum*: molecular identification, pathogenicity, diversity and reaction to control agents. **American Journal of Potato Research**, 92:49–61.
- Bazioli, J.M., Belinato, J.R., Costa, J.H., Akiyama, D.Y., de Moraes Pontes, J.G., Kupper, K.C., Augusto, F., de Carvalho, J.E. and Fill, T.P., 2019. Biological control of citrus postharvest phytopathogens. **Toxins**, 11(8): 460.
- Ben Khedher, S., Mejdoub-Trabelsi, B. and Tounsi, S., 2021. Biological potential of *Bacillus subtilis* V26 for the control of *Fusarium* wilt and tuber dry rot on potato caused by *Fusarium* species and the promotion of plant growth. **Biological Control**, 152:104444.
- Berg, G., Alavi, M., Schmidt, C.S., Zachow, C., Egamberdieva, D., Kamilova, F. and Lugtenberg, B., 2013. Biocontrol and osmoprotection for plants under salinized conditions. (F.J. de Bruijn, Editör) In: **Molecular microbial ecology of the rhizosphere**, Wiley-Blackwell, USA.
- Bernal G., Illanes, A. and Ciampi, L., 2002. Isolation and partial purification of a metabolite from a mutant strain of *Bacillus* sp. with antibiotic activity against plant pathogenic agents. **Electronic Journal of Biotechnology**, 5(1):1-9.

- Bhattacharyya, P.N. and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 28(4):1327-1350.
- Blum, B., Nicot, P.C., Köhl, J. and Ruocco, M., 2011. Identified difficulties and conditions for field success of biocontrol. Economic aspects: cost analysis. (P.C. Nicot, Editor). **Classical and Augmentative Biological Control Against Diseases and Pests**, Chapter 7:58-62p.
- Bojanowski, A., Avis, T.J., Pelletier, S. and Tweddell, R.J., 2013. Management of potato dry rot. **Postharvest Biology and Technology**, 84:99-109.
- Bora, T. ve Karaca, İ., 1970. Kültür Bitkilerinde Hastalık ve Zararlıların Ölçülmesi. **Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yardımcı Ders Kitabı**, Yayın No: 167, 43s., İzmir
- Borca, I.D. and Puia, C.E., 2013. Studies regarding the morphological identification of *Fusarium sambucinum* Fuckel isolated from potato tubers. **ProEnvironment**, 6:59-63.
- Burgess, L.W., 1981. General ecology of Fusaria. In: Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R.J (Editörs.) *Fusarium: Diseases, Biology, and Taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park, PA, pp 225-235.
- Camire, M.E., Kubow, S. and Donnelly, D.J., 2009. Potatoes and Human Health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 49(10):823-840.
- Cappuccino, J.C and Sherman, N., 1992. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 3. edition. New York: Benjamin/Cummings Pub. Co.,p. 125-179.
- Chehri, K., Mohamed, N.F., Salleh, B. and Latiffah, Z., (2011). Occurrence and pathogenicity of *Fusarium* spp. on the potato tubers in Malaysia. **African Journal of Agricultural Research**, 6(16): 3706-3712.
- Chen, H., Xiao, X., Wang, J., Wu, L., Zheng, Z. and Yu, Z., 2008. Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. **Biotechnology Letters**, 30:919–923.
- Cherif, M., Sadfi, N., Benhamou, N., Boudabbous, A., Boubaker, A., Hajlaoui, M.R. and Tirilly, Y., 2002. Ultrastructure and cytochemistry of *in vitro* interactions of the antagonistic bacteria *Bacillus cereus* X16 and *B-thuringiensis* 55T with *Fusarium roseum* var. *sambucinum*. **Journal of Plant Pathology**, 84(2):83-93.
- Choiseul, J.W and Carnegie, S.F., 2000. First report of *Botryotinia fuckeliana* causing soft rots in potato in Scotland. **Plant Disease**, 84(7):806.
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C. and Barka, E.A., 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. **Applied and Environmental Microbiology**, 71(4):1685-1693.
- Crosa, J.H. and Walsh, C.T., 2002. Genetics ve assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, 66(2):223-249.
- Cullen, D. W., Toth, I. K., Pitkin, Y., Boonham, N., Walsh, K., Barker, I., and Lees, A. K., 2005. Use of quantitative molecular diagnostic assays to investigate *Fusarium* dry rot in potato stocks and soil. **Phytopathology**, 95(12):1462–1471.
- Çakar, G. and Tozlu, E. 2022. The biological control of *Fusarium oxysporum*, the causal agent of potato rot. **Gesunde Pflanzen** 74(2):305–315.
- Çakır, E., Karahan, A., and Kurbetli, İ., 2019. Involvement of *Colletotrichum coccodes* causing atypical symptoms of potato tubers in Turkey. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 126:173–176.

- Çakmakcı, R., Dönmez, D., Aydın, A. and Şahin, F., 2005. Growth promotion of plants by plant growthpromoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. **Soil Biology and Biochemistry**, 38(6):1482-1487.
- Daami-Remadi, M., Ayed, F., Jabnoun-Khiareddine, H., Hibar, K. and El Mahjoub, M., 2006b. Effects of some *Bacillus* sp. isolates on *Fusarium* spp. *in vitro* and potato tuber dry rot development *in vivo*. **Plant Pathology Journal**, 5(3):283–290.
- Daami-Remadi, M., Jabnoun-Khiareddine, H., Ayed, F. and El Mahjoub, M., 2006a. Effect of temperature on aggressivity of Tunisian *Fusarium* species causing potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber dry rot. **Journal of Agronomy**, 5: 350-355.
- 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(2): 62-69.
- Davis, J.R. and Johnson, D.A., 2002. Diseases caused by fungi – black dot. In: W.R. Stevenson, R. Loria, G.D. Franc, D.P. Weingartner, editörs. Compendium of Potato Diseases. St Paul, MN, USA: APS Press, 16–8.
- de Hoog, G.S., Smith, M.T. and Gueho, E., 1986. A revision of the genus *Geotrichum* and its teleomorphs. **Studies in Mycology**, 29:1–131.
- de Mello, J.F., de Queiroz Brito, A.C., de Souza-Motta, C.M. and Machado, R.A., 2023. Post-harvest sour rot in sweet potato is caused by *Geotrichum candidum* in Brazil. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 130:915–919.
- de Souza J.R.B., Kupper, K.C. and Augusto F., 2018. *In vivo* investigation of the volatile metabolome of antiphytopathogenic yeast strains active against *Penicillium digitatum* using comprehensive two-dimensional gas chromatography and multivariate data analysis. **Microchemical Journal**, 141: 204-209.
- Devaux, A., Goffart, J.P., Kromann, P., Andrade-Piedra, J., Polar, V. and Hareau, G., 2021. The Potato of the future: opportunities and challenges in sustainable agri-food systems. **Potato Research**, 64:681–720.
- Dinev, T., Rusenova, N., Velichkova, K.N. and Beev, G., 2022. Antimicrobial potential of eleven *Lactocaseibacillus paracasei* strains isolated from mountain anthills. **Bulgarian Journal of Agricultural Science.**, 28(5): 949–955.
- Du, M., Ren, X., Sun, Q., Wang, Y., and Zhang, R., 2012. Characterization of *Fusarium* spp. causing potato dry rot in China and susceptibility evaluation of Chinese potato germplasm to the pathogen. **Potato Research**, 55:175–184.
- Duelman, K.M., Lent, M.A., Brown, L., Harrington, M., Harrington, S. and Woodhall, J.W., 2021. First report of rubbery rot of potato caused by *Geotrichum candidum* in the United States. **Plant Disease**, 105(4):1206.
- Dukare, A.S., Paul, S., Nambi, V.E., Gupta, R.K., Singh, R., Sharma, K. and Vishwakarma, R.K., 2019. Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 59(9):1498–1513.
- Egamberdieva, D. and Islam, K.R., 2008. Salt tolerant rhizobacteria: plant growth promoting traits and physiological characterization within ecologically stressed environment. (I. Ahmad, J. Pichtel, S. Hayat, Editors) In: **Plant-bacteria interactions: strategies and techniques to promote plant growth**. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., KGaA, Weinheim, Germany, pp 257-281.
- Egamberdieva, D., Berg, G., Lindstrom, K. and Rasanen, L.A., 2013. Alleviation of salt stress of symbiotic *Galega officinalis* L. (goat's rue) by co-inoculation of *Rhizobium* with root colonising *Pseudomonas*. **Plant and Soil**, 369(1): 453-465.

- Eken, C., Demirci, E. and Şahin, F., 2000. Pathogenicity of the fungi determined on tubers from potato storages in Erzurum, Turkey. **Journal of Turkish Phytopathology**, 29:61-69.
- Ellis, M. B., 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 608.
- Emdirme, N., 2019. Farklı bitki dokularından izole edilen bakterilerin bazı bitki patojeni funguslara karşı *in vitro* antifungal etkinlikleri ve mekanizmalarının belirlenmesi. **Yüksek Lisans Tezi (Tez No: 599246). Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma ABD. 91 sayfa.**
- Esfahani, M. N., 2005. Susceptibility assessment of potato cultivars to *Fusarium* dry rot species. **Potato Research**, 48:215–226.
- FAO, 2022. FAOSTAT, Word Production data. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>. Accessed 10 March, 2024
- Fiers, M., Edel-Hermann, V., Chatot, C., Le Hingrat, Y., Alabouvette, C. and Steinberg, C., 2012. Potato soil-borne diseases. **Agronomy for Sustainable Development**, 32:93–132.
- Figueiredo, J.E.F., Gomes, E.A., Guimarães, C.T., Lana, U.G.D.P., Teixeira, M.A., Lima, G.V.C. and Bressan, W., 2009. Molecular analysis of endophytic bacteria from the genus *Bacillus* isolated from Tropical maize (*Zea mays* L.). **Brazilian Journal of Microbiology**, 40(3):522-534.
- Figueroa-López, A.M., Cordero-Ramírez, J.D., Martínez-Álvarez, J.C., López-Meyer, M., Lizárraga-Sánchez, G.J., Félix-Gastélum, R., Castro-Martínez, C. and Maldonado-Mendoza, I.E., 2016. Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. **SpringerPlus**, 5(1):330.
- Fira, D., Dimkic, I., Beric, T., Lozo, J. and Stankovic, S., 2018. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. **Journal of Biotechnology**, 285:44–55.
- Fravel, D.R., 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, 43: 337-359.
- Fürnkranz, M., Müller, H. and Berg, G., 2009. Characterization of plant growth promoting bacteria from crops in Bolivia. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 116 (4):149–155.
- Gaby, J.C. and Buckley, D.H., 2012. A comprehensive evaluation of PCR primers to amplify the *nifH* gene of nitrogenase. **PLoS One**, 7(7):e42149.
- Gachango, E., Hanson, L.E., Rojas, A., Hao, J.J. and Kirk, W.W., 2012a. *Fusarium* spp. causing dry rot of seed potato tubers in Michigan and their sensitivity to fungicides. **Plant Disease**, 96(12):1767–1774.
- Gachango, E., Kirk, W., Schafer, R. and Wharton, P., 2012b. Evaluation and comparison of biocontrol and conventional fungicides for control of postharvest potato tuber diseases. **Biological Control**, 63(2):115–120.
- Garcia Bayona, L., Grajales, A., Cardenas, M.E., Sierra, R., Cepero de Garcia, M.C., Bernal, A., Jimenez, P. and Restrepo, S. 2011. First report of *Fusarium oxysporum* causing potato dry rot in *Solanum tuberosum* in Colombia. **New Disease Reports**, 24(1):14-14.
- Geiser, M.D., Jimenez-Gasco, M.D.M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T.J., Zhang, N., Kuldau, 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.

- 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(2):793–796.
- Göre, M.E., Altin, N., Yaman, T., Myers, K., Cagli, A., Cooke, D.E.L., Pirlak, U., Alkan, M., Kabakci, H., Zencirci, N., Fry, W.E. and Özer, G., 2019. Severe outbreaks of *Phytophthora infestans* on potato in Turkey caused by recent changes in the pathogen population structure. **Phytoparasitica**, 47: 693-709.
- Grzegorzczak, M., Szalewicz, A., Żarowska, B., Połomska, X., Wątopek, W. and Wojtatowicz, M., 2015. Drobnoustroje w biologicznej ochronie roślin przed chorobami grzybowymi. **Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia**, 14(2):19-42. [in Polish].
- Guo, Z., Hua, R., Bai, Y., Wu, X., Cao, H., Li, X., Wu, X. and Tang, J., 2011. Screening and evaluation of antiphytopathogenic activity of endophytic fungi from live foliages of *Ginkgo bioba* L. **African Journal of Microbiology Research**, 5(13):1686-1690.
- Hallmann, J., Quadts-Hallmann, A., Rodríguez-Kábana, R. and Kloepper, J.W., 1998. Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. **Soil Biology and Biochemistry**, 30(7):925–937.
- Hassan, Y.I. and Bullerman, L.B., 2008. Antifungal activity of *Lactobacillus paracasei* ssp. *tolerans* isolated from a sourdough bread culture. **International Journal of Food Microbiology**, 121(1):112-115.
- 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(4):579-598.
- Heltoft, P., Molteberg, E.L., Nærstad, R. and Hermansen, A., 2015. Effect of maturity level and potato cultivar on development of *Fusarium* dry rot in Norway. **Potato Research**, 58:205–219.
- Holley, J.D. and L.M. Kawchuk., 1996. Distribution of thiabendazole and thiophanate-methyl resistant strains of *Helminthosporium solani* and *Fusarium sambucinum* in Alberta potato storages. **Canadian Plant Disease Survey**, 76(1):21-27.
- Holliday, P. and Punithalingam, E., 1970. *Macrophomina phaseolina*. Commonwealth Mycological Institute Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, No: 275. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute.
- Hong, P., Hao, W., Luo, J., Chen, S., Hu, M. and Zhong, G., 2014. Combination of hot water, *Bacillus amyloliquefaciens* HF-01 and sodium bicarbonate treatments to control postharvest decay of mandarin fruit. **Postharvest Biology and Technology**. 88: 96-102.
- Hooker, W.J., (Editor), 1981. Compendium of potato diseases. **The American Phytopathological Society**, St. Paul, Minnesota, USA.
- Hu, J., 2024. First Report of *Geotrichum candidum* Causing Rubbery Rot on Potato in Arizona. **Plant Disease**, 18:789.
- Huang, Y., Ma, L., Fang, D.H., Xi, J.Q., Zhu, M.L., Mo, M.H, Zhang, K.Q. and Ji, Y.P., 2015. Isolation and characterisation of rhizosphere bacteria active against *Meloidogyne incognita*, *Phytophthora nicotianae* and the root knot–black shank complex in tobacco. **Pest Management Science**, 71(3):415-422.
- Hussain, T., Khan, A.A. and Mohamed, H.I., 2023. Metabolites composition of *Bacillus subtilis* HussainT-AMU determined by LC-MS and their effect on *Fusarium* dry rot of potato seed tuber. **Phyton-International Journal of Experimental Botany**, 92(3):783–799.

- Iftikhar, S., Shahid, A.A., Nawaz, K., Zahid, A., Anwar, W. and Haidar, S. 2018. First report of black pit of potato caused by *Alternaria alternata* in Pakistan. **Plant Disease**, 102(2):442.
- Ippolito, A. and Nigro, F., 2000. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. **Crop Protection**, 19(8-10): 715–723.
- 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(2),1-19.
- Jabborova, D., Egamberdieva, D., Rasanen, L. and Liao, H., 2013. Salt tolerant *Pseudomonas* strain improved growth, nodulation and nutrient uptake of soybean grown under hydroponic salt stress condition. In: **XVII International Plant Nutrition Colloquium and Boron Satellite Meeting Proceedings Book**, Sabanci University, Istanbul, Turkey, pp 260-261.
- Joshi, K.K., Kumar, V., Dubey, R.C., Maheshwari, D.K., Bajpai, V.K. and Kang, S.C., 2006. Effect of chemical fertilizer-adaptive variants, *Pseudomonas aeruginosa* GRC2 and *Azotobacter chroococcum* AC1, on *Macrophomena phaseolina* causing charcoal rot of *Brassica juncea*. **Korean Journal of Environmental Agriculture**, 25(3):228-235.
- Kadakoğlu, B. ve Karlı, B., 2021. Türkiye’de patates üretimi, ihracatı ve destekleme politikalarının değerlendirilmesi. **Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 16(1):7-16.
- Kalantari, S., Marefat, A., Naseri, B. and Hemmati, R., 2018. Improvement of bean yield and Fusarium root rot biocontrol using mixtures of *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Rhizobium*. **Tropical Plant Pathology**, 43: 499–505.
- Kang, B.G., Kim, W.T., Yun, H.S. and Chang, S.C., 2010. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. **Plant Biotechnology Reports**, 4(3):179-183.
- Kavková, M., Bazalová, O., Cihlář, J., Bohatá, A., Lencová, J. and Konvalina, P., 2023. Characterisation of Wild Strains of Lactic Acid Bacteria Isolated from Legumes and Their Biocontrol Potential against *Fusarium* spp. **Agronomy**, 13(12):2911.
- Keswani, C., Singh, H.B., García-Estrada, C., Caradus, J., He, Y.W., Mezaache-Aichour, S., Glare, T.R., Borriss, R. and Sansinenea, E., 2020. Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important bacteria as next-generation pesticides. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 104(3):1013–1034.
- Khabbaz, S.E., Zhang, L., Cáceres, L.A., Sumarah, M., Wang, A. and Abbasi, P.A., 2015. Characterisation of antagonistic *Bacillus* and *Pseudomonas* strains for biocontrol potential and suppression of damping-off and root rot diseases. **Annals of Applied Biology**, 166(3):456-471.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M. and Wani, P.A., 2010. Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi - current perspective. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 56:73-98.
- Kim, T.Y., Hwang, S.H., Noh, J.S., Cho, J.Y. And Maung, C.H.E., 2022. Antifungal potential of *Bacillus velezensis* CE 100 for the control of different *Colletotrichum* species through isolation of active dipeptide, cyclo-(D-phenylalanyl-D-prolyl). **International Journal of Molecular Sciences**, 23(14):7786.

- Kirk, W.W., Gachango, E., Schafer, R. and Wharton, P.S., 2013. Effects of in-season crop-protection combined with postharvest applied fungicide on suppression of potato storage diseases caused by *Fusarium* pathogens. **Crop Protection**, 51: 77-84.
- Kloepper, J.W. and Schroth, M.N., 1981. Relationship of *in vitro* antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. **Phytopathology**, 71(10):1020-1024.
- Koç, M., 2022. Patateste hasat sonrası önemli fungal patojenlere karşı bazı kimyasal uygulamaların *in vitro* etkinliklerinin belirlenmesi. **Yüksek Lisans Tezi (Tez No: 774501). Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma ABD. 81 sayfa.**
- Koike, S.T., Gladders, P. and Paulus, A.O., 2006. Vegetable Diseases: A Colour Handbook. **Taylor & Francis**, pp 95-115.
- Kotan, R., Fikretin, S., Demirci, E. and Eken, C., 2009. Biological control of the potato dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. **Biological Control**, 50(2):194–198.
- Krupa P., Bandurska K., Berdowska A., Myga-Nowak M., Marczak M., Godela A. and Bednarek S., 2014. Improving the nutritional values of plant products through the use of biological agents such as *Trichoderma viride* in tomato plantations. **Journal of Animal & Plant Sciences**, 23(3), 3670–3676.
- Krzyśko-Łupicka T., 2010. Wybrane aspekty wykorzystania antagonistycznych właściwości bakterii do zwalczania fuzariozy pszenicy. **Proceedings of ECOpole**, 4(2):433–438. [in Polish].
- 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(8):493–499.
- Kumar, P., Sharma, N., Sharma, S. and Gupta, R., 2020. Rhizosphere stoichiometry, fruit yield, quality attributes and growth response to PGPR transplant amendments in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) growing on solarized soils. **Scientia Horticulture**, 265(2):109215.
- Lanteigne, C., Gadkar, V.J., Wallon, T., Novinscak, A. and Fillion, M., 2012. Production of DAPG and HCN by *Pseudomonas* sp. LBUM300 contributes to the biological control of bacterial canker of tomato. **Phytopathology**, 102(10):967-973.
- Lastochkina, O., Baymiev, A., Shayahmetova, A., Garshina, D., Koryakov, I., Shpirnaya, I., Pusenkova, L., Mardanshin, I., Kasnak, C. and Palamutoglu, R., 2020. Effects of endophytic *Bacillus subtilis* and salicylic acid on postharvest diseases (*Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*) development in stored potato tubers. **Plants**, 9(1):76.
- Lastochkina, O., Seifikalhor, M., Aliniaiefard, S., Baymiev, A., Pusenkova, L., Garipova, S., Kulabuhova, D. and Maksimov, I., 2019. *Bacillus* Spp.: Efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plants**, 8(4):97.
- Lee, T., Park, D., Kim, K., Lim, S.M., Yu, N.H., Kim, S., Kim, H.Y., Jung, K.S., Jang, J.Y., Park, J.C., Ham, H., Lee, S., Hong, S.K. and Kim, J.C., 2017. Characterization of *Bacillus amyloliquefaciens* DA12 showing potent antifungal activity against mycotoxigenic *Fusarium* species. **The Plant Pathology Journal**, 33(5):499–507.
- Lees, A.K. and Hilton, A.J. 2003. Black dot (*Colletotrichum coccodes*): an increasingly important disease of potato. **Plant Pathology**, 52(1):3-12.

- 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.
- Leslie, J.F. and Summerell, B.A., 2006. **The Fusarium laboratory manual**. Blackwell Publishing, New York.
- Li, Y., Jiang, S., Jiang, J., Gao, C., Qi, X., Zhang, L., Sun, S., Dai, Y. and Fan, X., 2022. Synchronized efficacy and mechanism of alkaline fertilizer and biocontrol fungi for *Fusarium oxysporum* f. sp. cubense tropical race 4. **Journal of Fungi**, 8(3):261.
- Liu B., Huang L., Buchenauer H. and Kang Z., 2010. Isolation and partial characterization of an antifungal protein from endophytic *Bacillus subtilis* strain EDR4. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, 98(2):305–311.
- Liu, F., Hyde, K.D. and Cai, L., 2011. Neotypification of *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of potato black dot disease and tomato anthracnose. **Mycology**, 2(4):248–254.
- Liu, J., Sun, Z., Zou, Y., Li, W., He, F., Huang, X., Lin, C., Cai, Q., Wisniewski, M. and Wu, X., 2022. Pre-and postharvest measures used to control decay and mycotoxigenic fungi in potato (*Solanum tuberosum* L.) during storage. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 62(2):415–428.
- Loper, J.E. and Gross, H., 2007. Genomic analysis of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. **European Journal of Plant Pathology**, 119:265–278.
- Lopes, R., Tsui, S., Gonçalves, P.J.R.O. and Queiroz, M.V., 2018. A look into a multifunctional toolbox: Endophytic *Bacillus* species provide broad and underexploited benefits for plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 34(7):94
- López-Seijas, J., García-Fraga, B., da Silva, A.F. and Sieiro, C., 2019. Wine Lactic Acid Bacteria with Antimicrobial Activity as Potential Biocontrol Agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Agronomy**, 10(1):31.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F., 2009. Plant-growth-promoting Rhizobacteria. **Annual Review of Microbiology**, 63:541-556.
- Mardanov, A.M., Hadieva, G.F., Lutfullin, M.T., Khilyas, I.V., Minnullina, L.F., Gilyazeva, A.G., Bogomolnaya, L.M. and Sharipova, M.R., 2017. *Bacillus subtilis* strains with antifungal activity against the phytopathogenic fungi. **Agricultural Sciences**, 8(1):1–20.
- Masum, M.M.I., Islam, S.M.M., Islam, M.S. and Kabir, M.H., 2011. Estimation of loss due to post harvest diseases of potato in markets of different districts in Bangladesh. **African Journal of Biotechnology**, 10(56):11892-11902.
- Mecteau, M.R., Arul, J. and Tweddell, R.J., 2002. Effect of organic and inorganic salts on the growth and development of *Fusarium sambucinum*, a causal agent of potato dry rot. **Mycological Research**, 106(6):688-696.
- Mehmood, S., Khatoon, Z., Amna, Ahmad, I., Muneer, M.A., Kamran, M.A., Ali, J., Ali, B., Chaudhary, H.J., Munis, M.F.H., 2021. *Bacillus* sp. PM31 harboring various plant growth-promoting activities regulates *Fusarium* dry rot and wilt tolerance in potato. **Archives of Agronomy and Soil Science**, 69(2):197–211.
- Mejdoub-Trabelsi B., Touihri S., Ammar N., Riahi A. and Daami-Remadi M. 2020a. Effect of chitosan for the control of potato diseases caused by *Fusarium* species. **Journal of Phytopathology** 168(1):18–27.

- Mejdoub-Trabelsi, B. and Chérif, M., 2009. Effects of Different Abiotic Agents on *Fusarium roseum* var. *sambucinum*, the Causal Agent of Dry Rot of Potato Tubers. **Tunisian Journal of Plant Protection**, 4:1-14.
- Mejdoub-Trabelsi, B., Jabnoun-Khiareddine, H., Aydi Ben Abdallah, R., Ammar, N., Daami Remadi, M., 2020b. Effect of single and combined inoculations of potato plants with four *Fusarium* species on wilt severity, plant growth, and production. **International Journal of Phytopathology**, 9(2):123–137.
- Merlington, A., Hanson, L.E., Bayma, R., Hildebrandt, K., Steere, L. and Kirk, W.W., 2014. First report of *Fusarium proliferatum* causing dry rot in Michigan commercial potato (*Solanum tuberosum*) production. **Plant Disease**, 98(6):843.
- Mohamed, R., Groulx, E., Defilippi, S., Erak, T., Tambong, J.T., Tweddell, R.J., Tsopmo, A. and Avis, T.J., 2017. Physiological and molecular characterization of compost bacteria antagonistic to soil-borne plant pathogens. **Canadian Journal of Microbiology**, 63(5):411–426.
- Mordue, J.E.M., 1967. *Colletotrichum coccodes*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. No. 131, 1–2. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute.
- Nadeem, S.M., Naveed, M., Zahir, Z.A. and Asghar, H.N., 2013. Plant-microbe interactions for sustainable agriculture: Fundamentals and recent advances. (NK Arora, Editor). **Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances**, pp. 51-103.
- Naznin, H.A., Kimura, M., Miyazawa, M. and Hyakumachi, M., 2013. Analysis of volatile organic compounds emitted by plant growth promoting fungus *Phoma* sp. GS8- 3 for growth promotion effects on tobacco. **Microbes and Environments**, 28(1):42-49.
- Nega, A., 2014. Review on concepts in biological control of plant pathogens. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, 4(27): 33-54.
- Nelson, P.E., Tousson, T.A. and Marasas, W.F.O., 1983. **Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification**. The Pennsylvania State University Press.
- Nicot, P.C., Bardin, M., Alabouvette, C., Köhl, J. and Ruocco, M., 2011. Potential of biological control based on published research; 1. Protection against plant pathogens of selected crops. (PC Nicot, Editor). In: **Classical and Augmentative Biological Control Against Diseases and Pests**, Chapter 1:1-11p.
- 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.
- Ogoshi, A., Oniki, M., Araki, T. and Ui, T., 1983. Anastomosis groups of binucleate Rhizoctonia in Japan and North America and their perfect states. **Transactions of the Mycology Society of Japan**, 24:79–87.
- Okungbowa, F.I. and Shittu, H.O., 2012. Fusarium Wilts: An Overview. **Environmental Research Journal**, 6(2):83-102.
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K. and Cammue, B.P.A., 2020. Combining Biocontrol Agents with Chemical Fungicides for Integrated Plant Fungal Disease Control. **Microorganisms**, 8:(12), 1930.
- Ozturk, M., Aksoy, H.M., Potrykus, M., and Lojkowska, E., 2018, Genotypic and phenotypic variability of *Pectobacterium* strains causing blackleg and soft rot on potato in Turkey. **European Journal of Plant Pathology**, 152(1):143-155.

- Pal, K.K. and Gardener, B.M.S., 2006. Biological Control of Plant Pathogens. **The Plant Health Instructor**, 1-25.
- 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(8):3795-3801.
- Pérez-Mora, J.L., Cota-Rodríguez, D.A., Rodríguez-Palafox, E.E., García-León, E., Beltrán-Peña, H., Lima, N.B. and Tovar-Pedraza, J.M., 2020. First confirmed report of *Colletotrichum coccodes* causing black dot on potato in Mexico. **Journal of Plant Disease and Protection**, 127:269–273.
- 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(4):1007-1020.
- Peters, J.C., Lees, A.K., Cullen, D.W., Sullivan, L., Stroud, G.P. and Cunnington, A.C., 2008. Characterization of *Fusarium* spp. responsible for causing dry rot of potato in Great Britain. **Plant Pathology**, 57(2): 262-271.
- Platt, H.W., 1997. Resistance to thiabendazole in *Fusarium* species and *Helminthosporium solani* in potato tubers treated commercially in eastern Canada. **Phytoprotection**, 78:1-10.
- Radhakrishnan, R., Hashem, A. and Abd_Allah, E.F., 2017. Bacillus: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. **Frontiers in Physiology**, 8:667.
- Rajasekar, S. and Elango, R., 2011. Effect of microbial consortium on plant growth and improvement of alkaloid content in *Withania somnifera* (Ashwagandha). **Current Botany**, 2(8):27-30.
- Ramlawi, S., Chiu, J.O., Cloutier, A. and Avis, T.J., 2021. Suppression of *Fusarium* dry rot of potato using beneficial bacterial treatments. **Journal of Plant Pathology**, 103: 269-281.
- Ren, J., Tobg, J., Li, P., Huang, X., Dong, P. and Ren, M., 2021. Chitosan is an effective inhibitor against potato dry rot caused by *Fusarium oxysporum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 113(16).
- Rupp, J., and Jacobsen, B., 2017. Bacterial and fungal diseases of potato and their management, **Montana State University Extension**, 1-12.
- Sadfi, N., Cherif, M. Fliss, I., Boudabbous, A., Antoun, H., 2001. Evaluation of *Bacillus* isolates from salty soils and *Bacillus thuringiensis* strains for the biocontrol of *Fusarium* dry rot of potato tubers. **Journal of Plant Pathology**, 83(2):101–118.
- Sadfi, N., Cherif, M., Hajlaoui, M.R., Boudabbous, A., 2002. Biological control of the potato tubers dry rot caused by *Fusarium roseum* var. *sambucinum* under greenhouse, field and storage conditions using *Bacillus* spp. isolates. **Journal of Phytopathology**, 150:640–648.
- Saharan, B.S. and Nehra, V., 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. **Life sciences and medicine research**, 21:1-30.
- Sandoval-Denis, M. and Crous, P. W., 2018. Removing chaos from confusion: assigning names to common human and animal pathogens in *Neocosmospora*. **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi**, 41:109–129.
- Sayyed, R.Z. and Chincholkar, S.B., 2009. Siderophore-Producing *Alcaligenes faecalis* Exhibited More Biocontrol Potential Vis-a-Vis Chemical Fungicide. **Current Microbiology**, 58(1): 47-51.

- Sayyed, R.Z. and Patel, P.R., 2011. Biocontrol potential of siderophore producing heavy metal resistant *Alcaligenes* sp. and *Pseudomonas aeruginosa* RZS3 vis-à-vis organophosphorus fungicide. **Indian Journal of Microbiology**, 51(3): 266-272.
- Sayyed, R.Z., Chincholkar, S.B., Reddy, M.S., Gangurde, N., Mateshwari, D.M. and Patel, P.R., 2013. Siderophore producing PGPR for crop nutrition and phytopathogen suppression. (D.K. Maheshwari, Editor). In: **Bacteria in agrobiolgy: disease management**. Springer, Berlin/Heidelberg, pp 449-471.
- Sayyed, R.Z., Reddy, M.S., Kumar, K.V., Yellareddygari, S.K.R., Deshmukh, A.M., Patel, P.R. and Gangurde, N.S., 2012. Potential of plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture. (D.K. Maheshwari, Editor). In: **Bacteria in Agrobiolgy: Plant Probiotics**. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp. 287-313.
- Schwyn, B. and Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, 160(1):47-56.
- Secor G.A., and Gudmestad N.C., 1999. Managing fungal diseases of potato. **Canadian Journal of Plant Pathology**, 21(3): 213-221.
- Secor, G. A. and Sales, B., 2001. Fusarium Dry Rot and Fusarium Wilt. In: Stevenson, W. R., Loria, R., Franc, G.D. and Weingartner, D.P. (Editors) . Compendium of Potato Diseases. 2nd edition. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN, pp. 23-25.
- Sharma, R.R., Singh, D. and Singh, R., 2009. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. **Biological Control**, 50(3): 205–221.
- Sharma, S.B., Sayyed, R.Z., Trivedi, M.H. and Gobi, T.A., 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. **SpringerPlus**, 2: 587.
- Shilev, S., 2013. Soil Rhizobacteria regulating the uptake of nutrients and undesirable elements by plants. (N.K. Arora, Editor). In: **Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances**. Springer, India, pp147-167.
- Shternshis, M.V., Belyaev, A.A., Matchenko, N.S., Shpatova, T.V. and Lelyak, A.A. 2015. Possibility of biological control of primocane fruiting raspberry disease caused by *Fusarium sambucinum*. **Environmental Science and Pollution Research**, 22:15656-15662.
- Simmons, E. G., 2007. Alternaria: An Identification Manual. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- Slininger, P.J., Schisler, D.A., Shea-Anders, M.A., Sloan, J.M., Woodell, L.K., Frazier, M.J. and Olsen, N.L., 2010. Multi-strain co-cultures surpass blends for broad spectrum biological control of maladies of potatoes in storage. **Biocontrol Science and Technology**, 20(8):763-786.
- Soheili-Moghadam, B. and Hosseinzadeh, A.M., 2013. Study of *Fusarium* species causing dry rot of potatoes in Ardabil Province. **International Journal of Agronomy and Plant Production**, 4(6):1226-1233.
- Somers, E., Vanderleyden, J. and Srinivasan, M., 2004. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. **Critical Reviews in Microbiology**, 30(4):205-240.
- Soylu, E.M., Soylu, S., Kara, M. ve Kurt, Ş., 2020. Sebzeerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. **KSU Tarım ve Doğa Dergisi**, 23(1): 7-18.

- Soylu, S., Kara, M., Soyly, E.M., Uysal, A., ve Kurt, Ş. 2022. *Geotrichum citri-aurantii*'nin sebep olduğu turuncgil ekşi çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde endofit bakterilerin biyokontrol potansiyellerinin belirlenmesi. **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 19: 177-191.
- Soylu, S., Kara, M., Toketti, O., Soyly, M., Uysal, A. ve Kurt, Ş., 2021. Konya ilinde yetiştirilen patates yumrularında lastik çürüklük hHastalık etmeni *Geotrichum candidum*'un izolasyonu, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu. **KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi**, 24(2): 353-361.
- Soylu, S., Soyly, 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(1):43-48.
- Soylu, S., Sülü, S.M., ve Bozkurt, İ.A. 2016. Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. **Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 21(1): 103-111.
- Sönmez, E., 2018. Fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) sorun olan toprak kökenli fungal hastalık etmenlerine karşı karıştırmalı yığın kompostlamasından elde edilen bakterilerin *in vitro* koşullarda biyokontrol etkinliklerinin araştırılması. **Yüksek Lisans Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma ABD**, 66 s.
- SPSS, 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.
- Stefańczyk, E., Sobkowiak, S., Brylińska, M. and Śliwka, J., 2016. Diversity of *Fusarium* spp. associated with dry rot of potato tubers in Poland. **European Journal of Plant Pathology**, 145:871-884.
- Stevenson, W.R., Loria, R., Franc, G.D and Weingartner, D.P., 2001. Compendium of potato diseases, 2nd edition. **American Phytopathological Society Press**. 144 St. Paul, Minnesota, USA:
- Sujatha, N. and Ammani, K., 2013. Siderophore production by the isolates of fluorescent Pseudomonads. **International Journal of Current Research and Review (IJCRR)**, 5(20):1-7
- Takooree, S.D., Neetoo, H. and Ranghoo-Sanmukhiya, V.M., 2023. First report of *Colletotrichum coccodes* causing black dot on potato in Mauritius. **New Disease Reports**, 48(2):e12224.
- Takooree, S.D., Neetoo, H., Ranghoo-Sanmukhiya, M., Hardowar, S., Vander Waals, J., Vally, V., Bunwaree, A., Vojvodić, M. and Bulajic, A. 2021b. First report of Black Scurf caused by *Rhizoctonia solani* AG-3 on potato tubers in Mauritius. **Plant Disease**, 105(1): 5-208.
- Takooree, S.D., Neetoo, H., Ranghoo-Sanmukhiya, M., Vander Waals, J., Vojvodić, M. and Bulajic, A., 2021a. First report of charcoal rot caused by *Macrophomina phaseolina* on potato tubers in Mauritius. **Plant Disease**, 105(9):2268-2710.
- Tariq, M., Hameed, S., Yasmeen, T., Zahid, M. and Zafar, M., 2014. Molecular characterization and identification of plant growth promoting endophytic bacteria isolated from the root nodules of pea (*Pisum sativum* L.). **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 30:719-725.
- Tariq, M., Khan, A., Asif, M., Khan, F., Ansari, T., Shariq, M. and Siddiqui, M.A. 2020. Biological control: a sustainable and practical approach for plant disease management. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**. 70(6):507-524.

- Tian, D., Song, X., Li, C., Zhou, W., Qin, L., Wei, L., Di, W., Huang, S., Li, B., Huang, Q., Long, S., He, Z. and Wei, S., 2021. Antifungal mechanism of *Bacillus amyloliquefaciens* strain GKT04 against *Fusarium* wilt revealed using genomic and transcriptomic analyses. **Microbiologyopen**, 10(3): e1192.
- Tiwari, R.K., Bashyal, B.M., Shanmugam, V., Lal, M.K., Kumar, R., Sharma, S., Naga, K.C., Chourasia, K.N. and Aggarwal, R., 2022. First report of dry rot of potato caused by *Fusarium proliferatum* in India. **Journal of Plant Diseases and Protection**, 129:173–179.
- Tiwari, R.K., Kumar, R., Sharma, S., Sagar, V., Aggarwal, R., Naga, K.C., Lal, M.K., Chourasia, K.N., Kumar, D. and Kumar, M., 2020. Potato dry rot disease: Current status, pathogenomics and management. **3 Biotech**, 10:503.
- Tjamos, E.C., Tjamos, S.E. and Antoniou, P.P., 2010. Biological management of plant diseases: highlights on research and application. **Journal of Plant Pathology**, 92 (4, Supplement):17-21.
- Toketti, O., 2021. Konya ve Karaman illerindeki önemli patates ekim alanlarında karşılaşılan fungal ve bakteriyel hastalıkların belirlenmesi. **Yüksek Lisans Tezi (Tez No: 730652). Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Üniversitesi, Bitki Koruma ABD. 87s.**
- Tozlu E., 2016. Bazı bakteriyel biyokontrol ajanlar ile havuç acı çürüklük hastalığı (*Geotrichum candidum* Link)'nın biyolojik mücadelesi. **Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 47 (1): 1-9.
- Triki, M.A., Priou, S., El Mahjoub, M. and Baudry, A., 2001. Leak syndrome of potato in Tunisia caused by *Pythium aphanidermatum* and *Pythium ultimum*. **Potato Research**, 44:221–231.
- Tsavkelova, E.A., Cherdyntseva, T.A., Botina, S.G. and Netrusov, A.I., 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. **Microbiological Research**, 162(1):69-76.
- Tsrer, L., Aharon, M., and Erlich, O., 1999. Survey of bacterial and fungal seedborne diseases in imported and domestic potato seed tubers. **Phytoparasitica**, 27(3):215-226.
- TÜİK (2022) TÜİK Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. Erişim tarihi 10 Mart, 2024
- Ullah, A., Mushtaq, H., Fahad, S., Shah, A. and Chaudhary, H.J., 2017. Plant growth promoting potential of bacterial endophytes in novel association with *Olea ferruginea* and *Withania coagulans*. **Microbiology**, 86:119-127.
- Upadhyay, S.K., Sk, M. and Singh, D.P., 2012. Salinity tolerance in free living plant growth promoting Rhizobacteria. **Indian Journal of Scientific Research**, 3(2):73-78.
- van Lenteren, J.C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W.J. and Urbaneja, A. 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. **BioControl**, 63:39-59.
- Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. **Plant and Soil**, 255: 571-586.
- Walkowiak, W. and Krzyśko-Łupicka, T., 2014. New solutions in grain protection against fusariosis. **Progress in Plant Protection**, 54(2), 127–134 [in Polish].
- Wang, Y., Zeng, Q., Zhang, Z., Yan, R. and Zhu, D., 2010. Antagonistic bioactivity of an endophytic bacterium H-6. **African Journal of Biotechnology**, 9(37): 6140-6145.

- Wei, L., Fan, L., Yang, C., Jin, M., and Osei, R. 2023. Analysis of bioactive compounds produced by *Bacillus mojavensis* ZA1 and their antagonistic effect on *Colletotrichum coccodes* by GC-MS. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, doi: 10.1007/s12010-023-04771-9.
- Wharton, P.S. and Kirk, W.K., 2014. Evaluation of biological seed treatments in combination with management practices for the control of Fusarium dry rot of potato. **Biological Control**, 73:23-30.
- Wharton, P.S., Kirk, W.K., Berry, D. and Tumbalam, P., 2007a. Seed treatment application-timing options for control of fusarium decay and sprout rot of cut seedpieces. **American Journal of Potato Research**, 84(3): 237-244.
- Wharton, P.S., Hammerschmidt, R., and Kirk, W.W. 2007b. Fusarium dry rot. Michigan State University Extension Bulletin E-2995.
- White, T.J., Bruns, T.D., Lee, S.B. and Taylor J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. (M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky (Editörs) In: **PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications**. San Diego, CA, Academic Press, 315-322.
- Willbur, J.F., Schlachter, E.M., Satoh-Cruz, M., Ruth, S., Burek, C. and Byrne, J., 2023. First Report of *Geotrichum candidum* Causing Rubbery Rot of Potato (*Solanum tuberosum*) in Michigan. **Plant Disease**, 107(5):1633.
- Xia, Y., DeBolt, S., Dreyer, J., Scott, D. and Williams, M.A., 2015. Characterization of culturable bacterial endophytes and their capacity to promote plant growth from plants grown using organic or conventional practices. **Frontiers in Plant Science**, 6: 490.
- Xue, H., Liu, Q. and Yang, Z., 2023. Pathogenicity, Mycotoxin Production, and Control of Potato Dry Rot Caused by *Fusarium* spp.: A Review. **Journal of Fungi**, 9(8):843.
- Zahran, H.H., 2001. Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. **Journal of Biotechnology**, 91(2-3):143-153.
- Zhang, H., Xu, F., Wu, Y., Hu, H. and Dai, X., 2017. Progress of potato staple food research and industry development in China. **Journal of Integrative Agriculture**, 16(12): 2924–2932.
- Zhang, L., Khabbaz, S.E., Wang, A., Li, H. and Abbasi, P.A., 2015. Detection and characterization of broad-spectrum antipathogen activity of novel rhizobacterial isolates and suppression of Fusarium crown and root rot disease of tomato. **Journal of Applied Microbiology**, 118(3): 685-703.
- Zheng, M., Shi, J., Shi, J., Wang, Q. and Li, Y., 2013. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic *Bacillus* strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. **Biological Control**, 65(2):200–206.
- Zhong, L., Li, L., Zheng, Y., Zhou, Y., Zeng, Y., Zhu, W. and Chen, F., 2022. First Report of Black Dot Caused by *Colletotrichum coccodes* on Potato in the Tibet Autonomous Region of China. **Plant Disease**, 106(10):2545-2765.

ÖZGEÇMİŞ

Yazar, İlkokul, Ortaokul ve Lise öğrenimini Mersin ilinde tamamladı. 2000 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Bitkisel Üretim Bölümü'nü kazandı. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünden 2004 yılında mezun oldu. 2004 yılı Eylül ayında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı ve 2007 yılı Temmuz ayında Bitki Koruma Anabilim Dalından Yüksek Lisans derecesiyle mezun oldu. 2005 yılında KPSS ile Tarım ve Orman Bakanlığı Diyarbakır İl Müdürlüğü emrine Ziraat Mühendisi olarak atandı. Daha sonra görev yeri değişikliklikleri ile 2009 yılında Karaman İl Müdürlüğü emrine ve 2012 yılında Konya İl Müdürlüğü emrine atandı. 2011 yılında İnspektör olarak yetkilendirilip halen Konya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Bitkisel Üretim ve Bitki Sağlığı Şube Müdürlüğünde İnspektör olarak görev yapmaktadır.

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

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