



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ADİYAMAN İLİNDE TRABZON HURMASINDA (*Diospyros kaki* L.)
GÖRÜLEN FUNGAL HASTALIK ETMENLERİ ve FAYDALI
BAKTERİLERLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

MEHMET ATAY

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

HATAY
KASIM - 2024



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ADİYAMAN İLİNDE TRABZON HURMASINDA (*Diospyros kaki* L.)
GÖRÜLEN FUNGAL HASTALIK ETMENLERİ ve FAYDALI
BAKTERİLERLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ

MEHMET ATAY
ORCID:0000-0001-5751-4764

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

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

HATAY
KASIM - 2024

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ADİYAMAN İLİNDE TRABZON HURMASINDA (*Diospyros kaki* L.)
GÖRÜLEN FUNGAL HASTALIK ETMENLERİ ve FAYDALI
BAKTERİLERLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ**

MEHMET ATAY
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Prof. Dr. Soner SOYLU danışmanlığında hazırlanan bu tez **07/11/2024** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Soner SOYLU

Başkan

Prof. Dr. Yeşim AYSAN

Üye

Doç. Dr. Adem BOZKURT

Üye

Dr. Öğretim Üyesi Merve OĞUZ

Üye

Dr. Öğretim 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.010

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.

07/11/2024

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.

Mehmet ATAY

ÖZET

ADİYAMAN İLİNDE TRABZON HURMASINDA (*Diospyros kaki* L.) GÖRÜLEN FUNGAL HASTALIK ETMENLERİ ve FAYDALI BAKTERİLERLE BİYOLOJİK MÜCADELESİ

Meyveleri tüketilen, subtropik bir bitki olan Trabzon hurması (*Diospyros kaki* L.) Türkiye'nin Adıyaman ilinde yaygın olarak yetiştirilir. Bu çalışmada; (i) Adıyaman ili Trabzon hurması bahçelerinde sorun olan fungal hastalık etmenlerinin sörveyi, tanılanması ve yaygınlığının belirlenmesi, (ii) sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarından faydalı biyolojik mücadele etmeni (BCA) bakteriyel türlerinin izolasyonu ve tanılaması, (iii) BCA bakteri izolatların bölgede en yaygın hastalık etmenine karşı *in vitro* ve *in vivo* antifungal etkinlikleri ile etki mekanizmalarının belirlenmesi araştırılmıştır. Adıyaman ili Merkez, Gölbaşı, Besni, Kahta, Tut ve Çelikhan ilçelerinde tesadüfi olarak seçilmiş 28 bahçede, farklı bitki fenolojik dönemlerini kapsayan sörvey çalışması sonrası 438 adet fungal izolat elde edilmiştir. Yapılan “Morfolojik”, “MALDI-TOF” ve “Moleküler” tanılama yöntemleri sonucu en yaygın tür *Alternaria alternata* (Fr) Keissler olarak belirlenmiştir. *Cladosporium herbarum*, *Curvularia spicifera*, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea* ve *Rhizopus stolonifer* farklı rastlama sıklığında gözlenen diğer fungal hastalık etmenleri olarak saptanmıştır. *Cladosporium herbarum*, *Curvularia spicifera*, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus* ve *Rhizopus stolonifer*'in Türkiye’de yetişen Trabzon hurmalarında hastalıklara neden olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının farklı kısımlarından toplam 123 epifit ve endofit BCA bakteri izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlar arasından 47 farklı BCA bakteri izolatı biyokontrol etkinlik çalışmaları için seçilmiştir. MALDI-TOF MS ile tanılanan bu izolatlardan 40 tanesi *Bacillus* spp., 3 tanesi *Pseudomonas* spp., 2 tanesi *Enterobacter cloacae* ve 1 tanesi ise *Curtobacterium flaccumfaciens* olarak tanılanmış olup, BCA bakteri izolatların *A. alternata* hastalık etmeni üzerine olan antagonistik etkileri *in vitro* ve *in vivo* koşullarda belirlenmiştir. *In vitro* sonuçlar değerlendirildiğinde; 4 bakteri izolatının %3.33-13.89 arası oranlarında, 11 bakteri izolatının %26.11-47.22 oranlarında ve 32 izolatın ise >%50 oranlarında hastalık etmeninin misel gelişimini engellediği belirlenmiştir. *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MA63ep, *B. amyloliquefaciens* MA55ep ve *B. subtilis* MA50ep izolatları %78.89-80.56 engelleme oranları ile en etkili izolatlar olmuştur. *In vivo* denemelerde 47 bakteri izolatın “koruyucu” ve “tedavi edici” biyokontrol etkinliği yapay olarak inokule edilmiş meyveler üzerinde belirlenmiştir. BCA bakteri izolatların “koruyucu” etkinliği “tedavi edici” etkinliğine kıyasla meyvede *A. alternata* kaynaklı lezyon gelişimini engellemede daha yüksek oranda etkili olmuştur. *In vitro* ve *in vivo* antifungal etkinlik çalışmalarında kaydedilen engelleme değerlerinin ortalaması baz alındığında *Bacillus subtilis* MA29en, *Bacillus cereus* MA57en ve *Bacillus subtilis* MA48en en başarılı etkinlik gösteren BCA bakteri izolatları olarak belirlenmiştir.

Antagonistik ve bitki gelişimini teşvik etmede sorumlu etki mekanizmalarından siderofor, proteaz enzimi, hidrojen siyanür (HCN), amonyak (NH₃), IAA üretimi ve fosfor çözme etkinliklerini belirlemeye yönelik çalışmalarda 30 izolat kullanılmıştır. Tüm bakteri izolatları amonyak (NH₃), 29 bakteri izolatı siderofor ve proteaz, 8 bakteri izolatı HCN üretimi açısından pozitif olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, 47 bakteri izolatı değişen miktarlarda IAA üretirken 6 izolat fosfor çözme özelliği sergilemiştir. *B. cereus* MA58en-MA27en, *B. megaterium* MA38ep, *B. subtilis* MA50ep, *Pseudomonas aeruginosa* MA65en, *P. chlororaphis* MA77ep ve *B. thuringiensis* MA74ep izolatı söz konusu tüm mekanizmalara sahip BCA bakteri izolatlar olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma, Adıyaman ili Trabzon hurması bahçelerinde fungal hastalık etmenlerinin kapsamlı şekilde belirlendiği ve *A. alternata*'ya karşı biyolojik mücadele olanaklarının araştırıldığı ilk çalışmadır. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda yüksek antifungal etkinliğe sahip *Bacillus subtilis* MA29en, *Bacillus cereus* MA57en, *Bacillus subtilis* MA1ep, *Bacillus cereus* MA58en, *Bacillus mojavensis* MA61en ve *Bacillus subtilis* MA48en gibi izolatların *A. alternata* ile biyolojik mücadelede fungusitlere alternatif olarak değerlendirilebileceği sonucuna varılmıştır.

2024, 134 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Alternaria alternata*, antagonist, alternatif mücadele, MALDI-TOF, cennet hurması

ABSTRACT

FUNGAL DISEASE AGENTS of PERSIMMON (*Diospyros kaki* L.) in ADIYAMAN PROVINCE and BIOLOGICAL CONTROL with BENEFICIAL BACTERIA

Persimmon (*Diospyros kaki* L.), a subtropical plant whose fruits are consumed, is widely grown in Adıyaman province of Türkiye. In this study; (i) survey, identification and prevalence of fungal disease pathogens in persimmon orchards in Adıyaman province, (ii) isolation and identification of beneficial biological control agent (BCA) bacterial species from healthy persimmon trees, (iii) *in vitro* and *in vivo* antifungal activity and mechanism of action of BCA bacterial isolates against the most common disease agents observed in the region were investigated. A total of 438 fungal isolates were obtained from 28 randomly selected orchards in Merkez, Gölbaşı, Besni, Kahta, Tut and Çelikhhan districts of Adıyaman province during different phenological periods of the plants. As a result of “morphological”, “MALDI-TOF” and “molecular” identification studies, the most common species was identified as *Alternaria alternata* (Fr) Keissler. *Cladosporium herbarum*, *Curvularia spicifera*, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* were also identified as other fungal pathogens with varying incidence. This is the first report of *Cladosporium herbarum*, *Curvularia spicifera*, *Neoscytalidium dimidiatum*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus* and *Rhizopus stolonifer* causing diseases on persimmon growing in Türkiye.

A total of 123 epiphytic and endophytic BCA bacterial isolates were obtained from different parts of healthy persimmon trees. Among these isolates, antagonistic activities of 47 different BCA bacterial isolates were selected for biocontrol studies. Among these bacterial isolates identified by MALDI-TOF MS, 40 BCA bacterial isolates were identified as *Bacillus* spp., 3 as *Pseudomonas* spp., 2 as *Enterobacter cloacae* and 1 as *Curtobacterium flaccumfaciens*. The antagonistic effects of the BCA bacterial isolates on *A. alternata* disease agent were determined under *in vitro* and *in vivo* conditions. When the *in vitro* results were evaluated; 4 bacterial isolates inhibited mycelial growth of the disease agent at rates between 3.33-13.89%, 11 bacterial isolates at rates between 26.11-47.22% and 32 isolates at rates >50%. *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MA63ep, *B. amyloliquefaciens* MA55ep and *B. subtilis* MA50ep isolates were the most effective isolates with 78.89-80.56% inhibition rates of mycelial growth. *In vivo* tests also determined the “protective” and “therapeutic” biocontrol activities of 47 bacterial isolates were also determined on artificially inoculated fruits. The “protective” activities of the BCA bacterial isolates were more effective in preventing the development of *A. alternata*-induced lesions on fruit compared to their “therapeutic” activities. *Bacillus subtilis* MA29en, *Bacillus cereus* MA57en and *Bacillus subtilis* MA48en were determined as the most successful BCA bacterial isolates based on the inhibition values recorded in *in vitro* and *in vivo* antifungal activity studies.

Thirty bacterial isolates were used in the studies to determine the production of siderophore, protease enzyme, hydrogen cyanide (HCN), ammonia (NH₃), IAA and phosphorus solubilising activities responsible for the antagonistic and plant growth promoting mechanisms of action. All bacterial isolates were positive for ammonia (NH₃), 29 bacterial isolates were positive for siderophore and protease, 8 bacterial isolates were positive for HCN production. In addition, 47 bacterial isolates produced varying amounts of IAA, while 6 isolates showed phosphorus solubilising activities. *B. cereus* MA58en-MA27en, *B. megaterium* MA38ep, *B. subtilis* MA50ep, *B. thuringiensis* MA74ep, *Pseudomonas aeruginosa* MA65en and *P. chlororaphis* MA77ep were identified as BCA bacterial isolates having with all these mechanisms.

This is the first study conducted to comprehensively identify fungal pathogens in persimmon orchards in Adıyaman province and to investigate biological control options against the *A. alternata* disease agent. It was concluded that *Bacillus subtilis* MA29en, *Bacillus cereus* MA57en, *Bacillus subtilis* MA1ep, *Bacillus cereus* MA58en, *Bacillus mojavensis* MA61en and *Bacillus subtilis* MA48en isolates with high biocontrol activity *in vitro* and *in vivo* studies can be used in biological control of *A. alternata* as an alternative to fungicides.

2024, 134 pages

Key Words: *Alternaria alternata*, antagonist, alternative control, MALDI-TOF, persimmon

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, planlanması, yürütülmesi, laboratuvar çalışmaları ve yazım aşamasında değerli bilgilerini ve tecrübelerini esirgemeyen; lisansüstü öğrenim sürecim boyunca danışmanlığımı yapmış olan ve her türlü desteği sağlayan, etik davranma ve düzenli çalışmayı felsefe edinmeme vesile olan, kendisiyle çalışmaktan çok mutlu olduğum kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Soner SOYLU'ya sonsuz saygı, teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Tez konumun belirlenmesi, çalışmaların takibinde profesyonel yaklaşımları ve öngörülleri ile doktora çalışmamı zenginleştiren ve yardımlarını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Yeşim AYSAN ve Doç. Dr. Adem BOZKURT'a, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nde bulunan ve lisans öğrenimimden bu yana bilgi ve deneyimlerini paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Şener KURT, Prof. Dr. E. Mine SOYLU ve Prof. Dr. İlhan ÜREMİŞ'e, laboratuvar çalışmalarında yapmış oldukları katkı ve yardımlarından ötürü Dr.Öğr. Üyesi Merve OĞUZ, Öğr. Gör. Dr. Aysun UYSAL ve Arş. Gör. Yusuf GÜMÜŞ'e, tez çalışmalarım sırasında tüm bölüm imkânlarından yararlanmamı sağlayan HMKÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı'na, doktora tez çalışmamı 21.D.010 nolu proje kapsamında destekleyen HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığına, moleküler ve MALDI-TOF MS analiz çalışmalarımın yürütülmesindeki katkılarından dolayı HMKÜ Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'ne, HMKÜ FEN Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Mensubu olduğum Adıyaman Üniversitesi'ne, üniversitemiz Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nün kıymetli hocaları Dr. Öğr. Üyesi Şaban KARAAT, Prof. Dr. Mahmut İSLAMOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Meltem AVAN'a, ayrıca Bahçe Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Fırat Ege KARAAT'a çok teşekkür ederim.

Beni her zaman en iyisini yapabileceğime inandıran, bu günlere gelmemi sağlayan ve maddi-manevi her türlü desteklerini esirgemeyen aileme ise sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	19
2.1. Dünya’da Trabzon Hurması Ağaçlarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar	19
2.2. Türkiye’de Yetiştirilen Trabzon Hurması Ağaçlarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar.....	24
2.3. Fungal Etmenlere Karşı Bakterilerle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması Üzerine Yapılan Çalışmalar.....	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	30
3.1. Materyal.....	30
3.2. Yöntem	30
3.2.2. Enfekteli Trabzon Hurması Ağaçlarından Fungal Etmenlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması.....	33
3.2.3. Fungal Etmenlerin Morfolojik Olarak Tanımlanmaları ve Tek Spor İzolatlarının Elde Edilmesi	35
3.2.4. Fungal İzolatların Patojenisite Testleri.....	37
3.2.5. Fungal İzolatların Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Yöntemiyle Tanımlanması	42
3.2.6. Fungal İzolatların Moleküler Yöntemle Tanımlanması	42
3.2.7. Biyolojik Mücadele Etmeni (BCA) Aday Endofit ve Epifit Bakterilerin İzolasyonu	45
3.2.8. Aday Endofit ve Epifit BCA İzolatlarının Seçimi.....	47
3.2.9. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Tanımlanması	49
3.2.10. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının <i>Alternaria alternata</i> ’nın Misel Gelişimini <i>in vitro</i> Koşullarda Engelleme Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	50
3.2.11. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Engelleme Bölgelerindeki Antifungal Etkinliklerinin Fungisidal ve Fungistatik Özelliklerinin Belirlenmesi...	51
3.2.12. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Antagonistik ve Bitki Gelişimini Teşvik Etmekte Kullandıkları Mekanizmaların Belirlenmesi.....	52
3.2.12.1. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Siderofor Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi.....	53
3.2.12.2. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Proteaz Enzimi Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi.....	54
3.2.12.3. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Fosforu Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi.....	55
3.2.12.4. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Hidrojen Siyanür (HCN) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	56
3.2.12.5. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Amonyak (NH ₃) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi.....	57

3.2.12.6. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	58
3.2.13. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Hastalık Belirtilerinin Çıkışının Engellenmesi Üzerine <i>in vivo</i> Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi	59
3.2.14. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	63
4.1. Hastalık Sörveyi	63
4.2. Hastalık Belirtileri Gösteren Trabzon Hurması Ağaçlarından Fungal İzolatların Elde Edilmesi	69
4.3. İzolasyonlar Sonrası Elde edilen Fungal İzolatların Morfolojik Olarak Tanılanmaları ve Bunlardan Tek Spor İzolatların Elde Edilmesi	71
4.4. Trabzon Hurması Bahçelerinden İzolen Edilen Fungal Türler ve Yaygınlıkları ...	74
4.5. Fungal İzolatların Patojenisite Testleri	76
4.6. Fungal İzolatların Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Teşhisi	84
4.7. Fungal İzolatların Moleküler Tanılanması	85
4.8. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakterilerin İzolasyonu	86
4.9. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Seçimi	87
4.10. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Tanılanması	88
4.11. Aday Endofit ve Epifit Bakteri İzolatlarının <i>Alternaria alternata</i> 'ya Olan Antifungal Etkinliklerinin <i>in vitro</i> Koşullarda Belirlenmesi	91
4.12. Antagonist Bakteri İzolatlarının <i>Alternaria alternata</i> 'yı Engellemede Kullandıkları Olası Biyokontrol Mekanizmaları ve Bitki Gelişimini Artırıcı Etkilerinin Belirlenmesi	97
4.13. Aday Endofit ve Epifit Bakteri İzolatlarının <i>Alternaria alternata</i> 'nın Neden Olduğu Hastalık Çıkışı Üzerine Olan <i>in vivo</i> Etkilerinin Belirlenmesi	104
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	116
KAYNAKLAR	121
ÖZGEÇMİŞ	133
EKLER	134

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Trabzon hurmasının (<i>Diospyros kaki</i> L.) farklı ülkelerin yerel dillerinde kullanılan isimleri (EPPO, 2024)	1
Çizelge 1.2. <i>Diospyros kaki</i> L.'nin bitki taksonomisindeki yeri (EPPO, 2024)	2
Çizelge 1.3. Dünyada 2022 yılında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alanları ve üretim miktarları (FAO, 2024; TÜİK, 2024)	7
Çizelge 1.4. Türkiye’de 2014-2023 yılları arasında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alan ve miktarları (TÜİK, 2024)	8
Çizelge 1.5. Türkiye’de 2023 yılında Trabzon hurması üretiminin gerçekleştiği başlıca iller (TÜİK, 2024)	9
Çizelge 1.6. Adıyaman ilinde 2014-2023 yılları arasında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alan ve miktarları (TÜİK, 2024)	9
Çizelge 1.7. Adıyaman ilinde yer alan ilçelerde 2023 yılında gerçekleşen Trabzon hurması üretim istatistikleri (TÜİK, 2024)	10
Çizelge 3.1. Trabzon hurması bahçelerinde farklı tarihlerde yapılan bitki hastalık sürveyleri.....	31
Çizelge 3.2. Grigorov (1974)’dan modifiye edilmiş sürvey metoduna göre bir bahçede incelenen ağaç sayısı	32
Çizelge 3.3. DNA’ları çıkarılmış bazı fungus izolatları ve DNA miktarlarının yoğunlukları	44
Çizelge 3.4. PCR işlemi için kullanılan primerler ve gen dizilimleri	44
Çizelge 4.1. Adıyaman ili Trabzon hurması bahçelerinde farklı tarihlerde yapılan bitki hastalık sürveyleri ve sürvey yapılan bahçeler.....	64
Çizelge 4.2. Adıyaman ilinde yer alan farklı Trabzon hurması bahçelerinde yapılan sürvey çalışmaları sonrası hastalıklı bitki oranı (%), örnek alınan ağaç sayısı (adet) ve elde edilen izolat sayılarının ilçelere göre dağılımı	75
Çizelge 4.3. Morfolojik, MALDI-TOF MS ve moleküler olarak tanılanmış farklı türleri temsilen seçilen bazı fungus izolatların Trabzon hurmasının çeşitli bitki kısımlarında yapılan patojenisite testi sonuçları	77
Çizelge 4.4. Moleküler teşhis amacıyla farklı türleri temsilen seçilen fungal izolatlar ve bu izolatlardan elde edilen DNA’ların ITS primeri ile çoğaltılması sonrası elde edilen nükleotid dizilerinin NCBI BLAST analizleri ile eşleştikleri fungus türleri	85
Çizelge 4.5. Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarından yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen aday antagonist bakteri izolatların MALDI-TOF tanımlama sonuçları ve bunlara ait bazı bilgiler	89
Çizelge 4.6. Aday endofit ve epifit bakteri izolatların <i>in vitro</i> ikili kültür testlerinde <i>Alternaria alternata</i> ’nın misel gelişimi üzerine olan antagonistik etkileri ..	92
Çizelge 4.7. Farklı endofit ve epifit karakterli antagonist bakteri izolatlarının <i>Alternaria alternata</i> ’yı engellemede kullandıkları olası biyokontrol mekanizmaları ...	97
Çizelge 4.8. Farklı endofit ve epifit karakterli antagonist bakteri izolatlarının bitki gelişimini teşvik etmekte kullandıkları Indol asetik asit üretimi ve fosforu çözme durumları.....	101
Çizelge 4.9. Farklı inokulasyon tekniklerinin uygulandığı meyvelerde BCA bakteri izolatlarının <i>Alternaria alternata</i> tarafından neden olunan hastalık çıkışının engellenmesi üzerine olan yarı <i>in vivo</i> “tedavi edici” ve “koruyucu” etkileri.	106

Çizelge 4.10. BCA bakteri izolatlarının <i>Alternaria alternata</i> 'ya karşı <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> koşullarda misel gelişimi ve hastalık gelişiminin engellenmesinde (%) gösterdikleri antifungal etkinliklerin ^a karşılaştırılması.	110
---	-----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Adıyaman ilinde, (A) hasat edildikten sonra üreticiler tarafından kurutma işlemine tabi tutulan Trabzon hurması meyveleri. (B-C) Kurutma işlemi sonrası tüketime hazır meyveler.....	3
Şekil 1.2. Adıyaman ilinde ekonomik olarak yaygın şekilde yetiştiriciliği yapılan “Hachiya” çeşidi sağlıklı Trabzon hurması ağacı	4
Şekil 1.3. “Hachiya” çeşidinin farklı fenolojik dönemlerinde çekilmiş çiçek ve meyve görüntüleri	5
Şekil 1.4. Hasat zamanı farklı renklere bürünmüş bir Trabzon hurması ağacına ait çeşitli renkte yapraklar (sol) ve olgunlaşmış meyveler (sağ)	5
Şekil 1.5. Buruk olduğu halde çiçekleri tozlandığı için sertken bile yenilebilen bazı Trabzon hurması meyveleri.....	6
Şekil 1.6. Adıyaman ilinde 2023 yılında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alan ve miktarlarının ilçelere göre yüzde (%) dağılımı (TUIK, 2023).	10
Şekil 3.1. Sörvey yapılan bir bahçede uygulanan örnekleme modeli	33
Şekil 3.2. (A-C) Trabzon hurması ağaçlarında gözlenen hastalık belirtileri (ok). (D-F) Hastalıklı bitki kısımlarından alınan dokulardan PDA besi ortamı üzerinde gelişen fungal koloniler (ok).	35
Şekil 3.3. Fungal izolatların morfolojik olarak tanımlanmalarında baz alınmış koloni ve spor yapıları. (A-C) <i>A. alternata</i> , (D-E) <i>Aureobasidium pullulans</i> , (G-I) <i>Cladosporium</i> sp. izolatlarına ait koloni ve sporlar (ok).....	36
Şekil 3.4. Sağlıklı Trabzon hurması yapraklarında yapılan patojenisite çalışmaları. Fungus disklerinin mikro yara açılan yaprak yüzeyine yerleştirildikten sonra (A-C) üst ve (D-F) alt yüzeyde hastalık gelişimi. Kontrol (A-D) ve Patojen olmayan bir izolatın (C-F) yaprakların üst ve alt yüzeylerindeki görünümü	38
Şekil 3.5. Sağlıklı Trabzon hurması meyvelerinde (cv. Hachiya) “disk inokulasyon” (A-C) ve “kürdan inokulasyon” (D-F) yöntemleri ile yapılan patojenisite testleri. İnokulasyonlar sonucunda kontrol meyvesine (B ve E) kıyasla fungus enfeksiyonu sonucu meyvelerde oluşan hastalık belirtisi (C-F).	39
Şekil 3.6. Sağlıklı Trabzon hurması fidanlarından kesilen sürgünlerde yapılan patojenite testleri ve hastalık gelişimi. (A) Kontrol (B) fungal izolatın misel diskinin (ok) inokule edilmesi. (C) Kontrol bitkisine oranla fungus inokule edilmiş bitkilerin odunsu dokularında meydana gelen belirtiler (ok). (D) Farklı izolatların patojenisite testi sonucu gövde/sürgünlerde oluşturdukları belirtiler (ok)	41
Şekil 3.7. Fungal izolatların moleküler olarak teşhis çalışmaları. Genomik DNA’larının izolasyonu, ITS 1-4 primerleri ile PCR’da çoğaltılması ve oluşan bantların genel görünümleri.	44
Şekil 3.8. (A-C) Aday endofit ve epifit BCA izolatlarının elde edildiği sağlıklı Trabzon hurması bitki örnekleri. (D-E) Yapılan izolasyon çalışmaları sonrası besi ortamlarında gelişen ve, (F) tek kolonilerden saflaştırılan BCA izolatları ..	46
Şekil 3.9. Aday antagonist bakteri izolatları için yapılan tütün yapraklarında aşırı duyarlılık (HR) ve patates dilimlerinde pektolitik aktivite testleri. (A) Bakteri izolatlarından hazırlanan süspansiyonların tütün yapraklarına inokulasyonu ve (B) inokulasyon sonrası oluşan hastalık belirtisi (*). (C)	

Patates dilimi üzerinde yumuşak çürüklük oluşturan (*) ve (D) oluşturmayan (ok) bazı izolatlar.....	48
Şekil 3.10. <i>In vitro</i> ikili kültür testlerinde aday antagonist bakteri ve fungal hastalık etmeni <i>A. alternata</i> izolatının petriye uygulama şekli	50
Şekil 3.11. Endofit ve epifit bakteri izolatlarının, <i>Alternaria alternata</i> 'nın misel gelişimi üzerine olan antagonistik etkilerinin <i>in vitro</i> ikili kültür testiyle belirlenmesi	51
Şekil 3.12. Antagonist bakteri izolatlarının ürettiği bileşiklerin fungus misel gelişimi üzerindeki fungisidal/fungistatik özelliklerinin belirlenmesi. Sağlıklı misel disklerinin (ok) engelleme bölgesinde (*) gelişme göstermemesi etkinin fungisidal özellikte olduğunu göstermiştir	52
Şekil 3.13. Endofit ve epifit bakteri izolatlarının (A) siderofor üretimi, (B) proteaz enzim aktivitesi ve (C) fosforu çözme potansiyellerinin belirlenmesi. BCA izolatların çevresinde ok ile belirtilen engelleme alanları meydana gelmiştir. Etkili olmayan izolatların (*) çevresinde ise herhangi bir engelleme alanı meydana gelmemiştir	53
Şekil 3.14. Bakteri izolatlarının, (A) siderofor üretimi, (B) proteaz enzimi üretimi ve (C) fosforu çözme potansiyellerinin sırasıyla; CAS agar, SMLBA ve PVK agar besiyerlerinde belirlenmesi. İndeks değerleri, temizlenen şeffaf zon çapının (Zç) bakteri koloni çapına (kç) oranlanmasıyla hesaplanmıştır	55
Şekil 3.15. Bakteri izolatlarının glycine eklenmiş TSA besiyeri üzerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Filtre kâğıdının açık sarıdan koyu kahverengi-kırmızıya dönmesi, bakteri izolatı tarafından yüksek miktarda HCN üretiminin gerçekleştiğini göstermektedir.....	56
Şekil 3.16. Farklı bakteri izolatlarının amonyak (NH ₃) üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Amonyak üretimi sonrası besiyeri renginin açık sarıdan koyu sarı-kahverengine (soldan sağa) dönüşmesi.....	57
Şekil 3.17. Bakteri izolatlarının tryptophane ihtiva eden Luria-Bertani besiyerinde IAA üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Farklı izolatlarca üretilen IAA yoğunluğuna bağlı olarak tüplerde sarı renkten kırmızı pembe renge olan renk değişimleri gerçekleşmiştir	59
Şekil 3.18. Bakteri izolatlarının <i>A. alternata</i> üzerine olan yarı <i>in vivo</i> biyokontrol etkilerinin belirlenmesi. (A-C) Denemelerde kullanılmak üzere seçilen 'Hachiya' çeşidi sağlıklı Trabzon hurması meyveleri. (D-F) Farklı uygulama yapılan meyvelere misel diskinin yerleştirilmesi ve meyvelerin inkübasyonu	60
Şekil 4.1. (A) Adıyaman ili Gölbaşı ilçesinde yer alan bir Trabzon hurması bahçesi. Farklı Trabzon hurması bahçelerinde yapılan sörvey çalışmaları sonucu bazı ağaçların yaprak (B), meyve (C) ve sürgünlerinde (D,E) gözlemlenen tipik hastalık belirtileri (ok).....	67
Şekil 4.2. Hastalık şüphesiyle seçilen ancak PDA besiyerinde yapılan tekrarlı ve farklı zamanlı izolasyon çalışmalarına rağmen besiyerinde herhangi bir misel gelişimi gözlenmeyen yaprak ve meyve belirtileri.....	68
Şekil 4.3. (A,B) Muhtemelen besin elementi noksanlığına sahip Trabzon hurması yaprakları ve (C-E) güneş yanığının meyvelerde meydana getirdiği belirtiler. Fungal türlerin (veya fırsatçı patojenlerin) gelişme ihtimaline karşı bu tür yaprak ve meyve belirtilerinden de benzer yöntemlerle izolasyonlar	

yapılmış ancak besi ortamları üzerinde herhangi bir misel gelişimine rastlanmamıştır	69
Şekil 4.4. Hastalık belirtisi gösteren bitki örneklerinden yapılan izolasyon çalışmaları sonrası petrilere gelişen tek veya farklı türlere ait olduğu düşünülen bazı izolatlar.....	70
Şekil 4.5. İzolasyonlar sonrası, farklı koloni morfolojisine sahip olduğu gözlenen bazı izolatlar. Elde edilen izolatlara ait koloni/mikroskop görüntüleri ve bilgiler kayıt altına alınarak bunların saf kültürleri +4 °C’de sonraki denemelerde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir	71
Şekil 4.6. Morfolojik olarak tanılaması yapılan sırasıyla; (A) <i>Alternaria alternata</i> , (B) <i>Cladosporium</i> sp., (C) <i>Aureobasidium pullulans</i> izolatlarının koloni görünüşleri ve (D-F) sırasıyla fungal etmenlerin sporlarına ait görüntüler .	73
Şekil 4.7. Patojenisite testleri sonucu farklı izolatlar tarafından hastalanmış meyvelerde yapılan re-izolasyon işlemleri. İnokulasyon amacıyla 6 mm misel diski aktarılmış alanın (*) uzağında meydana gelmiş enfekteli bölgelerden (ok) dokular alınarak PDA besi ortamı içeren yeni petrilere aktarılmıştır	76
Şekil 4.8. <i>Alternaria alternata</i> MA23 izolatının inokule edildiği meyvelerde inokülasyondan 5-7 gün sonra meydana getirmiş olduğu hastalık belirtileri (ok)	79
Şekil 4.9. <i>Alternaria alternata</i> MA23 izolatı için farklı yöntemlerle yapılan patojenisite testi sonuçları. (A-B) Fungus diski (C) ve kürdan ucu dolusu misel inokule edilmiş meyvelerde kontrol meyvelerine kıyasla meyve renginde meydana gelen değişimler (alt sıra). (D) <i>A. alternata</i> izolatı uygulanmış yeşil meyvede enfekteli alanın çevresinde oluşan hale oluşumu (açık turuncu renkli halka) (ok).....	80
Şekil 4.10. (A,B) <i>Alternaria alternata</i> MA23 izolatının petride misel gelişimi ve spor görüntüsü. Patojenisite çalışmaları kapsamında izolatın inokule edildiği yaprakların üst (C-D) ve alt yüzeylerinde (E-F) meydana getirmiş olduğu hastalık belirtisi (ok).....	80
Şekil 4.11. Yaprak ve meyvelerde patojen olarak tespit edilen <i>Curvularia spicifera</i> MA59 izolatının (A) PDA besi yerindeki gelişimi. (B) İzolatın ışık mikroskobu altında sporlarının görüntüsü. (C) Patojenisite çalışmalarında kontrol meyvesi. (D-E) Patojenisite çalışması kapsamında misel diski inokule edilmiş yaprağın üst ve alt yüzeyinde meydana gelen hastalık belirtileri. (F-G) Misel diski aktarılan sağlıklı meyvede etmenin 7 gün sonunda meydana getirmiş olduğu hastalık belirtisi (ok).....	81
Şekil 4.12. Yapılan patojenisite çalışmaları sonrası <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> MA62 izolatının sağlıklı Trabzon hurması bitkilerinin yaprak, meyve ve odunsu dokularında meydana getirdiği hastalık belirtileri (ok).....	83
Şekil 4.13. Hastalıklı bitki örneklerinden izole edilen bazı izolatların toplu MALDI-TOF MS tanı sonucu	84
Şekil 4.14. Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen bakteri izolatları. İzolasyonlar sonrası petrilere gelişen (A) endofit (üst sıra) ve epifit (alt sıra) bakteriler. (B)İzolasyonlar sonucu bazı petrilere oluşan tek koloniler, (C,D) tek kolonilerden geliştirilen saf bakteri izolatları.....	87
Şekil 4.15. Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından izole edilmiş endofit ve epifit karakterli bakteri izolatlarının, <i>in vitro</i> ikili kültür	

- testlerinde, *Alternaria alternata*'ya olan farklı düzeylerde antagonistik etkileri. Kontrol (*) petrisine kıyasla (A) 7 ve (B) 15 gün sonra bazı bakteri uygulaması yapılan petrilere gözlenen misel gelişimlerin engellenme düzeyleri 94
- Şekil 4.16. (A,B) İkili kültür testlerinde BCA izolatlarının neden olduğu engelleme bölgelerindeki fungisidal etkinliğin belirlenmesi. Engellenme bölgesine (ok) yerleştirilen sağlıklı misel disklerinde (*) gelişme gözlenmemiştir.....95
- Şekil 4.17. Antagonist bakteri izolatlarının (A) CAS Agar'da siderofor, (B) SMLB Agar'da proteaz ve (C) Pikovskaya Agar'da fosfor çözme potansiyellerinin belirlenmesi. Spesifik besi yerleri üzerinde engelleme bölgeleri (ok) oluşturmak suretiyle etkili olan ve olmayan (*) bazı izolatlar 99
- Şekil 4.18. Antagonist bakteri izolatları tarafından üretilen amonyak miktarına bağlı olarak tüplerde gözlenen renk değişimi. Soldan sağa doğru sıvı besi yeri içerisinde meydana gelen amonyak üretim miktarına bağlı olarak besiyerinin renginin açık sarı renkten koyu sarı-kahverengine (ok) dönüştüğü görülmektedir.....100
- Şekil 4.19. Antagonist bakteri izolatlarının glycine içeren TSA besi yerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri. Bakteri izolatı tarafından ortamda HCN üretimi arttıkça petri kapağındaki filtre kâğıdının rengi sarı renkten (*) koyu kırmızı-turuncu renge (ok) dönüşmüştür.....100
- Şekil 4.20. Bazı BCA bakteri izolatlarının LB besi ortamı içerisinde IAA üretme potansiyelleri. Üretilen IAA miktarına bağlı olarak besi ortamlarında kırmızıdan pembeye doğru renk değişimleri (ok) meydana gelmiştir 102
- Şekil 4.21. Misel disk yöntemiyle yapılan inokulasyonlarda BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'ya karşı *in vivo* “koruyucu” ve “tedavi edici” antifungal etkileri.....112
- Şekil 4.22. Kürdan inokulasyon yöntemiyle yapılan inokulasyonlarda BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'ya karşı *in vivo* “koruyucu” ve “tedavi edici” antifungal etkileri. İzolatın koruyucu şekilde uygulanmasının (bakterinin 48 saat inkübasyonu) meyvede *Alternaria alternata* kaynaklı lezyon oluşumunu büyük oranda engellediği açık şekilde görülmektedir .113
- Şekil 4.23. Meyvelere *Alternaria alternata*'ya karşı BCA bakteri izolatların “koruyucu” (sol) ve “tedavi edici” (sağ) etkinliği sonucunda meyvelerde oluşan lezyonlar. Bakterilerin “koruyucu” etkisi her zaman için “tedavi edici” etkisinden daha etkili bulunmuştur 113

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

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

KISALTMALAR

BCA	: B iological C ontrol A gent
BLAST	: B asic L ocal A lignment S earch T ool
CAS	: Krom azurol S (C hrome A zurol S) Agar Besi Yeri
CLA	: C arnation L eaf- P iece Agar (Karanfil Yaprak Parçası Agar Besi Yeri)
DNA	: D eoksiriboz N ükleik A sit
FAO	: F ood and A griculture O rganisation (Dünya Gıda ve Tarım ..
HCCA	: α-Cyano-4-hydroxycinnamic asid (Matriks solüsyonu)
HCN	: Hidrojen Siyanür (H ydrogen c yanade)
HMKÜ	: H atay M ustafa K emal Ü niversitesi
HR	: H ypersensitive R eaction (Aşırı Duyarlık Tepkimesi)
IAA	: I ndol 3 A setik A sit
ISR	: I nduced S ystemic R esistance (Teşvik edilmiş sistemik Dayanıklık
ITS	: I nternal T ranscribed S pacers gen bölgesi
KB	: K ing's B Agar
LB	: L uria B ertani- Besi Yeri
MALDI-TOF MS	: M atrix A sisted L aser D esorption I onization- T ime o f F light M ass S pectroscopy
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür

MLST	: M ulti- L ocus S equencing T yping
MS	: M ass S pectrometry
NA	: N utrient A gar- Besi Yeri
Na₂CO₃	: Sodium Carbonate
NaOCl	: Sodium Hypochlorite (Sodyum Hipoklorit)
NH₃	: Amonyak
PA	: P icric a cid
PCR	: P olimeraz C hain R eaction
PGPB	: P lant G rowth P romoting B acteria (Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakteri)
PGPR	: P lant G rowth P romoting R hizobacteria (Bitki Gelişimini Teşvik Eden Kökbakterisi)
PMG	: Polimetil Galakturonaz
POD	: P eroxidase
PPO	: P olyphenol o xidase
PSA	: P otato S ukroz A gar
PSB	: P otato S ukroz B roth
PVK	: P ikovskaya A gar
SAR	: S ystemic A cquired R esistance (Sistemik Kazanılmış Dayanıklılık)
SMLBA	: S kimmed M ilk L uria B roth A gar Besi Yeri
TSA	: T ryptic S oybean A gar
TÜİK	: T ürkiye İ statistik K urumu
WA	: W ater A gar (Su Agarı)

1. GİRİŞ

Trabzon hurması (*Diospyros kaki* L.) Ebenaceae familyasının *Diospyros* cinsine ait, meyveleri yenilebilen çok yıllık bir subtropik iklim bitkisidir. Bu cins içerisinde dünyada en yaygın ve en fazla yetiştirilen tür olan *Diospyros kaki* dünya literatüründe genellikle Asya veya Japon hurması olarak bilinmektedir (Morton, 1987). *D. virginiana*, *D. digyna*, *D. lotus* ve *D. rhombifolia* ise ekonomik açıdan önemli diğer *Diospyros* türleridir (Rauf ve ark, 2017). Dünyanın farklı coğrafyalarında çeşitli şekillerde isimlendirilmiş olan bu bitkiye (Çizelge 1) Türkiye'nin farklı yörelerinde "Cennet Hurması", "Hurma", "Cennet Meyvesi", "Trabzon Hurması" ve "Cennet Elması" gibi farklı isimler verilmektedir (Özcan, 1994; Yönel ve ark., 2008; TÜİK, 2024).

Çizelge 1.1. Trabzon hurmasının (*Diospyros kaki* L.) farklı ülkelerin yerel dillerinde kullanılan isimleri (EPPO, 2024)

Dil	Yerel isim
Almanca	Dattelpflaumenbaum, Kakipflaumenbaum, Chinesischer
Arnavutça	Hurmë
Bulgarca	китайска хурма (kitaïska khurma), райска ябълка (raïska yabülka)
Çince	柿 (shì)
Flemenkçe	Japanse persimmon, Kaki
Fransızca	Figue caque, Kaki, Plaqueminier kaki
İngilizce	Chinese date plum, Chinese persimmon, Japanese persimmon, Persimmon, Kaki, Kaki plum
İspanyolca	Caqui, Kaki del Japón, Placa minera
İsveççe	Japansk persimon, Kakiplommon, Kinesisk persimon
İtalyanca	Cachi, Kaki, Loto del Giappone
Japonca	ビワ (biwa), カキ (kaki), カキノキ (kakinoki)
Katalanca	Caquier
Korece	감나무 (gamnamu)
Portekizce	Alperceiro-do-japão, Caqui, Diospireiro, Caqui-do-japão, Caquizeiro
Rusça	хурма восточная (khurma vostochnaya) хурма японская (khurma yaponskaya)
Türkçe	Trabzon hurması, Cennet hurması
Ukraynaca	хурма східна (khurma skhidna)

D. kaki'nin ticari olarak yetiştiriciliği yapılan çok sayıda çeşidi mevcut sahip olup bu türün taksonomik olarak sınıflandırılması Çizelge 1.2'deki gibidir.

Çizelge 1.2. *Diospyros kaki* L.'nin bitki taksonomisindeki yeri (EPPO, 2024)

Bilimsel Sınıflandırma	
Alem	Plantae
Şube	Magnoliophyta
Sınıf	Angiospermae
Takım	Ericales
Familya	Ebenaceae
Cins	Diospyros
Tür	<i>Diospyros kaki</i>

Trabzon hurması bitkisinin ana vatanının Çin olduğu bildirilmekle birlikte 5. ve 6. yüzyılda yazılmış olan Çin Belgeleri ve ülkedeki doğal yayılış alanları, bu bitkinin kökeni ile ilgili önemli bilgiler vermektedir (Yonemori ve ark., 2000; Özkan ve Can, 2013). Bitkinin Çin dışından dünyaya yayılması öncelikle bu bitkinin Çin'e yakın ülkeler olan Japonya, Kore ve diğer Uzakdoğu ülkelerine ulaşmasıyla, daha uzak yerlere ise 18-20 yy. arasında önceleri Avrupa ülkelerine daha sonra ise Amerika Kıtası'na ulaşmasıyla gerçekleşmiştir. Günümüzde ise çok sayıda ülkede ekonomik olarak bu bitkinin yetiştiriciliği yapılmaktadır (Wang ve ark., 1997; Yonemori ve ark., 2000; FAO, 2024). Türkiye'ye bu bitkinin hangi tarihte ulaştığı net olarak bilinmemekle beraber çok eski zamanlardan beri ülkemizde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Ülkemizde Akdeniz/Ege kıyı şeridi ve uygun iklim şartlarını sağlayan iç kesimlerinde başarılı şekilde yetiştiriciliği yapılan bu bitkiye sıklıkla “Trabzon hurması” denmesinin nedeni, bitkinin Anadolu'ya ilk defa Trabzon üzerinden yayılmasından dolayı olduğu düşünülmektedir (MEB, 2011; Anonim, 2021).

Taksonomik olmayan sınıflandırmaya göre bu bitki “fruit crops” yani meyveleri için yetiştirilen ürün grubunda yer almaktadır (EPPO, 2024). Bu sebeple ekonomik olarak üretilen ve çoğunlukla tüketilen kısımlar meyvelerdir. Meyveler genelde taze olarak tüketilmekle birlikte bazen işlenmiş şekillerde de değerlendirilmektedir. Yine kurutmaya uygun bazı çeşitlerin meyveleri kurutulmuş şekilde tüketilmektedir (Şekil 1).



Şekil 1.1. Adıyaman ilinde, (A) hasat edildikten sonra üreticiler tarafından kurutma işlemine tabi tutulan Trabzon hurması meyveleri. (B-C) Kurutma işlemi sonrası tüketime hazır meyveler

Meyveler; karbonhidrat, pektin, tanen, A, C ve E vitaminleri yönünden zengin olup insan sağlığı ve beslenmesinde önemli bir öneme sahiptir. Bitkinin yapraklarında da farklı vitamin, mineral, antioksidan ve flavanoidler bulunmaktadır. Yaprak ekstratları astragalin gibi anti-alerjik maddelere sahip olup tanen, α -amyrin, 19α -hydroxy ursolic asit, uvaol, ursolic asit ve $19\alpha,24$ -dihydroxy ursolic asit gibi triterpenoid bileşikler bitkinin yapraklardan izole edilen önemli fitokimyasallardır. Bitkinin yaprakları ayrıca bazı ülkelerde “yeşil çay” olarak değerlendirildiği gibi, uzak doğu ülkelerinde ünlü Japon yemeği sushinin bazı çeşitlerinin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bunların yanı sıra bitkinin boya endüstrisinde değişik amaçlarla kullanımı da mevcuttur (Özcan ve Özkaraman, 1994; Kang ve Ko, 1997, Kotani ve ark., 2000; Chen ve ark., 2002; Şeker ve Toplu, 2003; Hossain ve ark., 2018). Özellikle bitkinin insan sağlığı üzerine olan etkilerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar son yıllarda araştırmacıların ilgili olduğu konulardan biridir. Nitekim bitkinin kanser, viral/bakteriyel hastalıklar ve dış

ür klerinin  nlenmesine yönelik tıbbi uygulamalardaki potansiyeli, bu alanlarda yapılan çeşitli çalışmalarla bildirilmiştir (Yamada ve ark., 1999; Kawase ve ark., 2003; Suzuki ve ark., 2007; Jeong ve ark., 2009; Yamada ve ark., 2012; Ueda ve ark., 2013; Dhawefi ve ark, 2021).

Trabzon hurması bitkisi basit, geniş yaprak ve meyvelere sahiptir. Bitkiler genel olarak 13 m'ye kadar uzayabilir ve dünyada birçok farklı çeşidinin yetiştiriciliği söz konusudur. Türkiye ve dünyada çoğunlukla kültür çeşitlerinin yetiştiriciliği yapılmakla beraber (şekil 1.2, şekil 1.3, şekil 1.4)  lkemizin bazı yörelerinde ( zellikle Karadeniz bölgesi) yabani çeşitlerin yetiştiriciliği de mevcuttur (Anonim, 2021).



şekil 1.2. Adıyaman ilinde ekonomik olarak yaygın şekilde yetiştiriciliği yapılan “Hachiya” eşidi sağlıklı Trabzon hurması ağacı



Şekil 1.3. “Hachiya” çeşidinin farklı fenolojik dönemlerinde çekilmiş çiçek ve meyve görüntüleri



Şekil 1.4. Hasat zamanı farklı renklere bürünmüş bir Trabzon hurması ağacına ait çeşitli renkte yapraklar (sol) ve olgunlaşmış meyveler (sağ)

Yetiştiriciliği yapılan çeşitlerden bazıları buruk (kekre) olan ve sadece yeme olgunluğuna ulaştığında yenilebilen çeşitlerken henüz sertken ve yeme olgunluğuna gelmesi beklenmeden doğrudan tüketilebilen çeşitler de mevcuttur (Şekil 1.5) (MEB, 2011). Burukluk, meyvenin içerdiği fenolik bileşiklerden ileri gelmekte olup Hiratanenashi, Hachiya (Şekil 1.3) ve Saijo buruk olan, sadece olgunlaştığında meyveleri yenilebilen başlıca bilinen çeşitlerdendir. Fuyu, Jiro, Maekawa Jiro, Ichikikei Jiro, Suruga, İzu çeşitleri ise buruk olmayan ve meyve eti sertken dahi yenebilebilen çeşitlerdendir (MEB, 2011).



Şekil 1.5. Buruk olduğu halde çiçekleri tozlandığı için sertken bile yenilebilen bazı Trabzon hurması meyveleri

Dünya Trabzon hurması üretim verilerine bakıldığında meyve üretiminin son 10 yılda 4.5-5 milyon ton aralıklarında gerçekleştiği görülmektedir. İklim koşullarının elverişli olmasından ötürü çoğunlukla güneydoğu Asya ülkelerinde yetiştirilen meyve üretiminde Çin, uzun yıllardır lider ülke konumunda yer almaktadır (Çizelge 1.3). Diğer ülkelere kıyasla oldukça fazla miktarda üretime sahip olan Çin, dünya Trabzon hurması üretiminin kabaca %70-80'ini tek başına gerçekleştirmektedir. Dünya Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) nın verilerine göre 2022 yılında dünya genelinde 1.044.385 ha alanda

4.436.474 ton Trabzon hurması yetiştirilmiştir. Aynı yıl içerisinde Çin, 3.396.270 ton ile dünyanın lider Trabzon hurması üreticisi olurken, Güney Kore ve Japonya diğer büyük üreticiler olmuşlardır. Bu istatistiklere göre Çin dünya Trabzon hurması üretiminin yaklaşık 4/5'ini tek başına gerçekleştirmiş olup en fazla yetiştiriciliğin yapıldığı 3 ülke, dünya üretim payının %88'inden fazlasına sahip olmuşlardır. Yine dünyada başlıca Trabzon hurması üreticilerinden biri olan Türkiye'de ise 2022 yılında yaklaşık 5.950 ha alanda yaklaşık 100 bin ton üretim ile dünya toplam Trabzon hurması üretiminin %2.2'si gerçekleşmiştir (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Dünyada 2022 yılında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alanları ve üretim miktarları (FAO, 2024; TÜİK, 2024)

Sıra	Ülke	Üretim Alanı (hektar)	Üretim Miktarı (ton)
1	Çin	975.301	3.396.270
2	Güney Kore	21.760	231.523
3	Japonya	17.800	216.100
4	Azerbaycan	11.843	184.290
5	Brezilya	7.789	164.439
6	Türkiye*	5.949	97.560
7	Özbekistan	3.426	80.723
8	Tayvan	5.438	74.154
9	İran	1.978	30.471
10	İsrail	855	30.000
Toplam	Dünya	104.438	4.436.474

*: Türkiye için FAOSTAT veritabanında Trabzon hurması üretimi ile ilgili herhangi bir veri raporlanmamıştır. Bu nedenele TÜİK'in 2022 yılı üretim istatistikleri baz alınarak Türkiye'nin dünya sıralamasındaki yeri belirlenmeye çalışılmıştır.

Trabzon hurması yetiştiriciliği Türkiye'de uzun yıllardır yapılmasına karşın hem üretim ve hem de pazarlama açısından henüz istenilen seviyelere ulaşamamıştır. Ülkemizde 2023 yılında 50'nin üzerinde ilde Trabzon hurması yetiştiriciliğinin yapıldığı raporlanmasına karşın (TÜİK, 2024) yıllık üretim miktarı uzun yıllar sonra 100 bin ton sınırını aşabilmiştir (Anonim, 2021; TÜİK, 2024). Ülkemizde bu meyvenin üretiminin az olmasının olası nedenlerinin tanıtımının yeterince yapılamaması, iç tüketimin istenilen düzeyden az olması ve pazarlama sorunlarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekonomik getirisi göz önünde bulundurulmaksızın örneğin Karadeniz Bölgesi'nin bazı kesimlerde bu bitkinin süs ağacı olarak yetiştiriciliğinin yapılması ise meyvelerden yararlanmanın ikinci planda kalmasına neden olmaktadır (Anonim, 2021).

Tüm bunlara rağmen Türkiye’de Trabzon hurması yetiştiriciliğinin özellikle son yıllarda büyük bir ivme yakalağı söylenebilir. Nitekim üretim alan ve miktarlarına bakıldığında ülkemizde son 10 yılda ciddi bir artışın gerçekleştiğı söylenebilir. Öyle ki 2014 yılında 20.619 da alanda 33.470 ton olarak yetiştirilen bu bitkinin üretim alan ve miktarlarının son 10 yıl içinde hemen hemen 4 kat arttığı görülmektedir. Ayrıca yeni kurulan/kurulacak meyveliklerin de yıllar içinde verime geçmesi, dolayısıyla dekara verimin de yıllar itibarıyla artacak olması da, ülkemizi bu bitkinin üretimi açısından dünyada daha da önemli bir konuma getirecektir (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.4. Türkiye’de 2014-2023 yılları arasında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alan ve miktarları (TÜİK, 2024)

Yıl	Üretim Alanı (dekar)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (kg/meyve veren ağaç)
2014	20.619	33.470	38
2015	20.789	33.725	39
2016	23.024	34.650	40
2017	23.932	38.043	43
2018	28.201	46.676	45
2019	31.009	51.317	47
2020	40.400	60.661	49
2021	49.519	77.131	55
2022	59.491	97.560	59
2023	70.003	127.314	69

Türkiye’de Trabzon hurması üretimi başlıca Akdeniz ve Ege bölgelerinde yer alan Adana, Mersin ve İzmir gibi kıyı şehirlerimizde, ayrıca uygun iklim koşullarına sahip iç bölgelerdeki yerlerde gerçekleştirilmektedir. 2023 yılında Adana, 37.099 ton ile en fazla Trabzon hurması üretilen il olurken bunu sırasıyla 26.682 ve 14.045 ton ile Denizli ve Mersin illeri izlemiştir. Bu çalışmanın sörvey alanlarını oluşturan Adıyaman ili ise 2019 yılında 2. sırada yer aldığı bu listede 2023 yılı itibarıyla 4. olarak sıralanmaktadır. Bunların yanı sıra bu bitki için isim kaynağı olmuş Trabzon ilindeki üretim miktarının söz konusu öncü illerle kıyaslandığında oldukça düşük seviyelerde kaldığı görülmekte olup (ülke üretiminin sadece % 0.15’i) il genelinde 2023 yılında 195 ton Trabzon hurması üretimi gerçekleşmiştir (Çizelge 1.5).

Son yıllarda Adıyaman dışında diğer bazı illerde artan Trabzon hurması üretimi dolayısıyla 2019 yılında ikinci olan bu ilin Türkiye sıralaması 2023 yılına gelindiğinde 2

basamak gerilemiştir. Yine de Adıyaman ilinde 2019'dan bu yana üretim alan ve miktarı artış göstermiş olup 2023 yılında 5.567 da alanda üretmiş olduğu 8.318 ton Trabzon hurması üretimi ile Adıyaman ili Türkiye genelinde 4. sırada yer almıştır (Çizelge 1.5). Sonuç olarak il genelinde son yıllarda ciddi oranda Trabzon hurması yetiştiriciliğinin arttığı söylenebilir. Nitekim, Adıyaman genelinde 2023 yılında son 6 yılın en düşük verimi alınmış olmasına karşın 2014 yılına kıyasla ildeki üretim alanı yaklaşık 3.5 kat, üretim miktarı ise 6 katına çıkmıştır (Çizelge 1.6).

Çizelge 1.5. Türkiye’de 2023 yılında Trabzon hurması üretiminin gerçekleştiği başlıca iller (TÜİK, 2024)

Sıra	İl	Toplu Meyveliklerin Alanı (dekar)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (Kg/Meyve Veren Ağaç)
1	Adana	17.828	37.099	112
2	Denizli	10.064	26.682	83
3	Mersin	6.679	14.045	81
4	Adıyaman	5.567	8.318	69
5	Çanakkale	5.567	5.627	60
6	Yalova	2.450	5.104	70
7	Bursa	4.584	4.780	50
8	İzmir	550	4.610	50
9	Hatay	2.557	3.427	43
10	Kahramanmaraş	1.475	2.230	41
27	Trabzon	147	195	14
Toplam	Türkiye	70.003	127.314	69

Çizelge 1.6. Adıyaman ilinde 2014-2023 yılları arasında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alan ve miktarları (TÜİK, 2024)

Yıl	Üretim Alanı (dekar)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (Kg/Meyve Veren Ağaç)
2014	1.630	1.348	23
2015	1.633	1.438	23
2016	1.695	1.435	23
2017	1.975	2.991	47
2018	1.985	6.800	95
2019	2.115	7.873	100
2020	2.448	8.089	102
2021	4.060	9.107	107
2022	5.560	11.794	109
2023	5.567	8.318	69

Adıyaman ilinde Trabzon hurması üretiminin oldukça büyük bir kısmı Gölbaşı ilçesinde gerçekleşmektedir. Gerek ilçenin iklim koşullarının bu bitkinin yetiştiriciliğine elverişli olması gerekse üreticilerin bitkinin yetiştiriciliği konusunda tecrübeli olmalarından ötürü Trabzon hurması bahçelerinin yaklaşık %90'nı bu ilçede yer almaktadır. Üretim alanlarına paralel şekilde üretim miktarının çok büyük kısmı da yine bu ilçede gerçekleşmektedir (Şekil 1.6, Çizelge 1.7).

Çizelge 1.7. Adıyaman ilinde yer alan ilçelerde 2023 yılında gerçekleşen Trabzon hurması üretim istatistikleri (TÜİK, 2024)

İlçe	Ağaç Sayısı (adet)		Toplu Meyveliklerin Alanı (dekar)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (kg/meyve veren ağaç)
	Meyve veren	Meyve vermeyen			
Gölbaşı	98.300	45.750	5.000	6.881	70
Besni	8.205	4.825	420	739	90
Merkez	2.900	610	45	232	80
Çelikhan	3.280	100	10	164	50
Sincik	2.345	567	22	106	45
Kahta	1.760	330	20	97	55
Gerger	1.035	2.389	8	50	48
Tut	2.444	982	42	49	20
Adıyaman	120.269	55.553	5.567	8.318	69



Şekil 1.6. Adıyaman ilinde 2023 yılında gerçekleşen Trabzon hurması üretim alan ve miktarlarının ilçelere göre yüzde (%) dağılımı (TÜİK, 2023).

Bitkisel üretimde hastalık etmenlerinden kaynaklı kayıplar oldukça büyüktür. Tahminlere göre dünya çapında tarımsal üretimin %10-20'si bitki patojeni (fitopatojen) etmenlerinden ciddi şekillerde etkilenmekte olup, yaklaşık 800 milyon insanın yeterli ve sağlıklı gıdaya ulaşması bu etmenler tarafından engellenmektedir. Ayrıca bunların bitkilerde sebep olduğu hastalıklardan ötürü her yıl milyarlarca dolara eşdeğer ekonomik kayıplar meydana gelmektedir (Strange ve Scott, 2005). Nitekim farklı araştırmacılar tarafından bildirildiği üzere çok sayıda bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmeni ekonomik değeri yüksek çeşitli konukçu bitki türlerinde oldukça yıkıcı hastalıklara neden olabilmektedir. Özellikle bunlar arasında funguslar en yaygın ve üreticilerin belki de en aşina oldukları etmenler olup sebep oldukları çeşitli hastalıklar, çok eski zamanlardan beri insanların mücadele etmek zorunda kaldıkları sorunlardan olmuştur.

Keşfedilenlerin dışında çok sayıda fungus türünün daha mevcut olabileceği bilim camiası tarafından tahmin edilmekle birlikte günümüzde; türü, konukçusu ve epidemiyolojisi belirlenmiş birçok fitopatojen fungus mevcuttur. Bunlar konukçuları olan bitkilerin çeşitli kısımlarında genel olarak çürüklük, solgunluk, çökerten, külleme, nekroz, geriye doğru ölüm, yanıklık, ur oluşumu, mildiyö ve pas gibi hastalık belirtilerinden bir veya birden fazlasına neden olabildiklerinden dolayı bitkisel üretimdeki yerleri önemlidir. Bu bilgiler göz önünde bulundurulduğunda öncelikle fitopatojen fungusların doğru şekilde teşhislerinin yapılması, devamında ise uygun mücadele yöntemleri ile bunların kontrol altına alınmasının: gerek sürdürülebilir, sağlıklı ve kaliteli bir üretimin gerçekleşmesi, gerekse giderek artan gıda talebinin karşılanması adına oldukça önemli olduğu düşünülmektedir.

Diğer bitki türlerinde olduğu gibi Trabzon hurmasında da üretimi sınırlayan önemli faktörlerden birisi fungal etmenlerin neden oldukları çeşitli hastalıklardır. Gerek üretim aşamasında bitkinin çeşitli kısımlarında, gerekse hasat sonrası dönemde meyvelerde meydana gelen hastalıklardan ötürü bitkinin üretiminde ciddi verim ve kalite kayıpları meydana gelebilmektedir (Savary ve ark., 2019). Trabzon hurması ağaçlarının yetiştiricilik esnasında meyve, yaprak ve odunsu dokuları, hasat sonrası dönemde ise meyvelerinin çeşitli fitopatojen fungus türlerine hassas olduğu birçok çalışmada bildirilmiştir. *Alternaria alternata*, *Neoscytalidium novaehollandiae*, *Mycosphaerella nawae* ve *Fusicladium levieri* ülkemizde, *Colletotrichum* spp.,

Pestalotiopsis spp. ve bunlar dışında kalan birçok fungal türün daha dünya genelinde yapılan sörvey çalışmaları sonucunda Trabzon hurması ağacında patojen olduğu bildirilmiştir (Moyo ve ark., 2016; Alves ve ark., 2021; Evallo ve ark., 2022).

Alternaria, yetiştiricilik sırasında bitkileri etkileyebilen, ürünlerin üretim alanında ya da hasat sonrası dönemde depolarda çürümmesine neden olabilen hem bitki patojeni hem de saprofitik türleri içeren bir fungus cinsidir (Logrieco ve ark., 2009). *Alternaria* türleri yaklaşık 400 bitki türünde çeşitli hastalıklara neden olan etmenler olarak belirlenmiş olup (Meena ve ark., 2017) bu cinse ait 300'den fazla tür dünya çapında tanımlanmıştır (Lee ve ark., 2015). Sadece portakal (*Citrus sinensis*) ağaçlarında bile 22 patojenik türü mevcuttur (Simmons, 2007). Çok sayıda bitki türünde hastalık etmeni olarak rapor edilmiş olan, gerek hasat öncesi gerekse hasat sonrası dönemde ciddi ürün kayıplarına neden olan *Alternaria alternata*, bu cinse ait fitopatoloji açısından belki de en önemli türdür. Aynı zamanda önemli bir mikotoksin üreticisi olan bu türün meydana getirdiği hastalıklar, insan ve hayvan sağlığı açısından da risk teşkil etmektedir (Logrieco ve ark., 2009; Ghanei Ghooshkhaneh ve ark., 2022). *A. alternata*, bazı ülkelerde Trabzon hurması ağaçlarında patojen olarak rapor edilmiştir (Eshel ve ark., 2002; Kwon ve ark., 2004; Xiang ve ark., 2023). İspanya'da etmenin ülkenin yerli hurma çeşitleri olan Rojo Brillante ve Triumph çeşitlerinde hasat sonrası depolama aşamasında meyvelerde siyah lekelere ve çürümelere sebep olduğu farklı çalışmalarla bildirilmiştir (Palou ve ark., 2012; Palou ve ark., 2015). Ülkemizde ise hurmada ilk defa Kurt ve ark., (2010) tarafından, depolama aşamasında meyvelerde hasat sonrası çürümelere sebep olan patojen olarak rapor edilmiştir.

Neoscytalidium, 1500'den fazla türünün olabileceği tahmin edilen Botryosphaeriaceae familyasına ait bir fungus cinsidir (Crous ve ark., 2006; Kirk ve ark., 2008). Bu cinse ait fitopatogen türler genel olarak çok yıllık bitkilerin odunsu dokularında kanser ve geriye doğru ölüm hastalıklarına neden olurlar (von Arx, 1987). *Neoscytalidium dimidiatum*, bu cins içerisinde bulunan türler arasında dünya genelinde son yıllarda üzerinde en çok çalışılan funguslardan biridir. Aynı zamanda klinik açıdan insanlarda bir takım sağlık sorunlarına sebep olduğu da belirlenen bu fungus (deri ve tırnaklarda bazı enfeksiyonlar) özellikle bitki sağlığı açısından önemli zarar potansiyeli olan bir türdür (Alvarez ve ark., 2004; Elinav ve ark., 2009; Cursi ve ark., 2011; Raghavendra ve ark., 2015). Bu cinse ait diğer bir tür olan *Neoscytalidium*

novaehollandiae, benzer şekilde Türkiye ve diğer ülkelerde farklı bitkilerde patojen olarak rapor edilmiştir (Ahmadpour ve ark., 2023; Derviş ve ark., 2020). *N. novaehollandiae* dünya ve ülkemiz Trabzon hurması ağaçlarında hastalık etmeni olarak ilk defa Ören ve ark. (2020) tarafından bildirilmiştir. Patojenin Trabzon hurması ağaçlarının dallarında geriye doğru ölüm, erken meyve dökülmesi ve meyvelerde çürüme belirtilerine neden olduğu bu çalışma ile belirlenmiştir.

Colletotrichum, endofitik, epifitik, saprofitik ve fitopatojenik yaşam tarzlarına sahip türleri kapsayan bir fungus cinsidir. Günümüzde *Colletotrichum* olarak isimlendirilen bu cins ilk olarak Tode (1790) tarafından *Vermicularia* adıyla bildirilmiştir (Hyde ve ark., 2009). Dünya çapında önemli bir yere sahip olan bu cinse ait farklı türler ekonomik olarak önemli çok sayıda kültür bitkisi ve süs bitkisinde hastalıklara neden olurlar. Çok farklı türü Trabzon hurmasında da rapor edilmiş olan *Colletotrichum* türleri Trabzon hurmasında genel olarak konukçu bitkilerin meyvelerinde verim ve kalite kayıplarına neden olurlar. *Colletotrichum acutatum*'un ağaç üzerindeyken semptom gözlenmeyen ancak hasat sonrası koyu renkli lezyonlar şeklinde semptom gösteren meyve enfeksiyonlarına neden olduğu ve meyveler üzerinde başlangıçta küçük siyah lekeler devamında ise bu lekelerden bazılarının az çok birleşmesi şeklinde belirtiler oluşturduğu bildirilmiştir (Williamson ve Sutton 2010; Kwon ve ark., 2011). *Colletotrichum karstii*'nin ağaçların yapraklarında başlangıçta 2 ile 5 mm çapında, tipik antraknoz semptomlarından daha küçük dairesel veya oval görünümlü ve tüm yaprak yüzeyini kaplayacak şekilde hızla genişleyerek uygun sıcaklık ve yüksek nem değerlerinde yaprakların dökülmesine yol açan antraknoz semptomlarına neden olduğu, *Colletotrichum siamense* ve *Colletotrichum horii*'nin ise meyvelerde dairesel ve çökük koyu siyah noktalar şeklinde tipik antraknoz semptomları oluşturduğu rapor edilmiştir (Wang ve ark., 2016; Jeong ve ark., 2017; Chang ve ark., 2018). *Colletotrichum fructicola*, *C. nymphaeae*, ve *C. melonis* türleri ise sürgün, meyve ve çiçek örneklerinden yapılan izolasyonlar sonrasında hurmada antraknoza neden olan patojenler olarak bildirmiştir (Carraro ve ark., 2019).

Pestalotiopsis cinsine giren farklı türler birçok bitkide hastalık etmeni olarak rapor edilmiştir. Son yıllarda bitki patojeni dışında kimyasal çeşitli metabolitler ürettiği saptanan türleri barındırması bakımından da araştırmacılar tarafından ilgi görmüştür (Maharachchikumbura ve ark., 2011). Bu cinse ait birçok türün Trabzon hurması

ağaçlarında da patojen olduğu bilirlmiştir. Nitekim; Tuset ve ark. (1999), İspanya'nın güneybatısındaki Huelva bölgesinde yaptıkları çalışmada Trabzon hurması yapraklarda grimsi kahverengi yuvarlak ve halkalı lekeler şeklinde yanıklıklara *Pestalotiopsis theae* (Saw.) Stey. isimli fungal etmenin neden olduğunu tespit etmişlerdir. Etmenin sörvey yapılan bahçelerde %18 ile %20 oranında gözleendiği ve Avrupa'daki Trabzon hurması alanlarında patojen olarak ilkez bu çalışmada rapor edildiği belirtilmiştir. Yasuda ve ark. (2003), *Pestalotiopsis longiseta*, *P. glandicola*, *P. acaciae* ve *P. crassiuscula*'nın Japonya'da yaygın olarak görülen yaprak lekeli hastalığına neden olduğunu ve bunların bitkilerin genel olarak yapraklarında ve genç meyvelerin kalikslerinde halka şeklinde lekeler, şiddetli enfeksiyonlarda ise yaprak alanının yarısından fazlasında lezyonlar oluşmasına ve bunun sonucu olarak erken yaprak dökülmesine neden olan etmenler olduğunu bildirmişlerdir. Blanco ve ark. (2008), *Pestalotiopsis dyospiri* Sidow et P. Sidow'in meyvelerde kahverenginden siyaha kadar nekrotik lekelerle neden olan fungal etmen olduğunu rapor etmişlerdir.

Meyvelerin hızlı bir şekilde yumuşamasına neden olan *Cladosporium cladosporioides* (Kwon ve ark., 2003), yapraklarda dairesel nekrotik lekelerle ve yaprak dökülmelerine yol açan *Mycosphaerella nawae* (Bebegal ve ark., 2010), meyvelerde çürümelerle neden olan *Phacidiopycnis washingtonensis* (Garibaldi ve ark., 2010), ağaçlarda sürgün yanıklığı belirtileri oluşturan *Diaporthe neotheicola* (Golzar ve ark., 2012), şiddetli yaprak lekeli ve yaprak dökülmelerine neden olan *Adiscio kaki* (Yamamoto ve ark., 2012), ağaçların dal ve yapraklarında sararma, yaprak dökülmesi, geriye doğru ölüm, küçük klorotik yapraklar, gövdede merkezi kahverengi nekroz ve kahverengi-siyah çizgiler şeklindeki çeşitli simptomlara neden olan *Eutypella vitis* (Jabbari Firoozjah ve ark., 2015), ağaçlarda geriye doğru ölüm ve kanser belirtilerine neden olan *Diaporthe eres*, *D. infecunda*, *Eutypella citricola*, *E. microtheca*, *Phaeoacremonium parasiticum*, *P. scolyti*, *P. australiense*, *P. minimum*, *Fomitiporia capensis*, *Fonziporella* sp. ve *Inocutis* sp. (Moyo ve ark., 2016), meyvelerde düzensiz kahverengi renkli yumuşak lezyonlara neden olan *Lasiodiplodia pseudotheobromae* (Nogueira ve ark., 2017), meyvelerin çürümesine ve enfekteli meyvelerin açık sarı miselyum tabakasıyla kaplanarak ağaçtan kolayca düşmesine neden olan *Mucor inaequisporus* (Lee ve Jung, 2020), meyvelerde ilk belirtiler olarak çapları 2-4 cm olan düzensiz kahverengi-siyah lekeler oluşturan ve lekelerin etrafındaki alanların

yumuşamasına ve çürümesine sebep olan *Neopestalotiopsis saprophytica* ve *N. ellipsospora* (Qin ve ark., 2023), genç meyvelerin uç kısımlarında "yıldız benzeri" belirtiler oluşturan ve meyvelerin pazar değerlerini düşüren *Botrytis cinerea* (Perets ve ark., 2023), enfekteli yaprakların üst yüzeylerinde seyrek olarak açık kahverengi lekelerin oluşmasına neden olan ve bu lekelerin daha sonra sarı bir hale ile çevrili kahverengi dairesel düzensiz lezyonlara dönüştüren *Fusarium kyushuense* (Jiang ve ark., 2024) dünyada Trabzon hurması üretim alanlarında rapor edilmiş diğer fungal hastalık etmenleridir. Bu patojenler konukçu ağaçların çeşitli kısımlarında oluşturdukları hastalıklardan kaynaklı olarak ürünün verim ve kalitesinde kayıplarına neden olmaktadır.

Bitkisel üretimde fungal etmelerin mücadelesi amacıyla başvurulmuş başlıca yöntem genellikle çeşitli sentetik pestisitlerin kullanımından ileri gelen kimyasal mücadeledir. Bu kimyasallar hızlı etkileri, çok sayıda patojeni kontrol edebilmeleri ve uygulama kolaylıkları nedeniyle uzun yıllardır insanlar tarafından etkili yöntemler olarak kabul edilmektedirler. Ancak kullanılan bu kimyasalların insan, hayvan ve çevre sağlığına ciddi zararlar vermesi, kontrolsüz kullanımlarının ekosistemlerin tahrip olmasına neden olması ve mücadele edilen patojenlerin zaman içerisinde bu kimyasallara dayanıklılık geliştirmesinden ötürü günümüzde patojenlerle mücadelede kimyasal kullanımına alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılması önem kazanmış ve bu doğrultuda çeşitli konular üzerine araştırmalar yapılmıştır (Aktar ve ark., 2009; Choudhary ve Johri, 2009; Naher ve ark., 2014; Sonker ve ark., 2014; Ramdial ve ark., 2017; Singh ve ark., 2020; Souto ve ark., 2021; Atay ve Soylu, 2023).

Bitkilerde hastalık oluşumuna neden olan mikroorganizmalar ile mücadelede kimyasal pestisitler dışında kullanılabilen farklı yöntemler (karantina tedbirleri, kültürel önlemler, fiziksel mücadele, entegre mücadele) mevcut olup kimyasallara alternatif olarak başvurulmuş yöntemlerden birisi de bu patojenlere karşı faydalı fungal, bakteriyel ve viral (bakterifaj) mikrobiomların kullanıldığı “**Biyolojik Mücadele**” yöntemidir (Tjamos ve ark., 2010). Biyolojik mücadele özetle; konukçu bitkilerde herhangi bir şekilde hastalık oluşturmeyen ve doğada farklı türlerdeki bitkilerin civarlarında ve/veya üzerinde doğal olarak bulunan mikrobiomların (bakteri, fungus ve virüsler) farklı tipte formülasyon ve uygulama yöntemi olarak kullanıldığı ve

patojenlerin bitkide neden oldukları hastalıkların zarar düzeylerini en düşük seviyeye indirme stratejisi olarak tarif edilebilir.

Bakteriler, biyolojik mücadelede kapsamında kullanılan yaygın mikrobiomlardandır. Bu amaçla kullanılan birçok faydalı bakteri türü bitki dokuları içerisinde veya yüzeyinde mevcut olup bulundukları yere göre endofit ve epifit bakteri olarak isimlendirilmektedirler. Bitkilerin iç dokularında yaşayan ve yüzey dezenfeksiyonu yapılan bitkilerin iç dokulardan izole edilebilen, ayrıca uygulandıkları bitkilerde herhangi bir hastalık belirtisine sebep olmayan bakterilere “Endofit Bakteri” adı verilmektedir. Endofit bakteriler monokotiledon ve dikotiledon bitki gruplarında yer alan çok sayıda bitki türünde yaşayabilen ve yaşadıkları bitkilerin kök, sürgün, tohum, çiçek, meyve veya yapraklarından izole edilebilen bakterilerdir. Son yıllarda dünyada endofit bakterilerin biyolojik mücadele etmeni olarak hastalık etmenlerine karşı etkilerinin araştırıldığı çalışmalar hız kazanmış olup bunların patojenlere karşı çeşitli biyokontrol mekanizmalarını (antibiyosis, uyarılmış dayanıklılık ve çapraz koruma, yarışma, hipovirülenslik, hiperparazitizm) kullanarak bitki savunması ve gelişimine olumlu yönde etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Hallmann ve ark., 1997; Schulz ve Boyle, 2006; Heydari ve Pessarakli, 2010; Özaktan ve ark., 2010; Soylu ve ark., 2016; Atay ve ark., 2020; Lan ve ark., 2024).

Endofit bakteriler gibi uygulandıkları bitkilerde herhangi bir zarar meydana getirmeyen ancak bitkilerin yüzeyinden elde edilen bakterilere ise “Epifit Bakteri” adı verilir. Bu bakterilerin de biyokontrol etmen olarak etkilerinin araştırıldığı çalışmalar giderek hız kazanmaktadır. Bunlar özellikle uyarılmış sistemik dayanıklılığı sağlaması suretiyle uygulandıkları bitkilere fayda sağlamakla birlikte (Halfeld-Vieira ve ark., 2006) yapılan bazı çalışmalarda bu bakterilerin bitki büyümesini geliştirici ve antagonist etkilerinin diğer bakterilere kıyasla (endofit ve rizobakteriler) tam olarak saptanmadığı bildirmiştir (Lindow ve ark., 2003; Halfeld-Vieira ve ark., 2008). Çeşitli fitopatojen fungus türlerine karşı çok sayıda bakteri türünün antagonistik etkileri belirlenmiş olmakla birlikte özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait bazı türlerin, dünya ve ülkemizde üzerlerinde en çok durulan biyolojik mücadele etmenleri oldukları yapılmış birçok çalışmada bildirilmiştir (Sid ve ark., 2003; Hou ve ark., 2006; Abdullah ve ark., 2008).

Bakterilerin izole edildikleri bitki kısımlarına (kök, sürgün, yaprak ve çiçek gibi) bakılmaksızın bitkilerde oluşabilecek hastalık çıkışını engellemede “doğrudan” veya “dolaylı” olarak etkide bulunabildikleri bildirilmiştir (Arora ve ark., 2012; Bhardwaj ve ark., 2014; Gupta ve ark., 2015). Biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılan epifit veya endofit bakteriler hastalık çıkışını “dolaylı” engellemede; (1) azot fiksasyonu, (2) siderofor üretimi, (3) çözünemeyen veya bitkinin alabileceği formlarda olmayan bitki besin maddelerinin (besin elementlerinin) bitkinin alabileceği formlara dönüştürülmesi (mineralizasyonu), (4) karbon kaynağı açısından rekabet ve (5) bitkisel hormonların teşvik edilmesi gibi farklı etki mekanizmalarını kullanmaktadırlar. Bu bakterilerin hastalık gelişimini “doğrudan” engellemede ise; bakteri türleri tarafından üretilen (1) hidrojen siyanür (HCN), (2) amonyak (NH₃), (3) uçucu antimikrobiyal etkili bileşikler, (4) siderofor, (5) hücre duvarını yıkan litik enzimler (glukanaz, kitinaz, proteaz vb) ve (6) bitkilerde hastalık etmenlerine karşı dayanıklılığın teşvik edilmesi gibi farklı etki mekanizmalarını kullanarak gerçekleştirdikleri bildirilmiştir (Leong, 1986; Fravel, 1988; Weller, 1988; Wei ve ark., 1996; Lugtenberg ve Kamilova, 2009).

Fitopatojen funguslarla mücadelede kullanılan fungusitler insanlara, doğaya ve hedef dışı organizmalara olumsuz etkilerde bulunmakta, bunların uzun süre yüksek dozlarda ve bilinçsizce kullanımı sonucunda hastalık etmenlerinin zaman içerisinde kullanılan bu kimyasallara direnç geliştirme potansiyeli meydana gelmektedir. Sonuçta, bitkilerde hastalık oluşturan bu etmenlerle mücadelede yenilikçi, çevre dostu, doğaya dost ve etki süresi uzun mücadele yöntemlerinin araştırılması ve geliştirilmesi zorunluluğu ortaya çıkmaktadır.

Yapılan literatür taramalarında Türkiye’deki Trabzon hurması üretim alanlarında verim ve kalite kayıplarına neden olan fungal hastalık etmenlerinin tespiti ve bunların mücadeleleri ile ilgili oldukça sınırlı çalışmaların olduğu görülmüştür. Bu doğrultuda çok amaçlı bu çalışmada; (i) ülkemizin önemli miktarda Trabzon hurması üretiminin yapıldığı Adıyaman ili Trabzon hurması üretim alanlarında sorun olan fungal hastalık etmenlerinin sörveyi, tanılanması, bölgedeki yaygınlığının belirlenmesi, (ii) bölgede en yaygın görülen hastalık etmeni olarak belirlenen *Alternaria alternata*’ya karşı hastalığın görüldüğü bahçelerdeki sağlıklı Trabzon hurması bitkilerinin kök, sürgün, yaprak ve meyve gibi farklı organlarındaki biyolojik mücadele etmeni (BCA) bakteriyel izolatların izolasyonu, (iii) BCA bakteriyel izolatların tanılanması, (iv) *A. alternata* hastalık

etmenine karşı *in vitro* ve *in vivo* antifungal etkinlikleri ve (v) BCA bakteriyel izolatların hastalığı engellemede ve bitki gelişimini teşvik etmede rol oynayan olası etki mekanizmalarının belirlenmesi konuları araştırılmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Dünya’da Trabzon Hurması Ağaçlarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Trabzon hurması (*Diospyros kaki* L.) üretim alanlarında dünyanın farklı coğrafyalarında, çeşitli zaman dilimlerinde yapılmış çalışmalarla bazı fungal etmenlerin Trabzon hurmasının farklı bitki kısımlarında patojen oldukları bildirilmiştir. Sorun olan fungal etmenlerin tespit edilmesine yönelik yapılan bu çalışmalarda;

Tuset ve ark. (1999), İspanya’nın güneybatısındaki Huelva bölgesinde yaptıkları çalışmada Trabzon hurması yapraklarında grimsi kahverengi yuvarlak ve halkalı lekeler şeklinde yanıklıklara *Pestalotiopsis theae* (Saw.) Stey. isimli fungus türünün neden olduğunu tespit etmişlerdir. Etmen, sörvey yapılan bahçelerde %18 ile %20 oranında gözlenmiş olup Avrupa’daki Trabzon hurması alanlarında patojen olarak ilk kez bu çalışmada rapor edilmiştir. *P. theae*’nin İspanya’ya girişinin muhtemelen ithal edilen fidanlar aracılığıyla gerçekleştiği ve olağandışı iklim koşullarının (özellikle ülkenin güneybatısında 1997 yılında yaşanan şiddetli yağışlar) hastalık gelişimini arttırdığı bildirilmiştir.

Kwon ve ark. (2003), Güney Kore’nin Gyeongnam kentinde tarım ürünleri toptan satışı yapan bir pazardan edindikleri hurma meyvelerinde fungal hif gelişimleri gözlemlemişlerdir. Bu belirtilerin genellikle meyvelerin yüzeyinde oluşan yaralardan ve meyveler üzerindeki yara izleri şeklinde yerlerden geliştiği görülmüş olup hastalıklı meyvelerin hızlı bir şekilde yumuşadığı belirlenmiştir. Yapılan izolasyon ve tanılama çalışmaları sonucunda etmenin PDA ortamı üzerinde koyu yeşil renkte koloniler oluşturan *Cladosporium cladosporioides* olduğu bildirilmiştir.

Yasuda ve ark. (2003), Japonya’nın Tottori Eyaletindeki hurma bahçelerinde yaygın olarak görülen yaprak lekesi hastalığına farklı *Pestalotiopsis* türlerinin neden olduğunu belirlemişlerdir. Konukçu bitkilerin genel olarak yapraklarında ve genç meyvelerin kalikslerinde halka şeklinde lekeler, şiddetli enfeksiyonlarda ise yaprak alanının yarısından fazlasında lezyonlar oluşmasına ve bunun sonucu olarak erken yaprak dökülmesine neden olan etmenlerin *Pestalotiopsis longiseta*, *P. glandicola*, *P. acaciae* ve *P. crassiuscula* olduğunu bildirmişlerdir.

Blanco ve ark. (2008), İspanya'nın Huelva bölgesinde yürüttükleri çalışmada, Trabzon hurması meyvelerinde kahverenginden siyaha kadar nekrotik lekelere neden olan fungal etmenin *Pestalotiopsis dyospiri* Sydow et P. Sydow olduğunu rapor etmişlerdir.

Berbegal ve ark. (2010), İspanya'nın Valencia bölgesinde bulunan Trabzon hurması bahçelerinde yaptıkları çalışmada yapraklarda dairesel nekrotik lekelere ve yaprak dökülmelerine yol açan etmenin *Mycosphaerella nawae* isimli fungus olduğunu tespit etmişlerdir. Hastalıklı bitkilerde yapılan gözlemlerde ayrıca meyvelerin zamanından önce olgunlaştığı ve yaprakların erkenden döküldüğü de tespit edilmiş olup bu durum patojenin ağaçları erken dönemde enfekte etmesi ile ilişkilendirilmiştir.

Garibaldi ve ark. (2010), Avrupa'nın önemli Trabzon hurması üreticisi ülkelerinden biri olan İtalya'da yapmış oldukları çalışmada meyvelerde çürümelere sebep olan *Phacidiopycnis washingtonensis* isimli fungal etmeni izole etmişlerdir. Torino Eyaleti'nde 5-15°C arasındaki sıcaklıklarda depolanan meyvelerin %3'ünde gözlenen bu çürümelerin meyve yüzeyinde eliptik şekilde, sert yapıda ve açık kahverengiden koyu zeytin yeşili arasında olduğu, etrafının ise yumuşak bir kenarla çevrelendiği belirtilmiştir. Çürük alanların iç kısımlarının ise kahverengileştiği ve çürümüş doku üzerinde kısmen içeri gömülü halde, çapı 0,5 mm'ye kadar olan siyah piknidyum yapılarının gözlemlendiği bildirilmiştir.

Williamson ve Sutton (2010), Amerika Birleşik Devletleri'nde yürüttükleri çalışmada ağaç üzerindeyken symptom gözlenmeyen ancak hasat sonrası koyu renkli lezyonlar şeklinde belirti gösteren Trabzon hurması meyvelerinden yaptıkları izolasyonlarda *Colletotrichum acutatum*'a ait fungal izolatı elde etmişlerdir.

Kwon ve ark. (2011), Güney Kore'nin Changwon bölgesinde bir üretici bahçesinde, üzerinde başlangıçta küçük siyah lekeler oluşan devamında ise bu lekelerden bazılarının az çok birleşmesi şeklinde belirtiler oluşmuş meyveler tespit etmişlerdir. Bu tür meyvelerden yapılan izolasyonlardan gelişen izolatların mikolojik özellikleri, moleküler sonuçları ve konukçu bitkide gerçekleştirilen patojenite testleri göz önüne alındığında etmenin *Colletotrichum acutatum* olduğu bildirilmiştir.

Golzar ve ark. (2012), Avusturalya'nın güney batısındaki Trabzon hurması üretim alanlarında sürgün yanıklığı belirtileri oluşan ağaçlardan yaptıkları hastalık

izolasyonları sonrasında hastalık etmeni olarak *Diaporthe neotheicola*'yı izole etmişlerdir. Bu çalışmayla etmenin Avustralya ve dünyada ilk kayıt olduğu bildirilmiştir.

Palou ve ark. (2012), İspanya'da hasat sonrası hurma üretiminde ekonomik kayıpların nedenlerinin belirlenmesi adına ülkenin yerli hurma çeşitleri olan Rojo Brillante ve Triumph çeşitlerinde çalışmalar yürütmüşlerdir. Valencia bölgesindeki ticari paketleme tesislerinde yapılan sürveylerde, hasat sonrası depolama aşamasında meyvelerde siyah lekeler ve çürümelere sebep olan etmen olarak *Alternaria alternata*'yı izole etmişlerdir.

Yamamoto ve ark. (2012), Japonya'nın Shimane eyaletinde hurmalarda şiddetli yaprak lekesi ve yaprak dökülmelerine neden olan belirtiler gözlemişlerdir. Yaprak lekelerinde gelişen askosporlardan funguslar izole edilmiş ve elde edilen izolatlarla yapılan patojenisite testleri sonrası yapraklar üzerinde oluşan belirtilerin hastalığın elde edildiği yaprak belirtileriyle benzer olduğu görülmüştür. Morfolojik ve moleküler analizlere dayanarak yapılan tanılamalarla etmenin hurmada yeni bir patojen olduğu belirlenen *Adiscio kaki* olduğu rapor edilmiştir.

Jabbari Firoozjah ve ark. (2015), İran için önemli bir meyve ağacı olan hurmadaki verim kayıplarına neden olan etmenlerin tespiti adına Babol'daki (İran'ın kuzeyindeki Mazandaran Eyaleti) hurma üretim alanlarında saha araştırması gerçekleştirmişlerdir. Sürvey yapılan ağaçların %52.8'inde hastalık belirtileri gözlemlenmiş olup sararma, yaprak dökülmesi, geriye doğru ölüm, küçük klorotik yapraklar, gövdede merkezi kahverengi nekroz ve kahverengi-siyah çizgiler şeklindeki çeşitli belirtileri gösteren Trabzon hurması dal ve yapraklarından örnekler toplamışlardır. Bu örneklerden yapılan izolasyon ve tanılama çalışmaları sonrası etmenin *Eutypella vitis* olduğu bildirilmiştir.

Palou ve ark. (2015), yapmış oldukları bir çalışmada İspanya'daki en önemli Trabzon hurması çeşidi olan 'Rojo Brillante' meyvelerinde hasat sonrası hastalıkların görülme sıklığı ve etiyolojisini yerel koşullar altında belirlemişlerdir. Yaygın izolatlar makroskopik ve mikroskopik morfoloji ve/veya DNA amplifikasyonu ve sekanslama ile tanımlanmıştır. Bahçelerden alınan meyveler yaralandıktan sonra doğal hastalık çıkışı için depolanmıştır. İnkübasyon sonucunda yaralanan meyvelerde en sık görülen hastalık, *Alternaria alternata*'nın neden olduğu Alternaria kara lekesi olmuştur. Meyvelerde bu hastalık dışında çoğunlukla gövde ucu çürüklükleri olmak üzere gizli enfeksiyonlara neden olan *Botrytis cinerea*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Neofusicoccum*

spp., *Pestalotiopsis clavispora* ve *Colletotrichum gloeosporioides* etmenleri de tespit edilmiştir. *Penicillium expansum* ve çok daha az oranda *Cladosporium cladosporioides* yara enfeksiyonlarına neden olan diğer patojenler olarak belirlenmiştir. Bu iki fungusun yanı sıra *A. alternata* ve *B. cinerea* ise soğukta depolanan meyvelerden izole edilmiştir.

Moyo ve ark. (2016), Güney Afrika'da Trabzon hurması üretim alanlarında geriye doğru ölüm ve kanser belirtileri gözlenen ağaçlardan izolasyonlar yapmışlardır. Araştırmacılar, hastalıklı ağaçların dal, kanser ve budama yaralarından yapılan izolasyon çalışmaları sonrası *Diaporthe eres*, *D. infecunda*, *Eutypella citricola*, *E. microtheca*, *Phaeoacremonium parasiticum*, *P. scolyti*, *P. australiense*, *P. minimum*, *Fomitiporia capensis*, *Fonziporella* sp. ve *Inocutis* sp. fungal etmenlerini tanılamışlardır.

Wang ve ark. (2016), Çin'in Guangxi eyaletinde bulunan bir meyve bahçesindeki bir hurma ağacının yapraklarında başlangıçta 2 ile 5 mm çapında tipik antraknoz belirtilerinden daha küçük dairesel veya oval görünümlü ve tüm yaprak yüzeyini kaplayacak şekilde hızla genişleyerek uygun sıcaklık ve yüksek nem değerlerinde ağacın yapraklarının dökülmesine yol açan antraknoz belirtilerini gözlemlemişlerdir. Bu şekildeki örneklerden yapılan izolasyonlar sonucunda hastalık etmeni olarak *Colletotrichum karstii*'yi rapor etmişlerdir.

Jeong ve ark. (2017), Güney Kore'de bir hurma bahçesinde, dairesel ve çökük koyu siyah noktalar şeklinde tipik antraknoz belirtileri gösteren hastalıklı meyvelerden yaptıkları izolasyonlar sonrası antraknoz etmenlerinden *Colletotrichum horii*'yi izole etmişlerdir.

Nogueira ve ark. (2017), Brezilya Sao Paulo'da bulunan bir hurma deneme bahçesinden toplanan ve meyvelerde düzensiz kahverengi renkli yumuşak lezyonlara neden olan hastalık etmeni olarak *Lasiodiplodia pseudotheobromae*'yi rapor etmişlerdir.

Chang ve ark. (2018), Güney Kore'nin kuzeyindeki Gyeongsang eyaletinin Cheongdo-gun bölgesindeki bir meyve bahçesinden antraknoz hastalığı belirtileri gösteren Trabzon hurması meyvelerini toplamışlardır. Nekrotik lezyonlardan yapılan izolasyonlar sonrasında hastalık etmeni olarak antraknoz etmenlerinden biri olan *Colletotrichum siamense*'i bildirmişlerdir. Bu çalışmayla etmenin Güney Kore'de hurmada ilk kayıt olduğu rapor edilmiştir.

Carraro ve ark. (2019), Brezilya'nın Sao Paulo ve Parana eyaletlerinde yapmış oldukları çalışmada birkaç ticari hurma bahçesinden hastalık belirtileri gösteren sürgün,

meyve ve çiçek örnekleri toplamışlardır. Yaptıkları izolasyonlar sonrasında hurmada antraknoza neden olan patojenler olarak *Colletotrichum fructicola*, *C. nymphaeae*, ve *C. melonis* etmenlerini bildirmişlerdir.

Lee ve Jung (2020), Güney Kore'deki iki farklı hurma bahçesinde, ilk belirtileri çanak yapraklarının koyu kahverengi-siyah renkte olduğu ve sonrasında çürümelerin meydana geldiği meyve belirtileri gözlemlemişlerdir. Ayrıca şiddetli şekilde hastalanan meyvelerin açık sarı miselyum tabakasıyla kaplandığı ve ağaçtan kolayca düştükleri görülmüştür. Yapılan izolasyon, patojenisite ve morfolojik/moleküler tanılama işlemleri sonrası meyvelerde bu tür belirtilere neden olan etmenin *Mucor inaequisporus* olduğu bildirilmiştir.

Qin ve ark. (2023), Çin'in Guangxi eyaletine bağlı Guilin kentindeki hurma üretim alanlarında yaptıkları çalışmada, sörvey yapılan bahçelerindeki meyvelerin yaklaşık %10'unda çürümeler meydana geldiğini belirlemişlerdir. Bu tür meyvelerde ilk belirtilerin çapları 2 ile 4 cm olan düzensiz kahverengi-siyah lekeler olduğu ve lekelerin etrafındaki alanların yumuşak ve çürümüş şekilde oldukları gözlenmiştir. Bu meyvelerden yapılan izolasyon çalışmaları sonrası morfolojik özellikleri *Neopestalotiopsis* spp.'ye benzeyen izolatlar elde edilmiştir. Sağlıklı meyvelerde yapılan patojenisite testleri ve gerçekleştirilen moleküler tanılama yöntemleri sonrası hurma meyvelerinde patojen olarak tespit edilen bu izolatların *Neopestalotiopsis saprophytica* ve *Neopestalotiopsis ellipsospora* türlerine ait olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgular ile bu etmenlerin hurmada meyvelerinde çürümeye neden oldukları bu çalışmada rapor edilmiştir.

Perets ve ark. (2023), İsrail'de yürüttükleri çalışmada, Akdeniz kıyısındaki meyve plantasyonlarında bulunan farklı hurma çeşitlerinde, bazı genç meyvelerin uç kısımlarında "yıldız benzeri" belirtiler gözlemlemişlerdir. Bahçedeki meyvelerin yaklaşık %50'sini etkileyebilen bu lezyonlar fiziksel zarara neden olup meyvelerin pazar değerlerini düşürmüştür. Yapılan çeşitli analiz, patojenisite ve tanılama işlemleri sonrası hurma meyvelerinde bu tür belirtilere neden olan etmenin *Botrytis cinerea* olduğu rapor edilmiştir.

Jiang ve ark. (2024), 2023 yazında Çin'in Guangxi eyaletine bağlı Gongcheng şehrinde bulunan ticari bir meyve bahçesindeki hurma ağaçlarının %20 ile %30'unu etkileyen yaprak lekeleri gözlemlemişlerdir. Başlangıçta enfekteli yaprakların üst

yüzeylerinde seyrek olarak açık kahverengi lekelerin olduğu ve bu lekelerin daha sonra sarı bir hale ile çevrili kahverengi dairesel düzensiz lezyonlara dönüştüğü belirtilmiştir. Bu tür belirtilere neden olan patojeni belirlemek amacıyla yapılan izolasyon, morfolojik/moleküler analizler ve patojenisite çalışmaları sonrası etmenin *Fusarium kyushuense* olduğu rapor edilmiştir. Bu fungusun daha önce mısır, pirinç ve tütün gibi farklı bitki türlerinde hastalık etmeni olarak bildirilmesine karşın hurmada patojen olarak tespitinin ilk kez bu çalışmayla ortaya çıkarıldığı bildirilmiştir.

2.2. Türkiye’de Yetiştirilen Trabzon Hurması Ağaçlarında Görülen Fungal Hastalıklar Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Yapılan literatür taramalarına göre Trabzon hurması üretim alanlarındaki fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik yürütülen çalışmaların dünyaya kıyasla Türkiye’de oldukça kısıtlı sayıda olduğu görülmüştür. Bu alanda yapılmış 4 farklı araştırma sonucunda;

Derviş ve ark. (2010), Hatay ilinde yaptıkları çalışmada, Trabzon hurması yapraklarının yüzeyinde sarımsı bir hale ile çevrili dairesel kahverengi lekelerle neden olan etmenin *Fusicladium levieri* olduğunu belirlemişlerdir.

Kurt ve ark. (2010), Türkiye’nin önemli Trabzon hurması üretim alanlarının yer aldığı Hatay ilinde yapmış oldukları başka bir çalışmada, depolama aşamasında hurma meyvelerinde hasat sonrası çürümelere sebep olan patojen olarak *Alternaria alternata*’yı rapor etmişlerdir.

Ören ve ark. (2020), Adıyaman ilinde Trabzon hurması bahçelerinde yaptıkları çalışmada, konukçu bitkilerin dallarında geriye doğru ölüm, gövde kanseri, erken meyve dökülmesi ve meyvelerde çürüme belirtilerine neden olan etmenin *Neoscytalidium novaehollandiae* olduğunu bildirmişlerdir.

Toker Demiray ve Akçalı (2021), Trabzon hurmasında sorun olan fungal hastalık etmenlerini belirlemek amacıyla ülkemizin Doğu Akdeniz Bölgesinde (Adana, Mersin, Hatay, Kahramanmaraş ve Osmaniye illeri) 2011 yılının Mart-Temmuz ayları arasında sörvey çalışmaları gerçekleştirmişlerdir. Trabzon hurmasında yapraklar üzerinde önceleri yuvarlak nekrotik lekeler ve kloroza neden olan daha sonra ise yapraklarda dökülmelere neden olan yaprak leke hastalığı etmeni olarak *Mycosphaerella nawae*’yi

bildirmişlerdir. Yaptıkları çalışma ile Adana, Mersin, Hatay ve Osmaniye illerinde yer alan Trabzon hurması bahçelerinde en sık rastlanan fungal hastalık etmenlerinin *Alternaria* sp. ve *Mycosphaerella nawae* olduğunu rapor etmişlerdir.

Kara ve ark. (2021), Hatay ilinde yaptıkları çalışmada Trabzon hurması meyvelerinde hastalık etmeni olarak *Botrytis cinerea*'yı bildirmişlerdir.

2.3. Fungal Etmenlere Karşı Bakterilerle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması Üzerine Yapılan Çalışmalar

Biyolojik mücadele, bitkilerde hastalık oluşturan patojenlerle mücadelede kimyasallara alternatif olarak başvurulacak yöntemlerden bir tanesidir (Tjamos ve ark., 2010). Yapılan literatür araştırmalarına göre, dünyanın farklı ülkelerinde Trabzon hurması ağaçlarında sorun olan fungal hastalık etmenleri ile mücadelede yaygın olarak sentetik kimyasallar (fungisitler, asidik solüsyonlar) ve bazı doğal organik bileşiklerin (bitki uçucu yağları) kullanıldığı çeşitli araştırmalar mevcuttur. Trabzon hurmasında sorun olan hastalık etmenlerinin kontrolünde biyolojik mücadele etmeni bakteri mikrobiyomlarının antagonist etkilerinin araştırıldığı çalışmaların dünyada oldukça kısıtlı olduğu görülmüştür. Nitekim Trabzon hurması bitkilerinden izole edilmiş fungal patojenler ile mücadelede bakteriyel izolatların etkilerinin araştırıldığı biri ülkemizde olmak üzere dünya genelinde yalnızca iki çalışmaya denk gelinmiştir. Bu çalışmalarda;

Batta (2001), Filistin'de yetiştirilen Trabzon hurmalarında önemli bir sorun olan *Alternaria alternata* ile mücadelede, *Trichoderma harzianum* ve *Bacillus amyloliquefaciens* gibi farklı antagonistik mikroorganizmalar ile beraber bazı fungusitlerin antifungal etkilerini belirlemeye çalışmıştır. Yapılan yapay inokulasyonlar sonrası fungusitlerin ve antagonistik mikroorganizmaların meyvede hastalık gelişimini sınırlandırma ve önleyici etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada Difenconazole ve Cyprodinil + Fludioxonil hastalık etmenini engellemede en etkili fungusitler olarak belirlenirken *Trichoderma harzianum*-Th ve *Bacillus*-GA izolatları ise etmene karşı önemli derecede antifungal etkiler sergileyen biyoetmenler olmuşlardır. Sonuç itibarıyla denemelerde kullanılan antagonist mikroorganizmaların, *A. alternata* ile mücadelede fungusitlere alternatif olarak kullanılabileceği bildirilmiştir.

Kara ve ark. (2021), Hatay il genelinde yetiştirilen sağlıklı Trabzon hurması meyvelerinden izole edilen epifitik ve endofitik aday antagonist bakteri izolatlarının

Botrytis cinerea'nın miselyal gelişimine karşı antagonistik potansiyellerini *in vitro* koşullarda belirlemişlerdir. Hatay ilindeki yerel Trabzon hurması bahçesinden elde edilen sağlıklı Trabzon hurması meyvelerinin iç kısmından ve yüzeyinden toplam 14 bakteri izolatu izole edilmiş ve MALDI-TOF analizi ile tanımlanmıştır. Denemelerde kullanılan ve *Bacillus subtilis* KA4ep, *Pseudomonas kilonensis* KA6ep, *Erwinia herbicola* K10ep, *Bacillus mojavensis* K11en, *Bacillus vallismortis* K13en ve *Pseudomonas brassicacearum* K16ep olarak tanımlanan altı bakteri izolatu, *Botrytis cinerea*'nın *in vitro* miselyal gelişimini farklı oranlarda (%15.83 ile %50 arasında) engellemiştir. En yüksek antagonistik aktivite, miselyal gelişmeyi %50 oranında önleyen *B. mojavensis* K11 izolatu tarafından gözlemlenmiş olup bunu *B. subtilis* KA4 (%46.67) ve *B. vallismortis* K13 (%46.67) izolatları izlemiştir. *Bacillus* spp.'ye ait etkili izolatların gösterdikleri güçlü antagonistik aktiviteler sayesinde (miselyal gelişmeyi engelleme, siderofor üretimi ve proteaz aktiviteleri) biyolojik kontrol etmeni olarak *Botrytis cinerea*'nın kontrolünde ve hasat sonrası hastalıkların yönetiminde biyofungisit olarak geliştirilme potansiyellerinin olduğu bildirilmiştir.

Her ne kadar bakteri mikrobiyomlarının etkileri araştırılmamışsa da Trabzon hurmasında sorun olan patojenlere karşı biyolojik mücadele amaçlı yapılmış bir çalışmada Park ve ark. (2018), tatlı su ortamından izole etikleri 40 *Trichoderma* izolatını, Trabzon hurmasında patojen 2 *Colletotrichum* türüne (*C. horii* ve *C. siamense*) karşı biyolojik kontrol aktivitesi açısından değerlendirmişlerdir. Bu izolatlardan NNIBRFG3206, NNIBRFG3243, NNIBRFG3519, NNIBRFG3737 ve NNIBRFG3956'nin patojenlere karşı antagonistik aktivite gösterdikleri ve sonuç olarak bunların biyolojik kontrol etmeni olarak potansiyel kullanımlarının mevcut olabileceği bildirilmiştir.

Trabzon hurması alanlarında yapılan sörvey çalışmaları sırasında en sık karşılaşılan fungal etmen olmasından ötürü bu çalışmada hedef patojen olarak belirlenen, *A. alternata*'ya karşı oldukça kısıtlı çalışmada biyolojik mücadele olanakları araştırılmışsa da bu türün farklı bitkilerde patojen olarak tespit edilmiş izolatlarının biyolojik mücadelesi amacıyla çeşitli bakteri türlerinin kullanıldığı bazı çalışmalar mevcuttur. Trabzon hurması dışında farklı bitkilerde patojen olarak rapor edilmiş *A. alternata* izolatlarına karşı antagonist bakterilerin etkilerinin araştırıldığı söz konusu bazı çalışmalarda;

Sid ve ark. (2003), İspanya'nın farklı üretim bölgelerindeki biberlerden izole ettikleri ve saflaştırdıkları 500'den fazla bakteri izolatının *Phytophthora capsici* ve *Alternaria alternata*'ya karşı antifungal etkinliklerini *in vitro* koşullarda değerlendirmişlerdir. İzolatlardan 60 tanesi patojenlerden en az birine karşı engelleme zonu oluştururken 10 tanesi ise test edilen her iki patojen üzerinde güçlü engelleme etkisi göstermiştir. Bu 10 izolat daha sonra *in vivo* etkilerinin belirlenmesi için seçilmişlerdir. Bunlardan 4 tanesi olan HS93, LS234, LS523 ve LS674 sırasıyla, *Phytophthora capsici* kök çürümesini %80, 51, 49, 54 ve *A. alternata* yaprak lekelerini %54, 74, 62 ve 53 oranında azaltmıştır. Antifungal etkiler gösteren bu izolatlardan HS93'ün muhtemelen *Bacillus subtilis*, LS234, LS523 ve LS674 ise *Bacillus licheniformis* türüne ait oldukları bildirilmiştir.

Pastor ve ark. (2012), Arjantin'de yaptıkları çalışmada domates ve biber bitkisinin rizosfer bölgesinden izole ettikleri farklı floresan *Pseudomonas* bakteri türlerini (*P. putida*, *P. fluorescens*, *P. aeruginosa* ve *P. aurantiaca*) yaprak yanıklığı (*A. alternata* f. sp. *lycopersici*), güney yanıklığı (*Sclerotium rolfsii*) ve kök çürüklüğü (*Fusarium solani*) etmenlerine karşı potansiyel antagonistler olarak *in vitro* koşullarda test etmişlerdir. Test edilen bakteri türlerine ait farklı izolatların özellikle TSA ortamında *A. alternata* f. sp. *lycopersici* gelişimini engellediği bildirilmiştir.

Li ve ark. (2015), Çin'de yaptıkları çalışmada, tütün bitkisinden izole edilmiş bir *Bacillus megaterium* izolatı olan "Strain L2" izolatını, tütünlerde patojen olarak raporlanan *A. alternata*'nın misel gelişimi, spor çimlenme oranı ve spor çıkışını engellemesi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, bakteri izolatının belirli konsantrasyonundan hazırlanan çözeltilerin fungusun hif gelişimini etkili bir şekilde engellediği ve bakteri yoğunluğunun artışına paralel şekilde *A. alternata* üzerindeki antagonistik etkinliğin arttığı bildirilmiştir.

Pane ve Zaccardelli (2015), İtalya'da domateslerde *A. alternata*'nın sebep olduğu erken yanıklık hastalığına karşı bazı Solanaceae familyası bitki türlerinden izole ettikleri 100'e yakın bakteri izolatını, hastalık etmenine olan antifungal etkileri bakımından değerlendirmişlerdir. Çeşitli çalışmalar sonrası bunlardan 20 izolat farklı metodlarla karakterize edilmiş ve 4 izolat denemelerde kullanılmıştır. Denemelerde kullanılmak üzere seçilen bu izolatlar ile yapılan çalışmalarda bunların domateslerde *A. alternata*'nın neden olduğu hastalık şiddetini azalttıkları bildirilmiştir. Ayrıca yapılan

mikroskopik çalışmalarla fungus hiflerinde *Bacillus* kaynaklı deformasyonların meydana geldiği belirtilmiştir.

Kurniawan ve ark. (2018), Kanada’da yaptıkları çalışmada kompostlardan izole edilen *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsine ait farklı antagonist bakteri izolatlarını (*B. subtilis* F9-2, F9-8 ve F9-12; *B. badius* M9-20; *P. brenneri* F9-10; *P. koreensis* F9-9; *P. moraviensis* F9-11; *P. arsenicoxydans* F9-7), yaban mersininde meyve ürüklüğü etmenlerinden *Botrytis cinerea* ve *A. alternata*’nın misel gelişimini engellemesi üzerine olan potansiyellerini saptamak adına değerlendirmişlerdir. Sonuç itibarıyla çeşitli antagonist karakterli bakteri izolatının *B. cinerea* ve *A. alternata*’nın misel gelişimini sırasıyla %42 ve %27’ye kadar azalttığı saptanmıştır. Bu bakterilerin ayrıca her iki türün yaban mersini üzerinde oluşturdukları ürümlerin sıklığını ve şiddetini de sırasıyla %50 ve %64’e kadar azalttığı belirlenmiştir. Çalışma sonuçları itibarıyla bakteriyel ekstraktların antimikrobiyal özellikler ortaya çıkardığı ve antagonistik karakterli bakterilerin, yaban mersininde hasat sonrası meyve ürümlerinden sorumlu bu fungusların kontrolü için potansiyel bir yöntem olduğu bildirilmiştir.

Atay ve ark. (2020), ölkemizde nar meyvelerinde hasat sonrası iç ürüklüğü etmeni *A. alternata*’ya karşı bazı endofitik bakteri izolatlarının (*Bacillus pumilus*, *B. subtilis* ssp. *subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. vallismortis*, *B. mojavensis*, *B. megaterium*, *B. endophyticus*, *B. cereus*, *Solibacillus silvestris*, *Erwinia herbicola*, *Corynebacterium glutamicum* ve *Pantoea dispersa*) *in vitro* antifungal etkilerini araştırmışlardır. Yapılan denemeler sonucu *Bacillus mojavensis* PEB39 izolatı fungal etmene karşı en etkili izolat olarak belirlenmiş olup (%80 misel gelişim engellemesi) bunu *Bacillus amyloliquefaciens* PEB46 (%78.9), *Bacillus vallismortis* PEB40 (%76.7) ve *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* PEB43 (%75.6) izolatlarının izlediği bildirilmiştir.

Shao ve ark. (2023), Avustralya’daki çalışmalarında domates yüzeyinden elde ettikleri 7 bakteri izolatının domateste *A. alternata*’nın neden olduğu yaprak yanıklığı hastalığı üzerine olan antagonist etkilerini araştırmışlardır. 16S rDNA dizilimi ile *Rhizobium* sp. (izolat b1) ve *Bacillus subtilis* (izolat b2) olarak tanılanan iki izolat, antagonistik özellikleri bakımından denemelerdeki en etkili izolatlar olarak belirlenmiştir.

Sandani ve ark. (2024), Sri Lanka’da yukarıdaki çalışma ile benzer şekilde domateste (*Solanum lycopersicum* L.) geç yaprak yanıklığı hastalığı etmeni *A. alternata*

ile mücadelede, sağlıklı domates bitkilerinin rizosfer ve filosferinden izole edilen *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait ve RA 8, RA 12, RA 17, RA 18, RA 29, PA 4 ve PA 12 olarak kodlanan yedi farklı bakteri izolatının *in vitro* koşullar altında sergiledikleri antagonist etkilerini araştırmışlardır. Yapılan denemeler sonucu bu izolatların *A. alternata*'nın misel gelişimi üzerinde önemli etkilerinin olduğu, yapılan mikroskopik gözlemlerde hişlerde kalınlaşmalar, şişkinlikler ve vakuolleşme gibi normal hişlerde olmayan belirtilerin görüldüğü ve spor çimlenmesinin ortalama %83,7 oranında engelledikleri, bunların yanı sıra fungal patojenin kontrolünde antibiyozis, hiperparazitizm ve rekabet gibi antagonistik mekanizmalar sergiledikleri saptanmıştır. Sonuç olarak çalışmadaki 7 bakteri izolatının domateste erken yanıklık hastalığını kontrol etmede potansiyel antagonistler olarak daha fazla araştırılabilecekleri bildirilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmanın başlıca materyallerinden olan fungal hastalık etmenleri, Adıyaman ilinin önemli Trabzon hurması yetiştiriciliği yapılan alanlarındaki hastalıklı ağaçların çeşitli kısımlarından alınan örneklerden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilmiştir. Bölgede en yaygın hastalık etmeni olarak belirlenen *Alternaria alternata*'ya karşı antagonist etkileri araştırılan bakteri izolatları, hastalık belirtilerin yaygın görüldüğü Trabzon hurması ağaçlarının bulunduğu bahçelerdeki sağlıklı ağaçlara ait taze meyve, sürgün, kök ve yaprakların iç (endofitik) ve dış (epifit) dokularından izole edilmiştir. Fungal hastalık etmenleri ve antagonist bakteriyel etmenlerin izolasyonu, patojenisitesi, tanısı ve biyokontrol etkinliklerinin belirlendiği çalışmalarda kullanılan Patates Dekstrozu Agar (**PDA**), Tryptic Soybean Agar (**TSA**) Nutrient Agar (**NA**) ve King's B Agar (**KB**) gibi besi yerleri hazır ticari olarak (Merck, Darmstadt, Germany) satın alınarak, Karanfil Yaprak-Parçacık Agar (**Carnation Leaf-Piece Agar, CLA**) ise laboratuvarda hazırlanarak çalışmalarda kullanılmıştır (bu besi yerlerinin içerikleri ayrıca Ek-1 verilmiştir).

Çalışmanın geriye kalan materyallerini ise Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünün Fitopatoloji ve Adıyaman Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı bünyesindeki Fitoklinik laboratuvarlarına yer alan alet-ekipmanlar, çeşitli cam ve plastik laboratuvar malzemeleri ve kimyasal maddeler oluşturmuştur.

3.2. Yöntem

3.2.1. Trabzon Hurması Bahçelerinde Sorun Olan Fungal Hastalık Etmenlerinin Yaygınlık Durumlarının Belirlenmesi

Adıyaman ili Trabzon hurması üretim alanlarındaki fungal hastalık etmenlerinin tespiti ve yaygınlıklarının belirlenmesi amacıyla ilkbahardan itibaren; çiçeklenme döneminden hasat sonrası döneme kadarki süreçte (Nisan-Aralık ayları arası), daha

önceden İlçe Tarım Müdürlükleri ve üreticilerle görüşülmesi suretiyle belirlenmiş üretim alanlarında sürveyler gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Trabzon hurması bahçelerinde farklı tarihlerde yapılan bitki hastalık sürveyleri

İlçe	Sürveyin sayısı ve zamanı							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Besni	Nisan 2021	Haziran 2021	Eylül 2021	Kasım 2021	Nisan 2022	Haziran 2022	Eylül 2022	Kasım 2022
Gölbaşı	Nisan 2021	Haziran 2021	Eylül 2021	Kasım 2021	Nisan 2022	Haziran 2022	Eylül 2022	Kasım 2022
Merkez	Mayıs 2021	Haziran 2021	Eylül 2021	Aralık 2021	Mayıs 2022	Haziran 2022	Eylül 2022	Aralık 2022
Kahta	Mayıs 2021	Haziran 2021	Eylül 2021	Aralık 2021	Mayıs 2022	Haziran 2022	Eylül 2022	Aralık 2022
Tut	Mayıs 2021	Haziran 2021	Eylül 2021	Aralık 2021	Mayıs 2022	Haziran 2022	Eylül 2022	Aralık 2022
Çelikhan	Mayıs 2021	Haziran 2021	Eylül 2021	Aralık 2021	Mayıs 2022	Haziran 2022	Eylül 2022	Aralık 2022

Adıyaman ilini temsil etmesi bakımından en fazla Trabzon hurması üretimi yapılan ilçeler başta olmak üzere sürveyler Gölbaşı, Besni, Merkez, Kahta, Tut ve Çelikhan ilçelerinde yer alan bahçelerde gerçekleştirilmiştir. İlçelere göre sürvey yapılaan ağaç sayıları TÜİK verileri esas alınmak koşuluyla o ilçede bulunan toplam ağaç sayısının en az %1'ine denk gelecek şekilde belirlenmiştir. Her bir ilçedeki sürveylerde değerlendirilen Trabzon hurması bahçelerinin belirlenmesinde o ilçenin üretim miktarı ve sürvey yapılacak bahçenin farklı ekolojik koşulları yansıtır yansıtmaması da göz önünde bulundurularak tesadüfi olarak seçilmiş ve seçilen her bahçede incelenen ağaç sayısı Grigorov (1974)'dan modifiye edilmiş sürvey metoduna göre gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2).

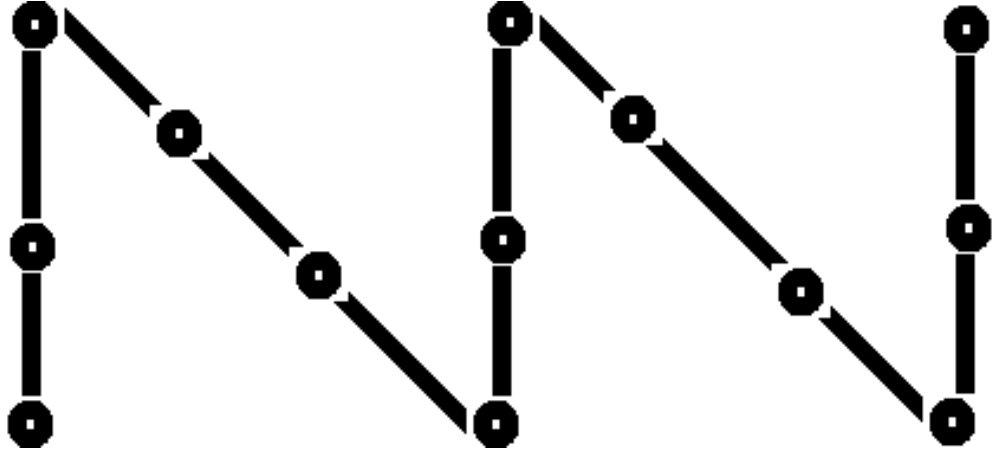
Çizelge 3.2. Grigorov (1974)'dan modifiye edilmiş sürvey metoduna göre bir bahçede incelenen ağaç sayısı

Bahçede bulunan ağaç sayısı (adet)	İncelenen ağaç sayısı (adet)
20	Tüm ağaçlar
21-70	25
71-150	40
151-500	50
501-1000	%15
>1000	En az 150

Sörveyler sırasında örneklemeler bahçelerde bir köşeden başlanarak Şekil 3.1’de gösterildiği gibi zigzag şeklinde yapılmıştır (Birişik ve ark., 2024). Bahçelerde en tipik hastalık belirtileri gösteren ağaçların yaprak, dal/sürgün ve/veya meyvelerinden örnekler alınmıştır (Şekil 3.2).

Meyve bahçelerinde hastalık şüphesi ile alınan örnekler adına çiçeklenme dönemi, meyve tutumu zamanı, meyve olgunlaşması ve hasat zamanlarının sörveyler için uygun zamanlar olduğu bildirilmiştir (Birişik ve ark., 2024). Bu nedenle örneklemeler ağaçların bu farklı fenolojik dönemlerine denk gelecek gerçekleştirilmiştir. Ağaçlar örneklenirken; (i) çiçek ve yapraklar, (ii) dal ve sürgünler ve (iii) meyveler olmak üzere 3 örnek bölgesi şeklinde alınmış, bu örnekler birbirlerine karışmayacak şekilde her biri ayrı numune torbaları/kese kâğıtları içerisine koyulmuştur. Meyve, yaprak veya sürgün örnekleri, örnek alınan ağacın dört tarafındaki tepe, orta ve etek dalları kapsayacak şekilde farklı noktalardan alınmıştır. Meyve örnekleri su ve şeker içeriği açısından zengin olduğundan ayrı ayrı kâğıt havluya sarıldıktan sonra numune torbalarına koyulmuştur. Bunun yanı sıra yaprak ve sürgün örnekleri de hızlı şekilde su kaybedebileceğinden dolayı bunlar da kâğıt havluya sarıldıktan sonra numune torbalarına koyulmuştur (Birişik ve ark., 2024).

Uygun şekillerde alınan örnekler izolasyon ve teşhis çalışmaları için en kısa sürede laboratuvara getirilmiş ve mümkün olduğunca aynı gün izolasyonları yapılmıştır. Aynı gün izolasyonu yapılamayan örnekler ise +4 °C’de muhafaza edilmiş ve bir sonraki gün izolasyonları yapılmıştır.



Şekil 3.1. Sörvey yapılan bir bahçede uygulanan örnekleme modeli

Trabzon hurması bahçelerinde yapılan sörveyler sırasında incelenen ağaçların farklı bitki kısımlarında (çiçek, dal/sürgün, yaprak ve meyve) hastalık olabileceği düşünülen bütün belirtiler değerlendirilmiş ve bunların hepsinden örnekler alınmıştır. Sonuç olarak tüm bahçelerde bitkinin farklı fenolojik dönemlerini kapsayak şekilde bir yıl içerisinde 4 sörvey çalışması gerçekleştirilmiş, hastalık belirtisi olduğu düşünülen simptomlar fotoğraflanmış ve bahçelere göre bunların yaygınlıkları kayıt altına alınmıştır. Bir bahçenin veya il genelinin bir hastalık etmeni ile bulaşma oranını belirlemek için ise aşağıdaki formüller kullanılmıştır;

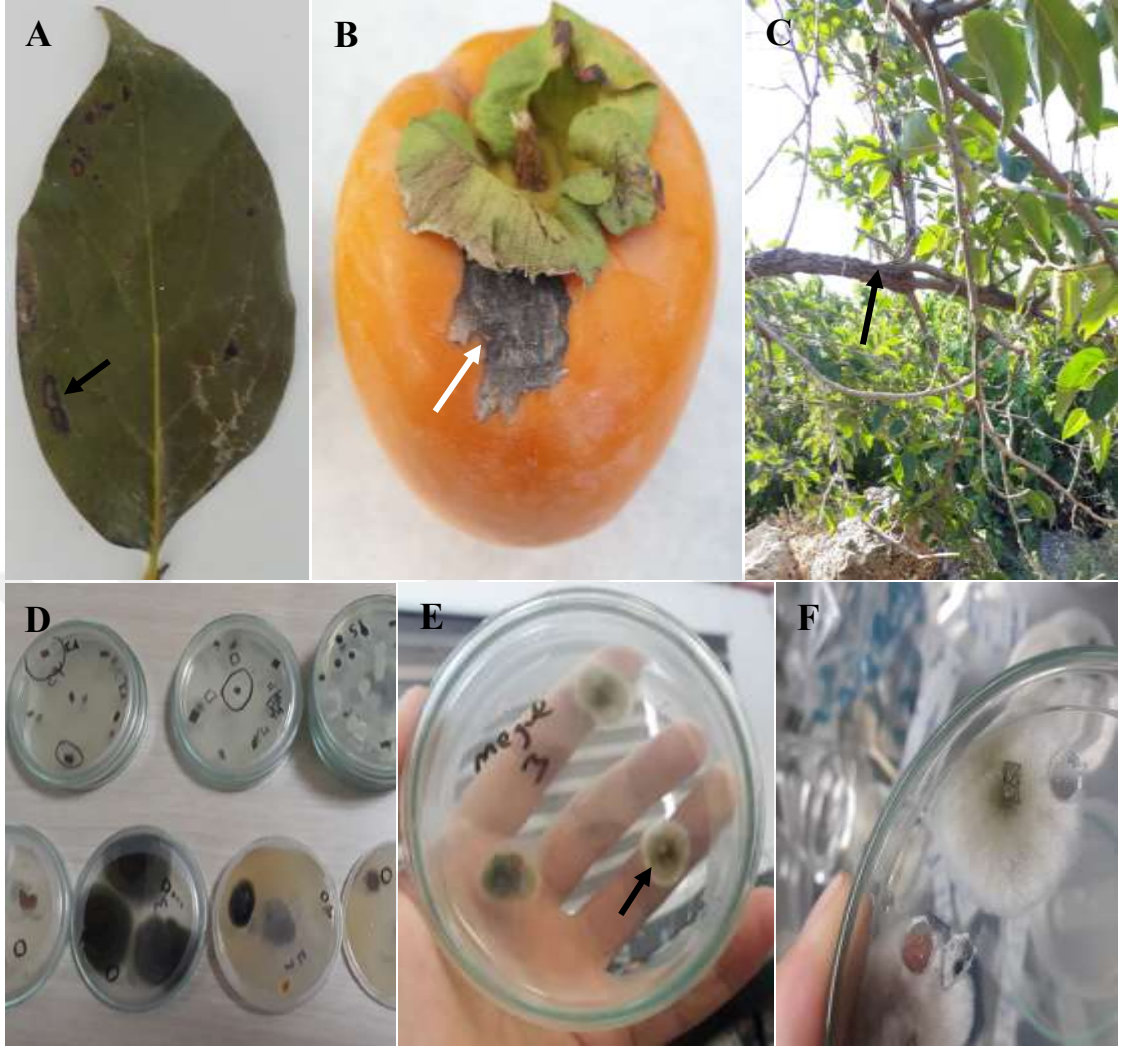
$$\text{Bahçede hastalık rastlanma sıklığı} = \left(\frac{\text{Bahçedeki hasta ağaç sayısı}}{\text{Bahçedeki incelenen ağaç sayısı}} \right) * 100 \quad (3.1)$$

$$\text{İl/ilçe geneli hastalık yaygınlık oranı} = \left(\frac{\text{Bölgede hastalıklı bahçe sayısı}}{\text{Bölgede sörvey yapılan bahçe sayısı}} \right) * 100 \quad (3.2)$$

3.2.2. Enfekteli Trabzon Hurması Ağaçlarından Fungal Etmenlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması

Bu çalışmadaki fungal hastalık etmenleri, Adıyaman ilinin Gölbaşı, Merkez, Besni, Kahta, Tut ve Çelikhan ilçelerinde 2021 ve 2022 yıllarında Trabzon hurması ağaçlarının farklı fenolojik dönemlerini kapsayan dönemlerdeki sörvey çalışmaları sonrası elde edilmiştir. Bu amaçla Trabzon hurması bahçelerinde gözlenen farklı

hastalık belirtilerine sahip bitki kısımlarından (yaprak, meyve ve dal/sürgün) izolasyonlar yapılmış ve sörveyler sonrası elde edilen izolatlar saflaştırılmıştır. Çizelge 3.2’de bilgilerine yer verilen Adıyaman ilindeki sörvey yapılan farklı Trabzon hurması bahçelerindeki ağaçların farklı dokularından fungal hastalık etmenlerini izole etmek amacıyla toplanan bitki kısımları uygun yöntemlerle laboratuvara getirilmiş ve bunlar kaba kirlerinden arındırılmak amacıyla önce akan çeşme suyu altında yıkanmıştır. Daha sonra steril bistüri ile bu dokulardaki hastalıklı ve sağlıklı kısımları içeren 3-5 mm büyüklüğünde parçalar kesilmiş ve bunlar %2’lik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 2 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. NaOCl çözeltisinden alınan doku parçaları devamında 3 kez steril saf sudan geçirilmiş ve steril kurutma kâğıtları üzerinde bırakılmıştır. İyice kuruyan parçalar daha sonra PDA besi ortamı içeren 90 mm çapındaki petri kaplarına (her petriye 3 parça gelecek şekilde) aktarılmıştır. Fungal gelişim sırasında bakteriyel bulaşmaları önlemek amacıyla besi ortamına öncesinden 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat eklenmiştir. Ardından bu petriler parafilmle sarılarak 24 °C’de 5-7 gün boyunca inkübe edilmiş ve süre sonunda dokulardan gelişen fungal koloniler antibiyotik içerikli PDA içeren yeni petrilere aktararak saflaştırma yoluna gidilmiştir. İzolasyonlar sonrası elde edilen fungal izolatlar patojenisite çalışmaları ve tür teşhisleri yapıncaya kadar +4 °C’de muhafaza edilmişlerdir.



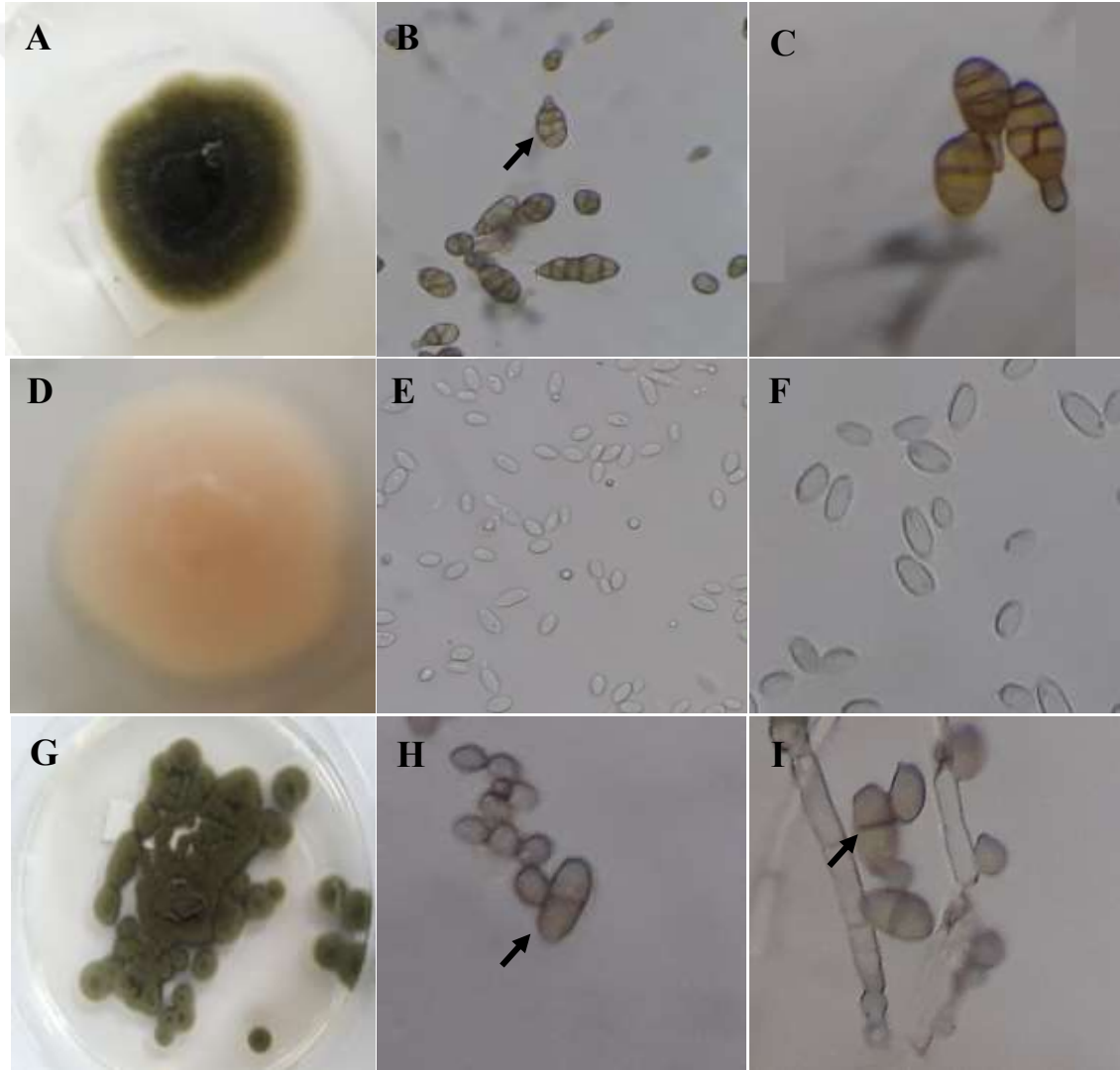
Şekil 3.2. (A-C) Trabzon hurması ağaçlarında gözlenen hastalık belirtileri (ok). (D-F) Hastalıklı bitki kısımlarından alınan dokulardan PDA besi ortamı üzerinde gelişen fungal koloniler (ok).

3.2.3. Fungal Etmenlerin Morfolojik Olarak Tanılanmaları ve Tek Spor İzolatlarının Elde Edilmesi

İzolasyonlar sonucu elde edilen fungal izolatların morfolojik olarak tanılanmaları amacıyla PDA besiyerinde oluşturdukları koloni renkleri/şekilleri, miselyal gelişme durumları ve spor morfolojileri 40-1000X binoküler ışık mikroskobu (Soif, BK300 Model) altında incelenmiştir (Şekil 3.3).

Maldi-TOF ve moleküler teşhis çalışmaları, patojenisitelerinin belirlenmesi ve biyolojik mücadele denemelerinde kullanmak amacıyla spor oluşturan fungal etmenlerin tek spordan geliştirilen izolatları elde edilmiştir. Bu amaçla, saflaştırılmış izolatların 10^2

spor/ml yoğunluğunda hazırlanan süspansiyonları steril bir baget yardımıyla 50 µg/ml streptomisin sülfat eklenmiş %2 konsatrasyonundaki Su Agar (WA)'a yayılmış, ardından 24°C sıcaklıkta 8 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sürecinden sonra, çimlenmiş olan tek sporlar WA üzerinden alınarak içerisine antibiyotik eklenmiş yeni PDA besi yeri içeren petrilere aktarılmak suretiyle tek bir spordan geliştirilmiş olan izolatlar elde edilmiştir. Bu şekilde gelişen izolatlar ayrıca uzun süreli muhafazaları amacıyla kuru ve steril edilmiş filtre kâğıtları üzerinde geliştirildikten sonra bir zarf içerisine alınmış ve bu zarflar üzerine gerekli kodlamalar yazılarak -20°C'de soğutucuya alınmıştır.

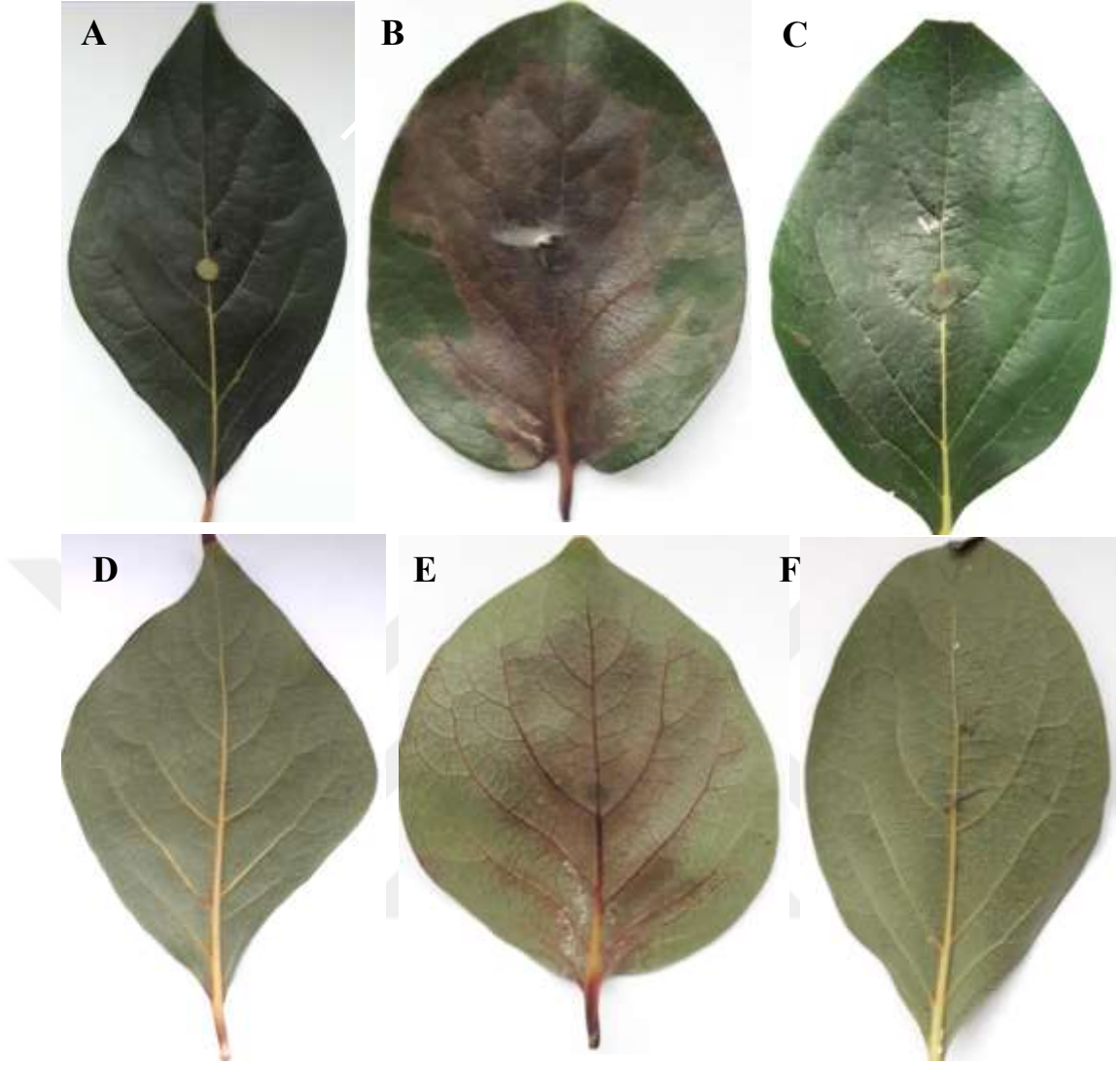


Şekil 3.3. Fungal izolatların morfolojik olarak tanımlanmalarında baz alınmış koloni ve spor yapıları. (A-C) *A. alternata*, (D-E) *Aureobasidium pullulans*, (G-I) *Cladosporium* sp. izolatlarına ait koloni ve sporlar (ok)

3.2.4. Fungal İzolatların Patojenisite Testleri

Faklı Trabzon hurması bahçelerinde yer alan ağaçlardan yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen saf/tek spor fungal izolatların bitki patojeni olup olmadıklarını belirlemek amacıyla her bölgeyi/bahçeyi temsilen seçilmiş farklı morfolojik yapıda izolatlarla sağlıklı bitki yaprak, sürgün ve meyveler üzerinde patojenisite çalışmaları yapılmıştır. Patojenisite çalışmalarında izolatların elde edildiği bitki çeşitleri ve kısımları göz önünde bulundurulmuş olup bu doğrultuda; gerek bölgede en yaygın yetiştirilen çeşit olması gerekse elde edilen izolatların hemen hemen tümünün izole edildiği çeşit olması sebebiyle ‘Hachiya’ çeşidine ait sağlıklı Trabzon hurması bitkilerinin farklı bitki kısımları (meyve, yaprak ve odunsu dokuları) testlerde kullanılmıştır.

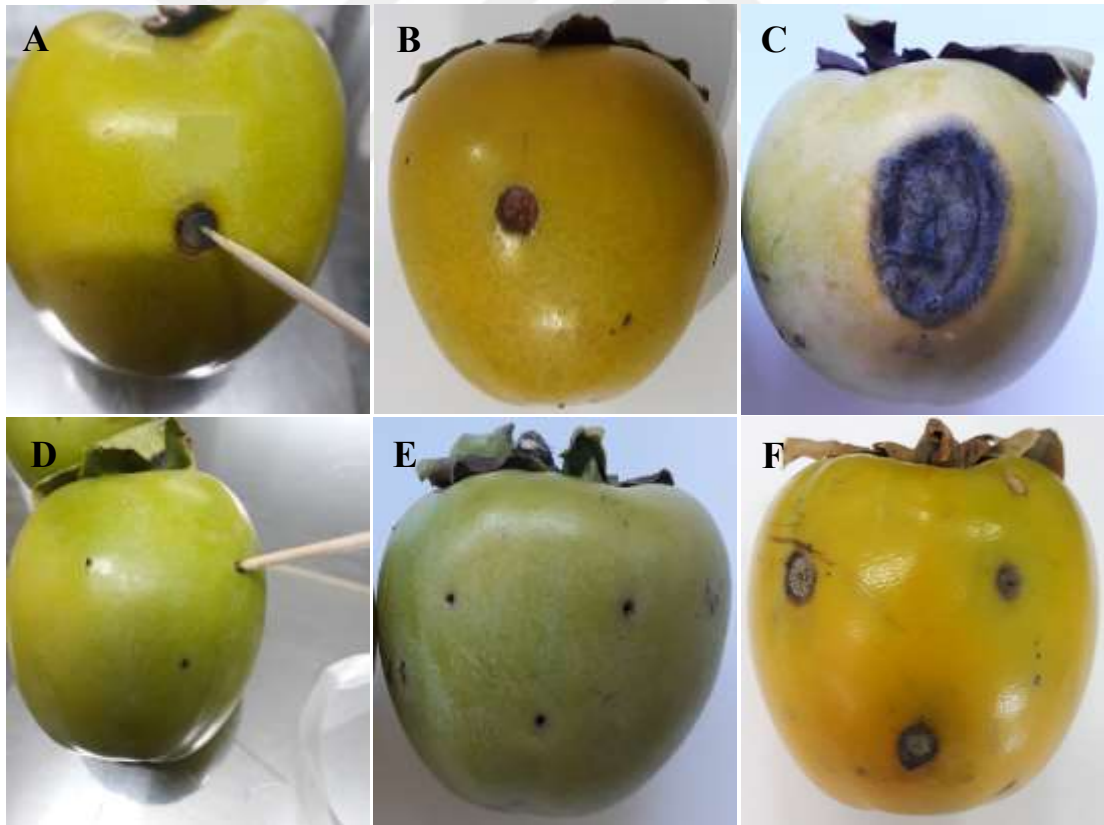
Yapraklarda patojenisite çalışmaları sağlıklı ve yeşil renkte bitki yapraklarında yapılmıştır. Bu doğrultuda seçilen yaprakların yüzeyleri önce ardışık olacak şekilde ‘steril saf su su-etil alkol-steril saf su’ uygulamaları ile steril edilmiştir. Steril edilmiş yaprakların yüzeylerine ardından steril bistüri yardımıyla küçük yaralar açılmış devamında fungus izolatının besi ortamında geliştirilmiş taze misel diskleri yerleştirilmiştir. Denemedeki kontrol yapraklarına da aynı işlemler uygulanmış olup yara yerlerine fungus diski yerine steril PDA besi ortamı diskleri yerleştirilmiştir (Şekil 3.4). Bu şekilde inokulasyonları yapılan yapraklar saplarının ucuna bir miktar steril ıslak pamuk sarılarak steril, ışığı geçiren şeffaf saklama kaplarına alınmıştır. Bu kaplar 16:8 aydınlık/karanlık fotoperiyotta, 26 °C’de 1-2 hafta boyunca inkübasyona bırakılmış ve hastalık belirtilerinin gelişim durumlarına göre gözlem altında tutulmuştur.



Şekil 3.4. Sağlıklı Trabzon hurması yapraklarında yapılan patojenisite çalışmaları. Fungus disklerinin mikro yara açılan yaprak yüzeyine yerleştirildikten sonra (A-C) üst ve (D-F) alt yüzeyde hastalık gelişimi. Kontrol (A-D) ve Patojen olmayan bir izolatın (C-F) yaprakların üst ve alt yüzeylerindeki görünümü

Meyvelerden izole edilen fungal izolatların patojenisite çalışmaları, henüz tam olarak olgunlaşmamış ancak boyut olarak hasad iriliğine ulaşmış sağlıklı Trabzon hurması meyvelerinde gerçekleştirilmiştir. Tümüyle olgunlaşmış meyveler ise oldukça yumuşak yapıda olduklarından dolayı patojenisite testlerinin yapılmasını güçleştirmiş olup meyve patojenisite testlerinde tümüyle olgunlaşmış meyveler tercih edilmemiştir. Patojenisite testleri amacıyla seçilen meyvelerin yüzeyleri ardışık olacak şekilde ‘steril saf su su-etil alkol-steril saf su’ uygulamaları ile steril edilmiştir. Daha sonra iki farklı yöntemle bunlara fungus inokulasyonu yapılmıştır.

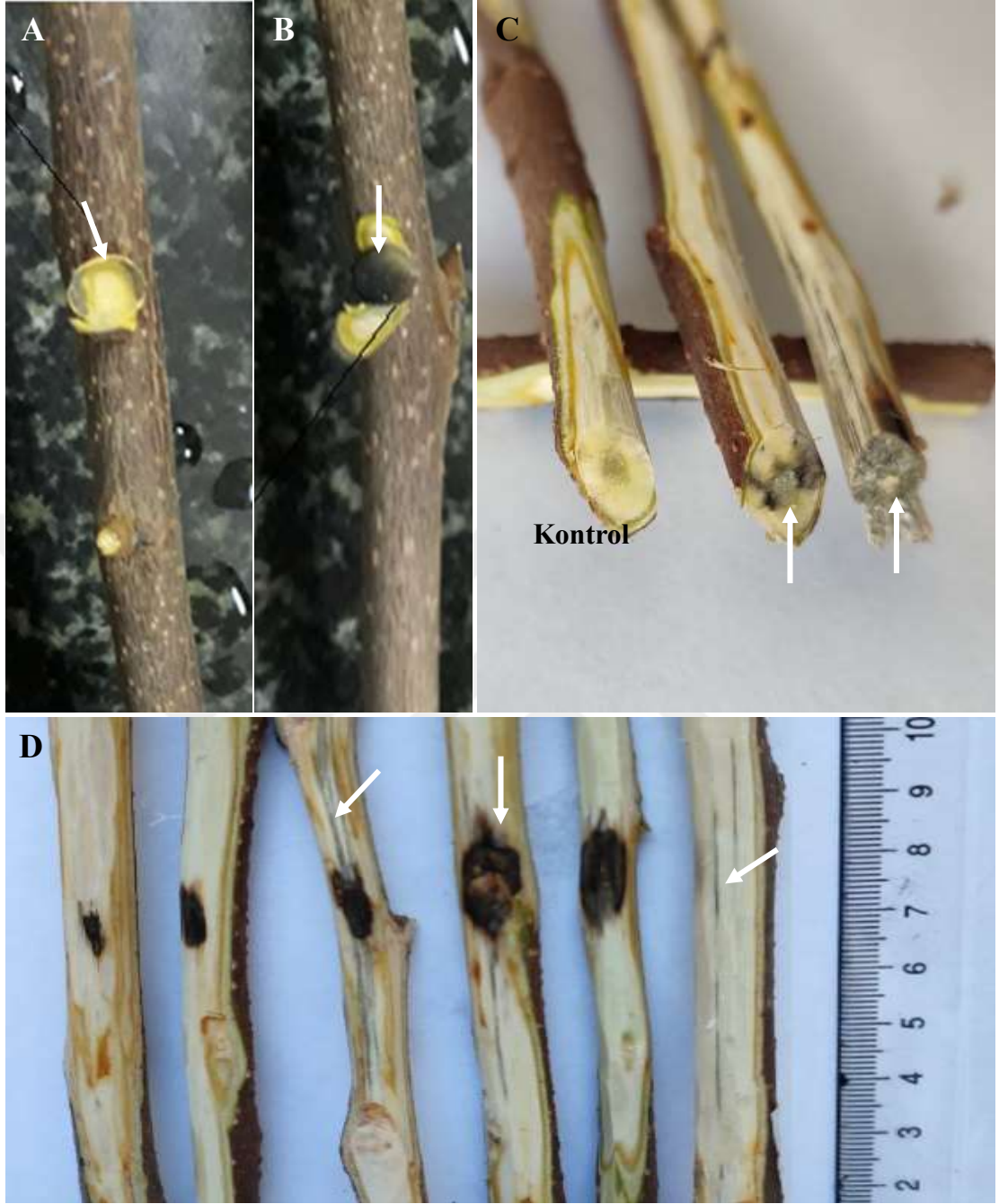
Birinci yöntemde, önce meyvenin yüzeyinin orta kısmına yakın bir konuma 6 mm çapındaki mantar delici ile yüzeysel yara açılmış ve buraya 6 mm çapındaki fungus misel diskleri yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Kontrol meyvelerine ise fungus diski yerine 6 mm çapında steril PDA besi ortamı diskleri yerleştirilmiştir. İkinci yöntem ise steril kürdanlarla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, önce meyve yüzeyi üzerinde belirlenen 3 noktaya steril kürdanlarla yaklaşık 1 mm çapında küçük delikler açılmış daha sonra buraya kürdan ucu dolusu kadar fungus miseli aktarılmıştır (nokta inokulasyonu). Kontrol meyvelerine ise açılan deliklere fungus miseli yerine kürdan ucu dolusu PDA besi ortamı yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Gerek disk gerekse kürdan yöntemi ile yapılan inokulasyonlardan sonra kontrol meyveleri dahil tüm meyveler parafilmle sarılarak steril saklama kaplarına alınmıştır. Bu kaplar 16:8 aydınlık/karanlık fotoperiyotta, 26 °C’de 1-2 hafta boyunca inkübasyona bırakılmış ve hastalık belirtilerinin gelişim durumlarına göre gözlem altında tutulmuştur.



Şekil 3.5. Sağlıklı Trabzon hurması meyvelerinde (cv. Hachiya) “disk inokulasyon” (A-C) ve “kürdan inokulasyon” (D-F) yöntemleri ile yapılan patojenisite testleri. İnokulasyonlar sonucunda kontrol meyvesine (B ve E) kıyasla fungus enfeksiyonu sonucu meyvelerde oluşan hastalık belirtisi (C-F).

Odunsu doku kısımları için patojenisite çalışmaları 2 yaşındaki sağlıklı fidanlardan “kesilen gövde/sürgünler” üzerinde daha önceden bildirilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir (Aktepe ve Aysan, 2023). Bu amaçla seçilen taze sağlıklı sürgünlerin inokulasyon yapılacak yerlerinin yüzeyleri önce ardışık olacak şekilde ‘steril safsu su-etil alkol-steril saf su’ uygulamaları ile dezenfekte edilmiş, sonra steril bir bistüri yardımıyla sürgün üzerinde belirlenmiş bir noktaya yaklaşık 6 mm yara açılmıştır. Açılan yara üzerine 6 mm çapında fungus misel diski yerleştirilmiş (Şekil 3.6) ve devamında inokulasyon noktalarının üzerine steril nemli pamuk konularak bu bölge parafilmle sarılmıştır. Kontrol amacıyla belirlenen sürgünler üzerinde açılan yara yerlerine ise fungus diski yerine 6 mm çapında steril PDA besi ortamı diskleri yerleştirilmiş ve benzer şekilde parafilmle sarılmıştır. Fungal izolatların bulaştırıldığı sürgünler içerisinde steril su bulunan cam erlenler içine, dip kısımları suya temas edecek şekilde yerleştirildikten sonra 16:8 aydınlık/karanlık fotoperiyotta 26 °C’e ayarlanmış iklim odasına alınarak 4-5 hafta boyunca hastalık belirtilerinin gelişim durumlarına göre gözlem altında tutulmuştur.

Bütün patojenisite testleri sonrası (yaprak, meyve ve odunsu dokular) inokulasyon bölgelerinde oluşan hastalık belirtileri orijinal belirtilerle karşılaştırılmış, bu belirtilerden yeniden fungal etmenlerin izolasyonları yapılarak re-izolatlar elde edilmiştir. Elde edilen re-izolatlara orijinal izolatlar için yapılan benzer teşis yöntemleri uygulanarak bir izolatın patojen olup olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 3.6. Sağlıklı Trabzon hurması fidanlarından kesilen sürgünlerde yapılan patojenite testleri ve hastalık gelişimi. (A) Kontrol (B) fungal izolatın misel diskinin (ok) inokule edilmesi. (C) Kontrol bitkisine oranla fungus inokule edilmiş bitkilerin odunsu dokularında meydana gelen belirtiler (ok). (D) Farklı izolatların patojenisite testi sonucu gövde/sürgünlerde oluşturdıkları belirtiler (ok)

3.2.5. Fungal İzolatların Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) Yöntemiyle Tanılanması

Trabzon hurmasının farklı bitki kısımlarından izole edilen ve morfolojik olarak ön teşhisleri yapılan fungal izolatların ayrıca Matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) ile teşhisleri yapılmıştır. Bu amaçla izolatların saf kültürleri önce PDA ortamında 5-7 gün süre boyunca geliştirilmiştir. Besi ortamında gelişen izolatlardan daha sonra 6 mm çapındaki 4-5 adet misel diski alınarak, bunlar içerisinde 8 ml Patates Dekstroz Broth (PDB) sıvı besiyeri bulunan tüplere aktarılmıştır. Besi yerleri ve tüpler kullanılmadan önce otoklavda steril edilmiş, bakteri gelişimini önlemek adına diskler aktarılmadan önce ise 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat eklenmiştir. İnokulasyon işlemleri biten bütün tüpler daha sonra rotatörde 50 rpm hızında ve oda sıcaklığında (20-24 °C) 3 gün boyunca gelişmeye bırakılmıştır.

İnkübasyon sonrası sıvı besiyerinde gelişen izolatların misel süspansiyonlarından örnekler alınarak daha önceden bildirilmiş olan şekilde formik asit-etanol yöntemi ile izolatların protein ekstraktları elde edilmiştir (Soylu ve ark., 2020). Elde edilen ekstraktlar ardından MALDI-TOF cihazının metal targetine yerleştirilmiş, bunların üzerlerine matrix çözeltisi damlatılmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Ardından her bir izolat için spektrumlar elde edilmiş ve bu spektrumlar cihaz kütüphanesinde kayıtlı referans türlerle karşılaştırılarak fungal türün tanılanması yapılmıştır.

3.2.6. Fungal İzolatların Moleküler Yöntemle Tanılanması

Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli bitki kısımlarından izole edilen, morfolojik olarak ön teşhisleri yapılan, patojenisite çalışmaları sonucu yüksek virülenslik değerleri gösteren ve MALDI-TOF MS analizleri ile tanılanmaları yapılan fungal izolatların ayrıca moleküler yöntemler yardımıyla kesin olarak türleri belirlenmiştir. Bu amaçla, izolatlar önce PDA besiyerinde 5-7 gün süreyle geliştirilmiş ve aşağıda belirtildiği şekilde bunların DNA izolasyonları yapılmıştır.

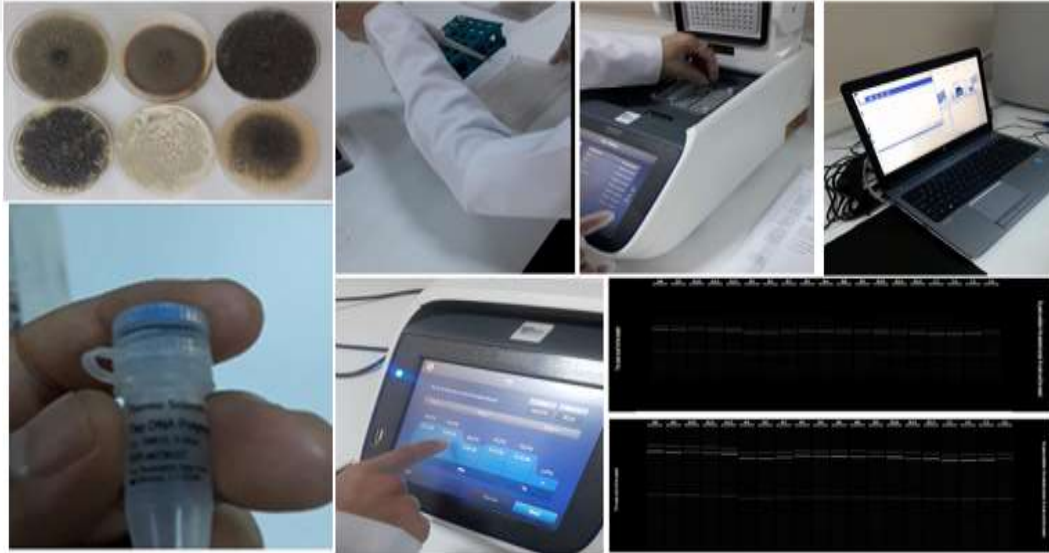
Funguslardan DNA izolasyonu için QIAGEN DNeasy Plant mini kiti kullanılmıştır. PDA besiyeri yüzeyinde gelişen fungusların hifleri steril bir bistüri

yardımıyla kazanmıştır. Elde edilen miselyumlar 2 ml'lik eppendorf tüplerine aktarılarak devamında homojenizatör yardımıyla parçalanmıştır. Parçalanmış hiflerin yer aldığı tüplere 4 µl RNase A ve 400 µl Buffer AP1 eklenerek vortekslenmiş, ardından su banyosunda 65°C'de 45-60 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüplerin üzerine 130 µl Buffer P3 eklenerek vortekslenmiş ve buz üzerinde 5 dakika boyunca bekletilerek devamında 14.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Ardından örnekler üzerinde yer alan sıvı kısımlar alınarak QIAshredder mini spin column tüpüne yerleştirilmiş ve tekrardan santrifüj edilmişlerdir. Daha sonra tüpün dip kısmında yer alan sıvının 1.5 katı miktarınca Buffer AW1 solüsyonu eklenmiştir. Elde edilen bu karışım bir DNeasy mini spin column tüpüne aktarılmış ve 6000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası iki defa 500 µl buffer AW2 eklenerek yıkanmış, daha sonra tüpün dibinde kalan sıvı tüpten atılmıştır. Son işlem olarak ise DNeasy mini spin column tüpünün üstünde kalan kısım (süpernatant) önce 1.5 ml'lik bir eppendorf tüpüne koyulmuş ve üzerine 60 µl Buffer AE eklenmiş, sonra 8000 rpm'de santrifüj edilerek üst kısmı atılmıştır. Tüm bu işlemler sonrası eppendorf tüpü içinde fungus izolatının DNA'sı elde edilmiştir (Şekil 3.7). Her izolat için ayrıca spektrofotometre/nanodrop kullanılarak elde edilen DNA'ların yoğunluğu belirlenmiştir (Çizelge 3.3).

DNA'ları elde edilen izolatların moleküler açıdan tanılamaları için Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgesine spesifik universal ITS1-4 ile ITS 4-5 primerleri (Çizelge 3.4) (White ve ark., 1990) kullanılmıştır. Yapılan PCR işlemleri sonrası jel görüntülerinde bant görülen izolatlar DNA dizi analizleri (sekans) için ticari firmaya gönderilmiştir. Bu izolatların ITS gen bölgelerine ait sekans sonuçları NCBI GenBank veri tabanına yüklenerek Blast analizleri yapılmış ve veri tabanında yer alan referans izolatlarla kıyaslamalar yapılarak izolatların tanılama işlemleri yapılmıştır.

Çizelge 3.3. DNA'ları çıkarılmış bazı fungus izolatları ve DNA miktarlarının yoğunlukları

İzolat kodu	Nanodrop değeri (ng/ml)	İzolat kodu	Nanodrop değeri (ng/ml)
MA5	106	MA49	238
MA7	86	MA50	159
MA8	113	MA52	30.2
MA9	16.3	MA54	136
MA16	138	MA55	112
MA21	380	MA56	121
MA23	245	MA57	274
MA25	221	MA59	116
MA45	112	MA61	134
MA46	267	MA62	158



Şekil 3.7. Fungal izolatların moleküler olarak teşhis çalışmaları. Genomik DNA'larının izolasyonu, ITS 1-4 primerleri ile PCR'da çoğaltılması ve oluşan bantların genel görünümü.

Çizelge 3.4. PCR işlemi için kullanılan primerler ve gen dizilimleri

Bağlanma Bölgesi	Primer İsmi	DNA Uzunluğu	Gen Dizilimi (5'→3') Q- Bank
Internal Transcribed Spacers (ITS)	ITS1F	550-650bp	5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'
	ITS-4R		5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
	ITS-5F		5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'

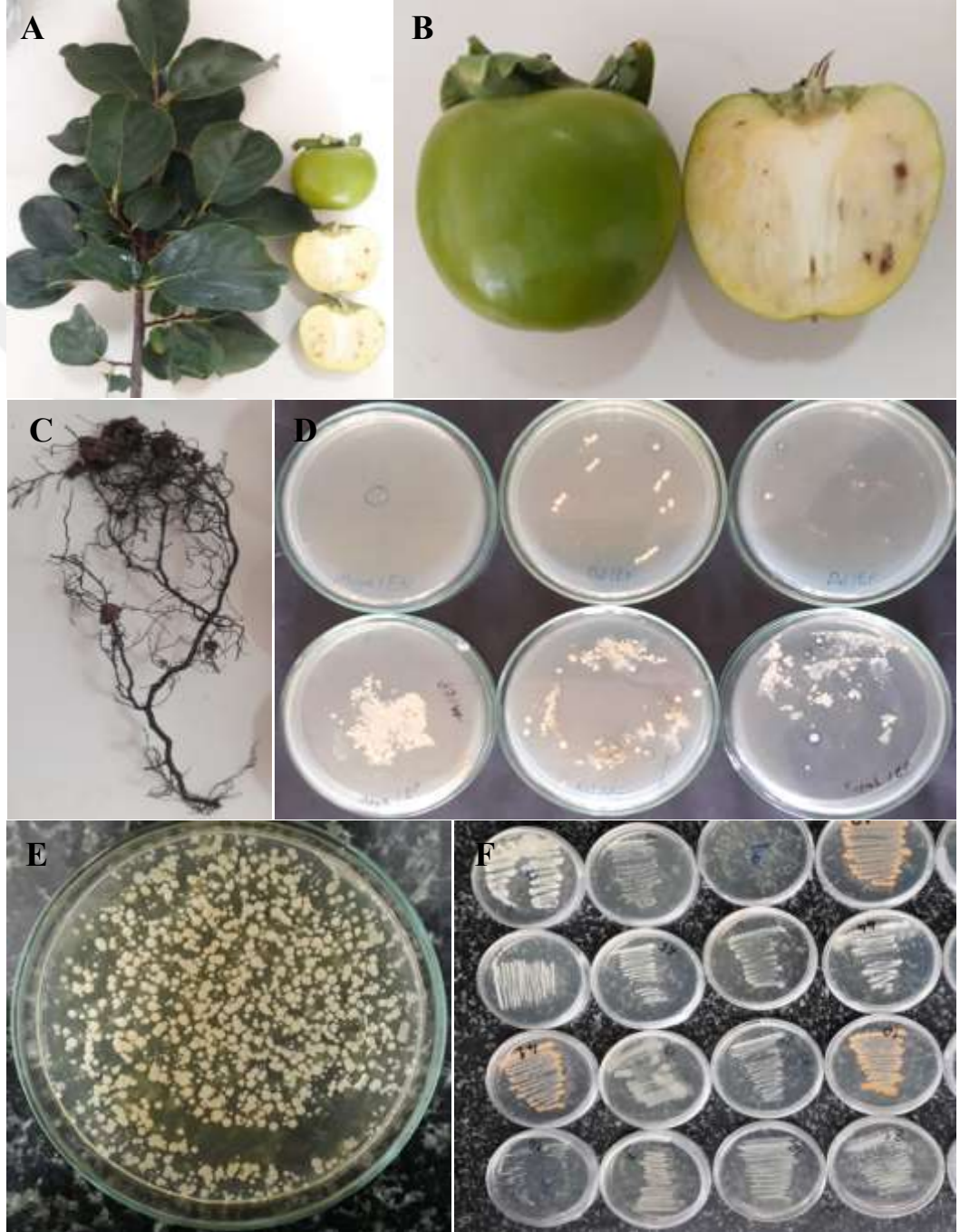
3.2.7. Biyolojik Mücadele Etmeni (BCA) Aday Endofit ve Epifit Bakterilerin İzolasyonu

Sörveyler sonrası en yaygın fungal hastalık etmeniyle biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılan endofit ve epifit özellikli BCA izolatları, Adıyaman ilinin farklı lokasyonlarındaki Trabzon hurması üretim alanlarında yapılan hastalık sörveyleri sırasında, sağlıklı ağaçların çeşitli bitki kısımlarından yapılan izolasyon çalışmaları sonucu elde edilmiştir (Şekil 3.8).

Endofit bakterilerin izolasyon çalışmaları kapsamında; örneklenen sağlıklı bitki kısımları (kök, dal yaprak ve meyve) laboratuvara getirilmesinin ardından önce çeşme suyu altında toprak ve diğer materyallerden arındırmak amacıyla yıkanmıştır. Yıkanan örnekler ardından kağıt havlu arasında kurutularak sırasıyla 1 dakika %70'lik etanol içerisinde ve 2 dakika %3 sodyum hipoklorit (NaOCl) içerisinde bekletilmiştir. Son olarak, 1 dakika %70'lik etanol ile muamele edilen bitki parçaları, 1'er dakika olmak üzere 5 defa steril saf sudan geçirilerek yüzey sterilizasyonları gerçekleştirilmiştir. Devamında yüzey sterilizasyonu yapılan örneklerin iç kısımlarından (kabuğa yakın kısımlar) parçalar alınarak steril havan içerisinde 50 mM MgCl₂ tampon çözeltisinde ezilmiş ve 5 dakika bekletilmiştir. Elde edilen bu süspansiyondan daha sonra 0,1 ml alınarak steril drigalski spatülü (baget) yardımıyla farklı besi ortamları (King B, Tryptic Soy Agar ve Nutrient Agar) dökülmüş petrilere, petrinin her tarafına eşit olacak şekilde yayılmıştır. Meyve ve dal kısımlarından endofit bakteri izolasyonu amacıyla ayrıca baskılama (imprinting) yöntemine de başvurulmuştur. Bu yöntemle göre, yüzey sterilizasyonu sonrası steril bistüri ile açılan dal ve meyvelerin iç dokularından parçalar alınarak besi ortamlarına aktarılmış ve yaklaşık 2 saat sonra parçalar kaldırılmıştır.

Epifit bakterilerin izolasyon çalışmalarında ise; endofit bakterilerin izolasyonundan farklı olacak şekilde, Trabzon hurmasının bitki kısımları bu defa herhangi bir yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmaksızın doğrudan söz konusu besi ortamlarına aktarılmıştır. Hem endofit hem epifit bakteri izolasyonu amacıyla ekimleri yapılan tüm petri kapları 26 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası gerek endofit gerekse epifit şekilde yapılan izolasyonlardan gelişen ve morfolojik olarak birbirinden farklı görünen bakteri kolonileri TSA besiyerlerinde saflaştırılmıştır. Saflaştırılmış bu izolatlar tanılama, biyokontrol etkinlik mekanizmaları ve antagonist

etkilerinin belirlendiği çalışmalarda kullanılmak üzere; kısa süreli muhafaza amacıyla uygun besiyeri içeren petri kaplarında ve eğik agar besiyerinde +4 °C’de, uzun süreli muhafazalar için ise %40’lık steril gliserol-saf su karışımında Cryo eppendorf tüplerinde -80 °C’ de saklanmıştır.



Şekil 3.8. (A-C) Aday endofit ve epifit BCA izolatlarının elde edildiği sağlıklı Trabzon hurması bitki örnekleri. (D-E) Yapılan izolasyon çalışmaları sonrası besi ortamlarında gelişen ve, (F) tek kolonilerden saflaştırılan BCA izolatları

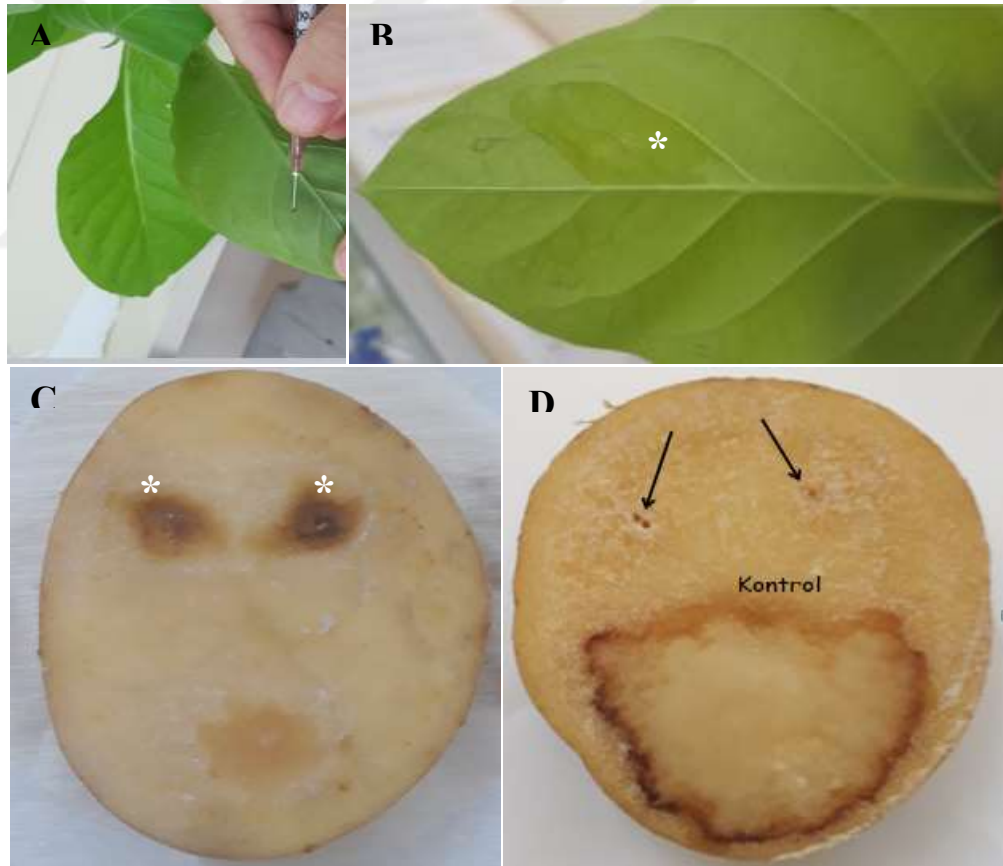
3.2.8. Aday Endofit ve Epifit BCA İzolatlarının Seçimi

Yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen tüm endofit ve epifit aday bakteri izolatlarının bitki patojeni olup olmadığını belirlemek amacıyla tütün bitkilerinde aşırı duyarlılık (HR) ve patates yumrularında yumuşak çürüklük testlerine tabi tutulmuştur (Şekil 3.9). Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi amacıyla önce NA besiyerinde taze olarak geliştirilen bakteri izolatları ile kontrol izolat olarak Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyon Merkezi'nden sağlanan ve bitki patojeni olduğu belirlenmiş olan *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*'ya ait izolat (Psp 12 izolatı) kültürlerinin steril 0.05 mM MgCl₂ tampon çözeltisi içinde yaklaşık olarak 10⁸ hücre/mL konsantrasyonda olacak şekilde süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan bu süspansiyonlar sağlıklı ve 8 haftalık olan genç tütün (*Nicotiana tobaccum*) bitkilerinin yapraklarına steril şırınga ile (damar aralarının alt bölgelerine denk gelecek şekilde) inokule edilmiştir (Şekil 3.9A). 24-48 saat sonra inokulasyon alanlarındaki bitki dokularında nekrotik lezyonlar şeklinde sonuç veren izolatlar tütün HR (+) olarak (fitopatojen), inokulasyon yapılan alanlardaki dokularda herhangi bir nekrotik lezyona neden olmayan izolatlar ise tütün HR (-) olarak (fitopatojen değil) değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

Tütün bitkilerinin yapraklarında yapılan aşırı duyarlılık testinde lezyon oluşturmayan endofit ve epifit bakteri izolatları için ayrıca patates yumrularında yumuşak çürüklük testi yapılmıştır (Şekil 3.7 C,D). Bu amaçla sağlıklı patates yumruları seçilerek bunlar önce çeşme suyu ile yıkanmış, daha sonra %1 çamaşır suyunda 1 dakika bekletilerek yüzey sterilizasyonları yapılmıştır. Ardından steril bir bistüri yardımıyla yumrular yaklaşık 2 cm kalınlığında dilimlere bölünmüş ve dilimler steril filtre kağıtları içeren saklama kapları içerisine yerleştirilmiştir. Ardından üst yüzeylerine Nutrient Agar besiyerinde taze olarak geliştirilen bakterilerin yaklaşık olarak 10⁸ hücre/mL yoğunluğunda hazırlanmış süspansiyonları damlatılarak steril kürdan yardımı ile dilim üzerine yayılmıştır. Denemede kontrol izolat olarak ise Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyon Merkezinden sağlanan ve tanılanması yapılmış olan *Pectobacterium caratovorum* subsp. *caratovorum* izolatı (Pcc5) kullanılmıştır. Bakteri inokule edilmiş dilimler 24 °C sıcaklıkta 48 saat bekletilmiş ve dilimler üzerindeki inokulasyon noktaları çürümeler yönünden değerlendirilmiştir. Dilimler üzerinde yumuşak çürüklük meydana gelmişse sonuç

pozitif, herhangi bir çürüme meydana gelmemişse negatif olarak değerlendirilmiştir. Deneme sonucu pozitif olarak saptanan izolatlar elenmiş bunlar sonraki çalışmalara dahil edilmemiştir.

Tütünde HR ve patates yumuşak çürüklük testinde negatif sonuç veren BCA izolatları insan/hayvan patojenleri olup olmadığını belirlemek amacıyla 37 °C’de gelişim testine tabi tutulmuştur. BCA izolatları önce NA besiyerine 3 fazda çizildikten sonra parafilm ile sarılmıştır. Daha sonra petriler 37 °C sıcaklığa ayarlanmış inkübatöre yerleştirilerek 72 saat gelişmeye bırakılmıştır. Bu süre sonrası petrilerde gelişme gösteren izolatlar pozitif olarak kabul edilmiş, gelişme göstermeyen izolatlar ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Tüm bu denemelerin sonucu olarak testlerde negatif olarak değerlendirilen endofit ve epifit bakteri izolatları, antifungal potansiyelleri bakımından değerlendirilmişlerdir.



Şekil 3.9. Aday antagonit bakteri izolatları için yapılan tütün yapraklarında aşırı duyarlılık (HR) ve patates dilimlerinde pektolitik aktivite testleri. (A) Bakteri izolatlarından hazırlanan süspansiyonların tütün yapraklarına inokulasyonu ve (B) inokulasyon sonrası oluşan hastalık belirtisi (*). (C) Patates dilimi üzerinde yumuşak çürüklük oluşturan (*) ve (D) oluşturmayan (ok) bazı izolatlar

3.2.9. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Tanılanması

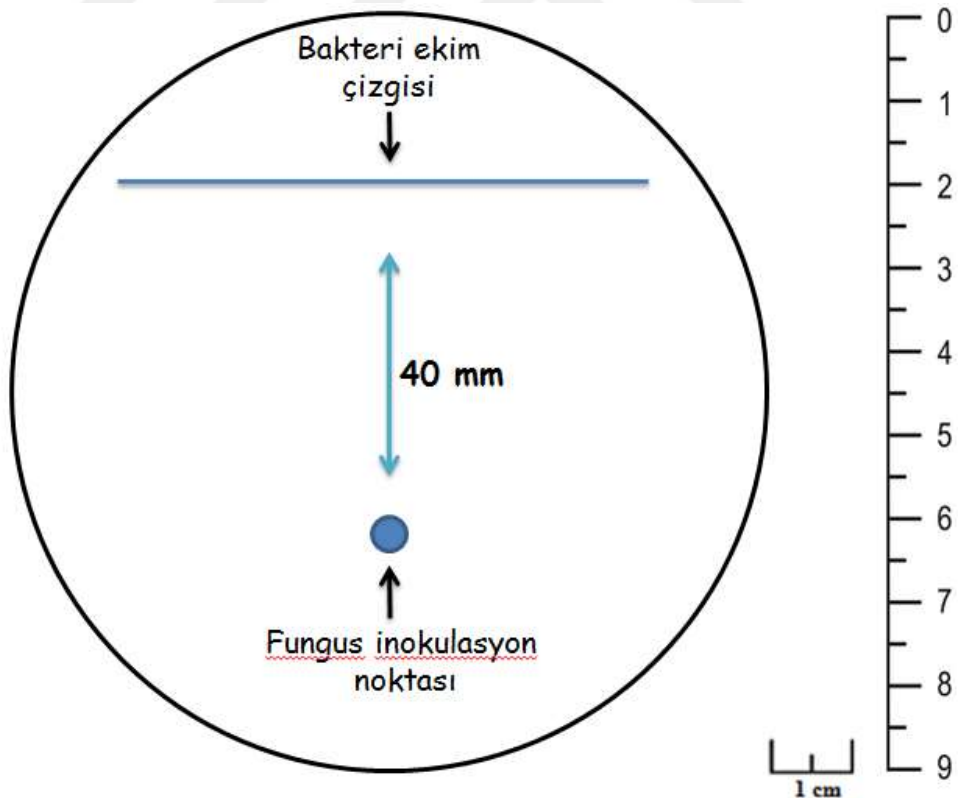
Bitki ve insan patojeni olmadığı teyit edilen aday endofit ve epifit bakteri izolatlarının tür düzeyinde tanıları, MALDI-TOF cihazı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Aktan ve Soylu, 2020).

İzolatların bu cihazda teşhisi amacıyla; TSA besiyerinde 1-2 günlük sürede geliştirilmiş bakteri izolatından kürdan yardımıyla bir miktar (5-10 mg) alınarak eppendorf tüplerine aktarılmıştır. Sonra bu tüpe 300 µl deiyonize steril su eklenip vortekslenmiştir. Vortekslenen tüplere ardından 900 µl saf etanol (Merck, Damstrad, Germany) eklenerek oluşan karışım 2 dakika süreyle 13.000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemiyle tüplerde dibe çöken bakteri hücrelerinin kullanılması için önce tüpün üst kısmındaki kalan sıvı (süpernatant) tüpten uzaklaştırılmış, ardından dipte kalan pellet tekrar 13.000 rpm’de, bu kez 1 dakika santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonrası tüpte etanol kalıntısı kalmışsa bu kalıntı mikropipetle uzaklaştırılmış ve elde edilen pellet oda sıcaklığında yaklaşık 5 dakika süreyle kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda pellete 30 µl %70’lik formik asit eklenmiş ve 1 dakika vortekslenmiştir. Vorteksleme sonrası tüpe bu kez aynı hacimde olacak şekilde (30 µl) acetonitril eklenmiş ve oluşan karışımdaki peletin çökmesi adına 13.000 rpm’de 2 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Bu işlem sonrası oluşan süpernatanttan 1 µl alınarak MALDI-TOF cihazının örnek plakasındaki noktalara iki tekerrürlü olarak eklenmiş ve devamında oda sıcaklığında yaklaşık 5 dakika kadar kurumaya bırakılmıştır. Sonrasında ise kurumuş örnekler üzerine 1 µl HCCA matrix (α -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) çözeltisi eklenmiş ve oda sıcaklığında tekrardan yaklaşık 3 dakika kurumaya bırakılmıştır. Bu işlemlerin ardından, numuneler uygun yöntemlerle örnek plakasına eklenmiş ve MALDI-TOF MS cihazına yüklenmiştir. Cihaz, örnekleri iyonize etmesi için gerekli olan minimum 500 lazer ışını ile çalıştırılmıştır. Elde edilen spektrumlar 2-20 kDa aralığında m/z (kütle/yük) oranları ile analiz edilmiştir. İzolatların kesin tür tanılamalarında ise cihazın BIOTYPER™ 1.1 yazılımı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) kullanılmış ve örneklerin tür teşhisleri yapılmıştır.

3.2.10. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının *Alternaria alternata*'nın Misel Gelişimini *in vitro* Koşullarda Engelleme Etkinliklerinin Belirlenmesi

Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından elde edilen aday endofit ve epifit bakteri izolatlarının Adıyaman ili Trabzon hurması üretim alanlarındaki en yaygın fungal etmen olan *A. alternata*'ya karşı misel gelişimini engelleme potansiyelleri, *in vitro* koşullarda, içerisinde PDA besi yeri bulunan 90 mm çapındaki petri kaplarında “*ikili kültür testi*” kullanılmak suretiyle araştırılmıştır (Atay, 2019).

Bu amaçla, bakteri izolatları önce düz bir çizgi şeklinde petri kabının kenarından 2 cm geriye çizilmiş ve 25°C’de 2 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra petrilere bu kez, bakteri ekim bölgesinin 4 cm uzağına denk gelecek şekilde fungal etmenin 5 günlük geliştirilmiş kültürlerinden alınan misel diski (6 mm çapında) yerleştirilmiştir (Şekil 3.10). İkili kültür testleri gerçekleştirilen petrilere parafilm ile sarılarak ardından 25 °C’de 7-10 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

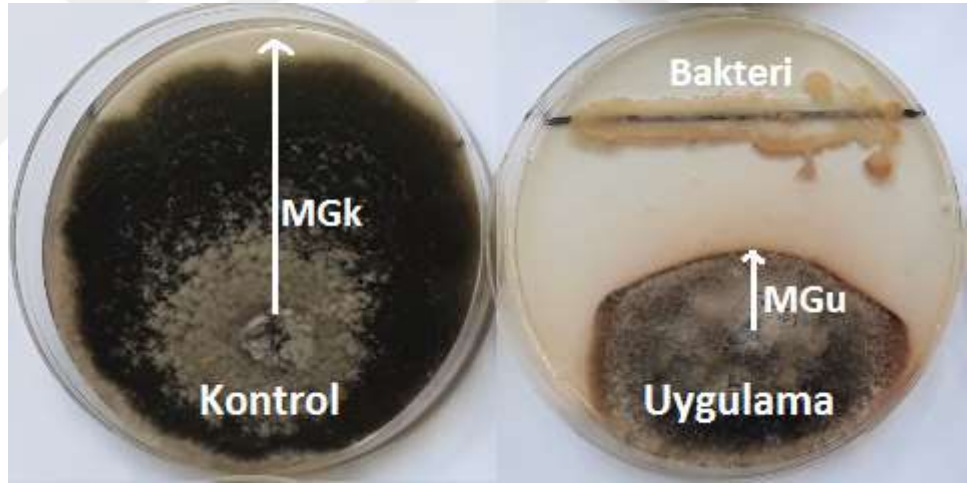


Şekil 3.10. *In vitro* ikili kültür testlerinde aday antagonist bakteri ve fungal hastalık etmeni *A. alternata* izolatının petriye uygulama şekli

Bu denemedeki kontrol petrilere ise herhangi bir bakteri izolatu çizilmeksizin sadece fungus misel diski yerleştirilmiştir. Kontrol petrisi fungal izolatu miseli tarafından tamamen kaplandıktan sonra (yaklaşık 7-10 gün) denemede ölçümler yapılmıştır (Şekil 3.11). Bu amaçla ikili kültür testleri uygulanmış petrilereki fungus diskinden bakteriye yönelen misel gelişimi (MG_u) ölçülmüş ve kontrol petri kaplarındaki misel gelişimine (MG_k) kıyaslanarak aşağıda yer alan % Abbott formülüne göre engelleme olarak hesaplanmıştır (Soylu ve ark., 2021).

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

Her bakteri-fungus kombinasyonu için ölçümler 3 farklı petri kabında gerçekleştirilmiş ve denemeler 2 farklı zamanda tekrarlanmıştır.

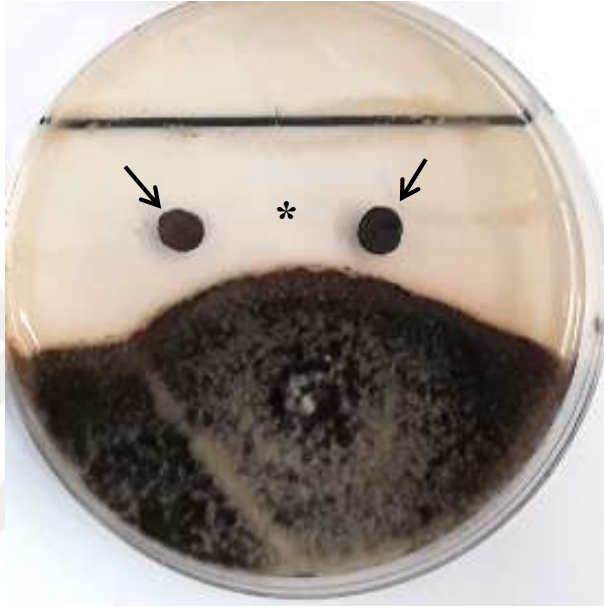


Şekil 3.11. Endofit ve epifit bakteri izolatlarının, *Alternaria alternata*'nın misel gelişimi üzerine olan antagonistik etkilerinin *in vitro* ikili kültür testiyle belirlenmesi

3.2.11. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Engelleme Bölgelerindeki Antifungal Etkinliklerinin Fungisidal ve Fungistatik Özelliklerinin Belirlenmesi

A. alternata'nın misel gelişimini engelleyen antagonist bakterilerin engelleme bölgelerindeki etkilerinin fungisidal veya fungistatik özelliklerinin belirlenmesi

amacıyla fungus miseli ile bakteri arasında kalan engelleme bölgesi üzerine 5 günlük sağlıklı fungal misel diskleri (6 mm çapında) yerleştirilmiş ve 4-5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.12). Fungus diskleri bu alanda herhangi bir gelişme göstermemiş ise antagonistin bu bölgede ürettiği antimikrobiyal bileşik(ler)in etkisi **fungisidal** (fungusu öldüren), gelişme göstermiş ise **fungistatik** (geçici olarak fungusu baskılayan) olarak kaydedilmiştir.

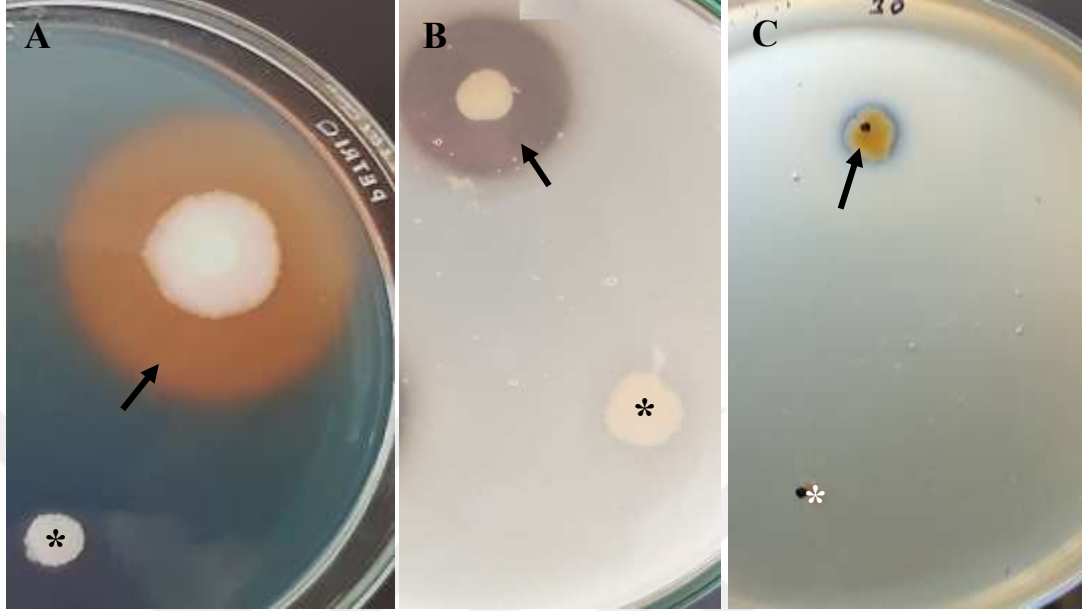


Şekil 3.12. Antagonist bakteri izolatlarının ürettiği bileşiklerin fungus misel gelişimi üzerindeki fungisidal/fungistatik özelliklerinin belirlenmesi. Sağlıklı misel disklerinin (ok) engelleme bölgesinde (*) gelişme göstermemesi etkinin fungisidal özellikte olduğunu göstermiştir

3.2.12. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Antagonistik ve Bitki Gelişimini Teşvik Etmekte Kullandıkları Mekanizmaların Belirlenmesi

BCA izolatlarının antagonistik (siderofor, proteaz enzimi, amonyak (NH_3) ve hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri) ve bitki gelişimini teşvik etmede (Plant Growth Promoting–PGP) rol oynayan etki mekanizmaları (fosforu indirgeme ve Indol Asetik Asit (IAA) üretimi) *in vitro* koşullarda uygun besi yerleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu mekanizmalardan siderofor üretimi Chrome Azurol S (CAS); proteaz enziminin üretimi yağı alınmış süt tozunu (Skimmed Milk) içeren Luria Broth Agar besiyeri (SMLBA), fosforu çözme (indirgeme) etkinlikleri ise trikalsiyum fosfat içeren

Pikovskaya Agar (PVK) besiyeri üzerinde oluşan temizleme bölgelerinin çaplarına göre kalitatif olarak belirlenmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. Endofit ve epifit bakteri izolatlarının (A) siderofor üretimi, (B) proteaz enzim aktivitesi ve (C) fosforu çözme potansiyellerinin belirlenmesi. BCA izolatların çevresinde ok ile belirtilen engelleme alanları meydana gelmiştir. Etkili olmayan izolatların (*) çevresinde ise herhangi bir engelleme alanı meydana gelmemiştir

3.2.12.1. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Siderofor Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday endofit ve epifit bakteri izolatlarının hem bitki gelişimi, hem de biyokontrol aktivitesi için önemli bir belirleyici faktör olan siderofor üretme potansiyelleri, Schwyn ve Neilands (1987) tarafından bildirildiği gibi Chrome Azurol S (CAS) boyası içeren besiyeri üzerinde belirlenmiştir. Bu amaçla bakteri izolatlarının 2 günlük taze kültüründen steril kürdan yardımıyla CAS agar besiyeri içeren 90 mm çapındaki petrilere nokta inokulasyon yöntemiyle inokulasyonlar yapılmış ve petriler 3-5 gün süreyle 26 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra bakteri kolonisinin çevresinde sarı-turuncu renkte temizleme bölgesi oluşmuşsa bakteri izolatu siderofor üretimi bakımından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.14A). Her bir izolat için **siderofor etkinlik indeksi** aşağıdaki formülde belirtildiği gibi, ortaya çıkan şeffaf

temizleme bölge çapı ile bakteri koloni çapının ölçülmesi ve birbirine oranlanması ile belirlenmiştir (Ullah ve ark., 2017).

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

Her bakteri izolatı için inokulasyonlar 1 petride 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve çalışma 2 farklı zamanda tekrarlanmıştır.

3.2.12.2. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Proteaz Enzimi Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının proteaz enzimi üretme potansiyelleri, %2 yağı alınmış süt tozu (Skimmed Milk) içeren Luria Broth Agar (SMLBA) besiyeri üzerinde belirlenmiştir (Perneel ve ark., 2007). Bu amaçla bakteri izolatlarının 2 günlük taze kültüründen steril kürdan yardımıyla SMLBA agar besiyeri içeren 90 mm çapındaki petrilere nokta inokulasyon yöntemi ile inokulasyon yapılmış ve petrilere 3 gün süreyle 26 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra bakteri kolonisinin çevresinde gelişen şeffaf temizleme bölgesi bakteri izolatının proteaz enzimi üretme potansiyeli bakımından pozitif olduğunu göstermiştir (Şekil 3.14B). Her bir izolat için **proteaz etkinlik indeksi** aşağıdaki formülde belirtildiği gibi, ortaya çıkan şeffaf temizleme bölge çapı ile bakteri koloni çapının ölçülmesi ve birbirine oranlanması ile belirlenmiştir (Ullah ve ark., 2017).

$$\text{Proteaz Etkinlik İndeksi} = \frac{\text{Temizlenen Bölge Çapı}}{\text{Bakteri Koloni Çapı}} \quad (3.5)$$

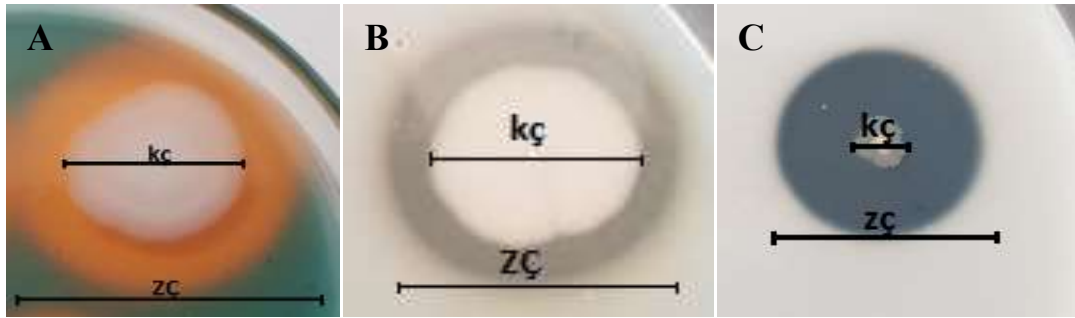
Her bakteri izolatı için inokulasyonlar 1 petride 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve çalışma 2 farklı zamanda tekrarlanmıştır.

3.2.12.3. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Fosforu Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının fosforu çözme potansiyelleri tricalcium phosphate içeren Pikovskaya Agar (PVK) besiyeri üzerinde belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2012). Bu amaçla bakteri izolatlarının 2 günlük taze kültüründen steril kürdan yardımıyla PVK agar besiyeri içeren 90 mm çapındaki petrilere nokta inokulasyon yöntemi ile ekimler yapılmış ve petrilere 7 gün süreyle 26 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra bakteri kolonisinin çevresinde ortaya çıkan şeffaf temizleme bölgesi bakteri izolatının fosforu çözme potansiyeli bakımından pozitif olduğunu göstermiştir (Şekil 3.14C). Her bir izolat için *fosforu çözme indeksi* aşağıdaki formülde belirtildiği gibi, ortaya çıkan şeffaf temizleme bölge çapı ile bakteri koloni çapının ölçülmesi ve birbirine oranlanması ile belirlenmiştir (Ullah ve ark., 2017).

$$\text{Fosforu Çözme Etkinlik İndeksi} = \frac{\text{Temizlenen Bölge Çapı}}{\text{Bakteri Koloni Çapı}} \quad (3.6)$$

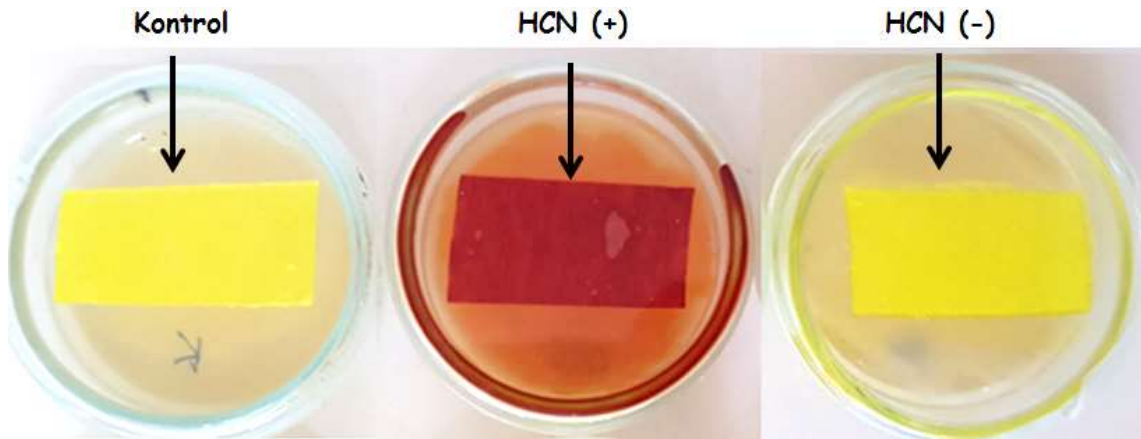
Her bakteri izolatı için inokulasyonlar 1 petride 3 tekerrür olarak gerçekleştirilmiş ve çalışma 2 farklı zamanda tekrarlanmıştır.



Şekil 3.14. Bakteri izolatlarının, (A) siderofor üretimi, (B) proteaz enzimi üretimi ve (C) fosforu çözme potansiyellerinin sırasıyla; CAS agar, SMLBA ve PVK agar besiyerlerinde belirlenmesi. İndeks değerleri, temizlenen şeffaf zon çapının (ZÇ) bakteri koloni çapına (kç) oranlanmasıyla hesaplanmıştır

3.2.12.4. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Hidrojen Siyanür (HCN) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının HCN (hidrojen siyanür) üretme potansiyelleri Bakker ve Schippers (1987)'de bildirilen yöntemle göre belirlenmiştir. Bu amaçla, içerisinde 4.4 gr/L glycine ihtiva eden 60 mm çapındaki petrilere dökülmüş TSA besiyerine, steril öze yardımıyla bakteri izolatlarının bir miktar 2 günlük taze kültürü, çizgi ekim yöntemi ile çizilmiştir. Ayrıca 0.5-1.0 ml pikrik asit/sodyum karbonat süspansiyonu (%0.5 pikrik asit (PA) + 2% sodyum karbonat (Na_2CO_3): 100 ml steril su+0.5 gr PA+2 gr Na_2CO_3) ile ıslatılan 1x3 cm boyutunda steril filtre kağıtları petri kapağının iç kısmına yerleştirilmiştir. Kontrol petrilere ise benzer şekilde filtre kağıtları yerleştirilmiş, ancak besi ortamına herhangi bir bakteri izolatı çizilmemiştir. Bu şekilde hazırlanmış petriler 3-5 gün süreyle 26 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra açık sarı/beyaz renkte olan filtre kâğıtlarının rengi kahverengi/turuncu ya da koyu kırmızıya dönüşmüşse, bakteri izolatı HCN üretimi bakımından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.15). Bununla birlikte oluşan renk değişiminin tonuna göre izolaların farklı miktarda HCN ürettiği kabul edilmiştir (açık kahverengi=zayıf, kahverengi=orta ve koyu kırmızı/kahverengi= güçlü HCN üreticisi olarak kabul edilmiştir).



Şekil 3.15. Bakteri izolatlarının glycine eklenmiş TSA besi yeri üzerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Filtre kâğıdının açık sarıdan koyu kahverengi-kırmızıya dönmesi, bakteri izolatı tarafından yüksek miktarda HCN üretiminin gerçekleştiğini göstermektedir

3.2.12.5. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Amonyak (NH₃) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının amonyak (NH₃) üretme potansiyelleri Nessler's Reagent çözeltisi ile saptanmıştır (Cappuccino ve Sherman, 1992). Bu amaçla, 2 günlük bakteri kültüründen steril kürdan yardımıyla bir miktar bakteri alınarak içerisinde steril 10 ml peptonlu su (Pepton Water, Merck, Darmstad, Germany) bulunan cam tüplere inoküle edilmiştir. Cam tüpler daha sonra 200 rpm hızda, 26 °C'e ayarlanmış inkübatörlü orbital çalkalayıcı'da 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası bakteri süspansiyonundan 1,5 ml alınarak eppendorf tüplere aktarılmış ve tüpler 13.000 rpm hızda 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan süpernatanttan 1 ml alınarak yeni eppendorf tüplerine aktarılmış ve devamında üzerlerine 50 µl Nessler çözeltisi ilave edilmiştir. Nessler çözeltisi ilavesi sonucu tüplerdeki besi yeri rengi açık sarıdan kahverengi-koyu sarı renge dönüşmüşse bakterinin amonyak ürettiği varsayılmıştır. Denemeler gözlemsel tekniklere dayalı olarak kalitatif şekilde değerlendirilmiş olup sonuçlar besiyeri renginin koyuluğu baz alınarak -, ±, +, ++, +++ şeklinde kaydedilmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.16. Farklı bakteri izolatlarının amonyak (NH₃) üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Amonyak üretimi sonrası besi yeri renginin açık sarıdan koyu sarı-kahverengine (soldan sağa) dönüşmesi

3.2.12.6. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

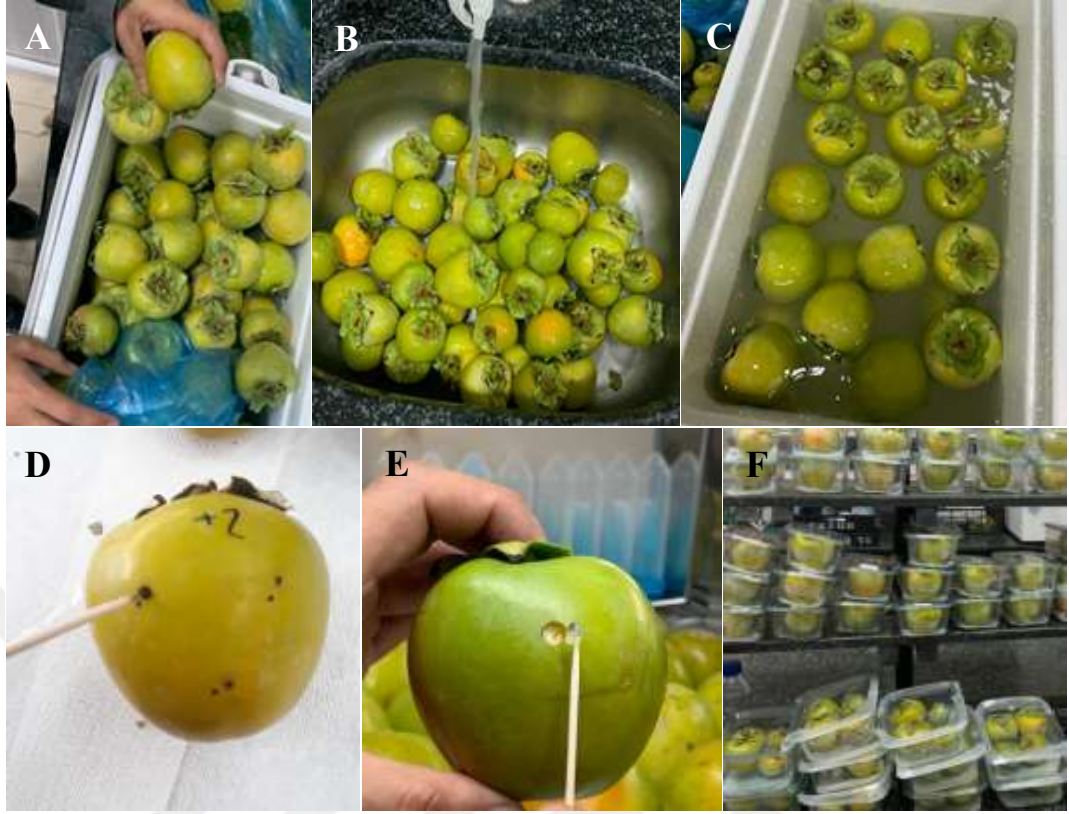
Bakteri izolatlarının IAA üretme potansiyelleri Salkowski yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Glickman ve Dessaux, 1995). Bu amaçla, içerisinde 3 mg/ml L-tryptophan barındıran 5 ml Luria-Bertani (LB) broth koyulmuş cam tüplere, önce 2 günlük bakteri kültürlerinden hazırlanmış 10^8 hücre/mL konsantrasyondaki bakteri süspansiyondan 500 µL koyulmuş, ardından tüpler 30 °C’de 200 rpm’e ayarlanmış inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Denemede L-tryptophan içermeyen sadece LB bulunan cam tüpler ise kontrol tüpleri olarak değerlendirilmiştir. İnkübasyon sonrası tüplerden 2 ml bakteri süspansiyonu alınarak eppendorf tüplere aktarılmış ve bu tüpler 5000 rpm hızda 30 dakika santrifüj edilerek partikülleri çöktürülmüştür. Tüpün üstünde kalan supernatant’dan 1 ml alınarak yeni eppendorf tüplerine aktarılmış ve üzerine yaklaşık 40 µl (2 damla) kadar fosforik asit eklenmiştir. Hazırlanan bu karışım daha sonra içerisinde 2 ml Salkowski çözeltisi (içeriği: 150 ml %98’lik H_2SO_4 , 250 ml distile steril su, 7.5 ml 0.5 M $FeCl_3 \cdot 6H_2O$) bulunan steril cam tüplere aktarılmış ve tüpler 25 °C’de karanlık ortamda 30 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası şayet izolatlarca IAA oluşumu gerçekleşmişse tüplerdeki çözeltinin rengi açık sarıdan kırmızı/pembe renklere dönüşmüştür (Şekil 3.17). Bu şekilde renk değişimi gözlenen solüsyonlardaki bakterilerce üretilen IAA değerleri, 535 nm dalga boyuna ayarlı UV-vis spektrofotometre (Perkin Elmer, Lambda 25, USA) kullanılarak saptanmıştır (Patten ve Glick, 2002). Elde edilen absorbans değerleri, standart IAA (Merck, Darmstadt, Germany) absorbans değerleri ile kıyaslanarak, bakteri izolatlarının ürettiği oldukları gerçek IAA miktarları (ppm=µg/ml) belirlenmiştir. Her izolat için denemeler 3 farklı tüpte gerçekleştirilmiş ve sonuçlar kaydedilmiştir.



Şekil 3.17. Bakteri izolatlarının tryptophane ihtiva eden Luria-Bertani besi yerinde IAA üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Farklı izolatlarca üretilen IAA yoğunluğuna bağlı olarak tüplerde sarı renkten kırmızı pembe renge olan renk değişimleri gerçekleşmiştir

3.2.13. Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Hastalık Belirtilerinin Çıkışının Engellenmesi Üzerine *in vivo* Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi

Aday antagonist bakteri izolatlarının il genelinde en yaygın rastlanan fungal hastalık etmeni *A. alternata*'ya karşı *in vivo* hastalıkları engelleme potansiyelleri, sörvey alanlarında en yaygın şekilde yetiştirilen ve aynı zamanda çalışmalarda hastalık etmenleri ve bakteri izolatlarının da izole edildiği 'Hachiya' çeşidi Trabzon hurmalarının hasat olgunluğuna yakın (henüz tam olarak olgunlaşmamış) sağlıklı, iri-orta boy meyveleri üzerinde değerlendirilmiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.18. Bakteri izolatlarının *A. alternata* üzerine olan yarı *in vivo* biyokontrol etkilerinin belirlenmesi. (A-C) Denemelerde kullanılmak üzere seçilen ‘Hachiya’ çeşidi sağlıklı Trabzon hurması meyveleri. (D-F) Farklı uygulama yapılan meyvelere misel diskinin yerleştirilmesi ve meyvelerin inkübasyonu

Farklı antagonist BCA izolatlarının yarı *in vivo* koşullarda hastalık belirtilerini çıkışını engellemeleri üzerine olan biyokontrol etkinliği “**koruyucu**” ve “**tedavi edici**” olmak üzere 2 farklı yöntemle araştırılmıştır.

(i) Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Hastalık Gelişimi Üzerine Olan “Koruyucu Etkisi”

Aday antagonist bakterilerin *in vivo* hastalık gelişimine olan koruyucu etkileri steril kürdan ve mantar delici kullanılması suretiyle 2 farklı inokulasyon yöntemi kullanılmak suretiyle belirlenmiştir (Şekil 3.18). Bu amaçla, farklı meyveler üzerinde inokulasyon bölgeleri belirlenerek bu bölgelere steril kürdan ile kürdan ucu büyüklüğünde (yaklaşık 1 mm) veya mantar deliciyle 6 mm çapında yaralar açılmıştır. Açılan yara yerlerine önce bakteri süspansiyonu (500 µl), 48 saat sonra ise fungal hastalık izolatı inokule edilmiştir. Kürdan ile açılmış yaraların üzerine kürdan ucu

dolusu misel, mantar delici ile açılmış yaraların üzerine ise 6mm çapıda besi ortamlı diskler yerleştirilerek inokulasyonlar yapılmıştır. İnokulasyon noktalarının üzerleri steril pamuk ve parafilm ile kapatılmıştır. Kontrol uygulamaları amacıyla seçilen meyveler üzerinde kürdan veya misel delici ile açılan yaralara sadece antagonist bakteri izolatlarının inokule edilmesi “negatif kontrol”, açılan yaralara steril distile su ve fungal izolatların inokule edildiği meyveler ise “pozitif kontrol” olarak kabul edilmiştir. İnokule edilmiş meyveler, tabanında steril su ile nemlendirilmiş steril kurutma kağıdı bulunan saklama kapları içerisine (1 litre), bir birleri ile temas etmeyecek şekilde yerleştirilmiştir.

(ii) Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Hastalık Gelişimi Üzerine Olan “Tedavi Edici” Etkisi;

Aday antagonist bakteri izolatlarının *in vivo* hastalık gelişimine olan tedavi edici etkileri koruyucu etkiye benzer yöntemlerle araştırılmıştır (Şekil 3.18). Bu amaçla sağlıklı Trabzon hurması meyveleri üzerinde açılan inokulasyon bölgelerine önce bakteri süspansiyonu (500 µl) inokule edildikten 1 saat sonra fungal hastalık etmeni izolatu inokule edilmiştir. Kürdan ile açılmış yaraların üzerine kürdan ucu dolusu misel, mantar delici ile açılmış yaraların üzerine ise 6mm çapıda besi ortamlı diskler yerleştirilerek inokulasyonlar yapılmıştır. İnokulasyon noktalarının üzerleri steril pamuk ve parafilm ile kapatılmıştır. Kontrol uygulamaları amacıyla seçilen meyveler üzerinde kürdan veya misel delici ile açılan yaralara sadece antagonist bakteri izolatlarının inokule edilmesi “negatif kontrol”, açılan yaralara steril distile su ve fungal izolatların inokule edildiği meyveler ise “pozitif kontrol” olarak kabul edilmiştir. İnokule edilmiş meyveler, tabanında steril su ile nemlendirilmiş steril kurutma kağıdı bulunan saklama kapları içerisine (1 litre), bir birleri ile temas etmeyecek şekilde yerleştirilmiştir.

Gerek koruyucu gerek tedavi edici etkilerinin belirlenmesi amacıyla bakteri/fungus izolatları uygulanmış meyveleri içeren kaplar daha sonra 16:8 aydınlık/karanlık fotoperiyotta, 24 °C sıcaklığa ayarlanmış inkübatörlere alınarak 14 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda inokulasyon noktalarında ortaya çıkan çürüme şeklindeki lezyonların alanlarının ölçümleri yapılarak negatif ve pozitif kontrol uygulamaları ile karşılaştırmaları yapılmış, böylece bakterilerin yarı *in vivo* koruyucu/tedavi edici etkileri saptanmıştır. Bu doğrultuda bakteri izolatlarının Trabzon

hurması meyvelerinin inokulasyon alanlarında lezyon gelişimini engellemede gösterdikleri biyokontrol etkileri aşağıdaki % Abbott Formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Lezyon Gelişimini Engellenme (LGE)Oranı (\%)} = \left(\frac{L\check{C}k - L\check{C}u}{L\check{C}k} \right) * 100 \quad (3.7)$$

$L\check{C}_k$ = Kontrol meyvelerindeki lezyon çapı, $L\check{C}_u$ = Koruyu veya tedavi edici olarak bakteri izolatu uygulanmış meyvelerdeki lezyon çapı

3.2.14. Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Çalışmalardaki tüm *in vitro* ve *in vivo* denemeler, tesadüf parselleri deneme desenine göre oluşturulmuştur. Bakterilerin antagonist etkileri ve bitki gelişimini destekleyen biyoetkinlik değerlerinin belirlenmesi, ayrıca *in vitro* ikili kültür denemeleri her bakteri izolatu için 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve tüm denemeler 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Denemelerden elde edilen sayısal değerler (*in vitro*'daki misel gelişim uzunlukları, antagonistlerin biyoetkinlik indeks değerleri, *in vivo* denemelerde meyvelerdeki 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 BCA bakteri izolatlarının antifungal etkinlikleri arasındaki farklılık Duncan's Çoklu Karşılaştırma Testi ile analiz edilmiştir ($P \leq 0.05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Hastalık Sörveyi

Adıyaman ilinde yer alan Trabzon hurması bahçelerindeki fungal hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik yapılan sörveyler, Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) bitkisel üretim verilerinden elde edilen meyve üretim miktarları doğrultusunda 2021-2022 yıllarında, il genelindeki Trabzon hurması üretim alanlarını temsil edecek şekilde başta Gölbaşı olmak üzere Besni, Merkez, Kahta, Tut ve Çelikhan ilçelerinde gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.1). Bahçe sahipleriyle sörveyler öncesinde iletişime geçilerek örnek alımı için uygun zamanlar belirlenmiş olup hastalık etmenlerinin belirleneceği her bahçedeki sörvey çalışmaları, bitkinin farklı fenolojik dönemleri olan; (i) çiçeklenme zamanı, (ii) çiçeklenme sonrası meyvelerin 10-20 mm çapa eriştiği dönem, (iii) meyvelerin hasat iriliğine ulaştığı ancak henüz tam olgunlaşmadığı dönem ve (iv) meyvelerin hasat olgunluğuna eriştiği dönemler olmak üzere yılın 4 farklı zaman dilimi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.1’de tarihleri belirtildiği üzere her bir bahçede yapılan sörveyler iki yıla (2021-2022) yayılacak şekilde toplamda 8 kez yapılmıştır.

Çizelge 4.1’de görüleceği üzere Trabzon hurması bitkilerinden hastalıklı bitki örneklemeleri farklı zaman aralıklarında yapılmıştır. Grigorov (1974)’den modifiye edilmiş sörvey metoduna göre gerçekleştirilmiş bu çalışmalar kapsamında 6 ilçedeki 28 bahçede, toplamda 5.429 ağacı kaplayan plantasyonlarda sörveyler gerçekleştirilmiştir. Her bir bahçede yer alan toplam ağaç sayısı göz önünde bulundurularak gerçekleştirilen sörvey çalışmaları doğrultusunda Besni’de 6 bahçede 225 ağaç, Gölbaşı’nda 15 bahçede 807 ağaç, Merkez’de 3 bahçede 92 ağaç, Kahta’da 2 bahçede 68 ağaç, Tut’da 1 bahçede 36 ağaç ve Çelikhan’da 1 bahçede 35 ağaç adet olmak üzere il genelinde toplamda 1263 adet Trabzon hurması ağacı, hastalık belirtisi varlığına göre kontrol edilmiş ve bu ağaçların çeşitli hastalık belirtisi gösteren kısımlarından örnekler alınmıştır.

Çizelge 4.1. Adıyaman ili Trabzon hurması bahçelerinde farklı tarihlerde yapılan bitki hastalık sürveyleri ve sürvey yapılan bahçeler

Bahçe no	Sürvey yapılan ilçe	Lokasyon/ Mevkii	Koordinat	Sürveyler ve Tarihleri				Bahçedeki toplam ağaç sayısı	İncelenen ağaç sayısı
				1.-5.	2.-6.	3.-7	4.-8.		
1	Besni	Şambayat	N 37° 40' 58.296'' E 38° 02' 27.834''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	108	40
2	Besni	Şambayat	N 37° 40' 56.8848'' E 38° 02' 31.9812''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	145	40
3	Besni	Şambayat	N 37° 40' 55.092'' E 38° 02' 34.8144''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	103	40
4	Besni	Akpınar	N 37° 45' 07.956'' E 37° 45' 49.7988''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	55	25
5	Besni	Akpınar	N 37° 45' 07.1208'' E 37° 45' 48.8592''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	148	40
6	Besni	Akpınar	N 37° 45' 23.8068'' E 37° 44' 04.5924''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	107	40
7	Gölbaşı	Karaburun	N 37° 45' 33.9552'' E 37° 35' 27.834''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	490	50
8	Gölbaşı	Karaburun	N 37° 44' 50.7732'' E 37° 35' 37.482''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	553	83
9	Gölbaşı	Bağlarbaşı	N 37° 45' 31.3272'' E 37° 33' 43.6392''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	558	85
10	Gölbaşı	Bağlarbaşı	N 37° 45' 22.752'' E 37° 32' 18.1428''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	205	50
11	Gölbaşı	Bağlarbaşı	N 37° 45' 36.6048'' E 37° 33' 11.3148''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	70	25
12	Gölbaşı	Aşağı Azaplı	N 37° 45' 28.7748'' E 37° 32' 46.9932''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	338	50
13	Gölbaşı	Aşağı Azaplı	N 37° 46' 38.7768'' E 37° 37' 37.866''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	256	50
14	Gölbaşı	Azaplı	N 37° 44' 46.374'' E 37° 30' 54.342''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	156	50

Çizelge 4.1. (Devamı) Adıyaman ili Trabzon hurması bahçelerinde farklı tarihlerde yapılan bitki hastalık sürveyleri ve sürvey yapılan bahçeler

15	Gölbaşı	Azaplı	N 37° 44' 48.334'' E 37° 30' 50.942''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	175	50
16	Gölbaşı	Azaplı	N 37° 45' 23.5584'' E 37° 44' 06.3888''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	220	50
17	Gölbaşı	Çatalağaç	N 37° 40' 32.3904'' E 37° 31' 33.492''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	147	40
18	Gölbaşı	Tecilli	N 37° 46' 28.0488'' E 37° 36' 00.0828''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	105	40
19	Gölbaşı	Tecilli	N 37° 46' 18.0228'' E 37° 36' 06.8652''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	170	50
20	Gölbaşı	Yukarı Çöplü	N 37° 45' 23.5584'' E 37° 44' 06.3888''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	626	94
21	Gölbaşı	Balkar	N 37° 44' 12.0228'' E 37° 34' 11.7732''	Nisan 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Kasım 2021-2022	117	40
22	Merkez	Kınık	N 37° 48' 08.1'' E 38° 25' 58.1''	Mayıs 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Aralık 2021-2022	195	50
23	Merkez*	Bağdere	N 37° 44' 29.4108'' E 38° 13' 03.3528''	Mayıs 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Aralık 2021-2022	28	25
24	Merkez*	Oluklu	N 37° 50' 07.836'' E 38° 12' 58.77''	Mayıs 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Aralık 2021-2022	17	17
25	Kahta*	Horik	N 37° 47' 34.638'' E 38° 38' 36.1284''	Mayıs 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Aralık 2021-2022	18	18
26	Kahta	Çıralık	N 37° 47' 00.672'' E 38° 34' 26.0832''	Mayıs 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Aralık 2021-2022	248	50
27	Tut*	Merkez	N 37° 47' 45.9852'' E 37° 54' 01.5336''	Mayıs 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Aralık 2021-2022	36	36
28	Çelikhan*	Merkez	N 38° 01' 57.702'' E 38° 14' 04.9488''	Mayıs 2021-2022	Haziran 2021-2022	Eylül 2021-2022	Aralık 2021-2022	35	35
Toplam								5.429	1.263

*: Bu alanda büyük Trabzon hurması plantasyonları olmadığından dolayı özellikle bir birine yakın mesafedeki ev bahçesi/bahçe içlerine vs. dikilmiş dağınık haldeki hurma ağaçları tespit edilerek bunların hepsi tek bir bahçe olarak kabul edilmiş ve sürvey çalışmaları belirlenen bu ağaçlarda gerçekleştirilmiştir

Trabzon hurması bahçelerinde yapılan sörveyler sırasında incelenen ağaçların dal/sürgün, yaprak ve meyvelerinde ağırlıklı olarak fungal etmenlerden kaynaklı olduğu düşünölen tipik hastalık belirtileri (yaprak ve meyve yanıklıkları, dal kurumaları vb.) seçilmiş, ancak fungal kaynaklı olma ihtimaline karşı tipik olmayan belirtilerden de (muhtemelen güneş yanığı ve besin noksanlığından kaynaklı meyve/yapraklardaki anormallikler) örnekler alınarak laboratuvara getirilmiştir. Çiçek, kök ve kök boğazı gibi ağaçların diğör aksamalarında ise tipik hastalık oluşumları veya bitkinin normal seyrini bozacak herhangi bir durumla karşılaşılmadığından ötürü bu kısımlardan örnekleme yapılmamıştır.

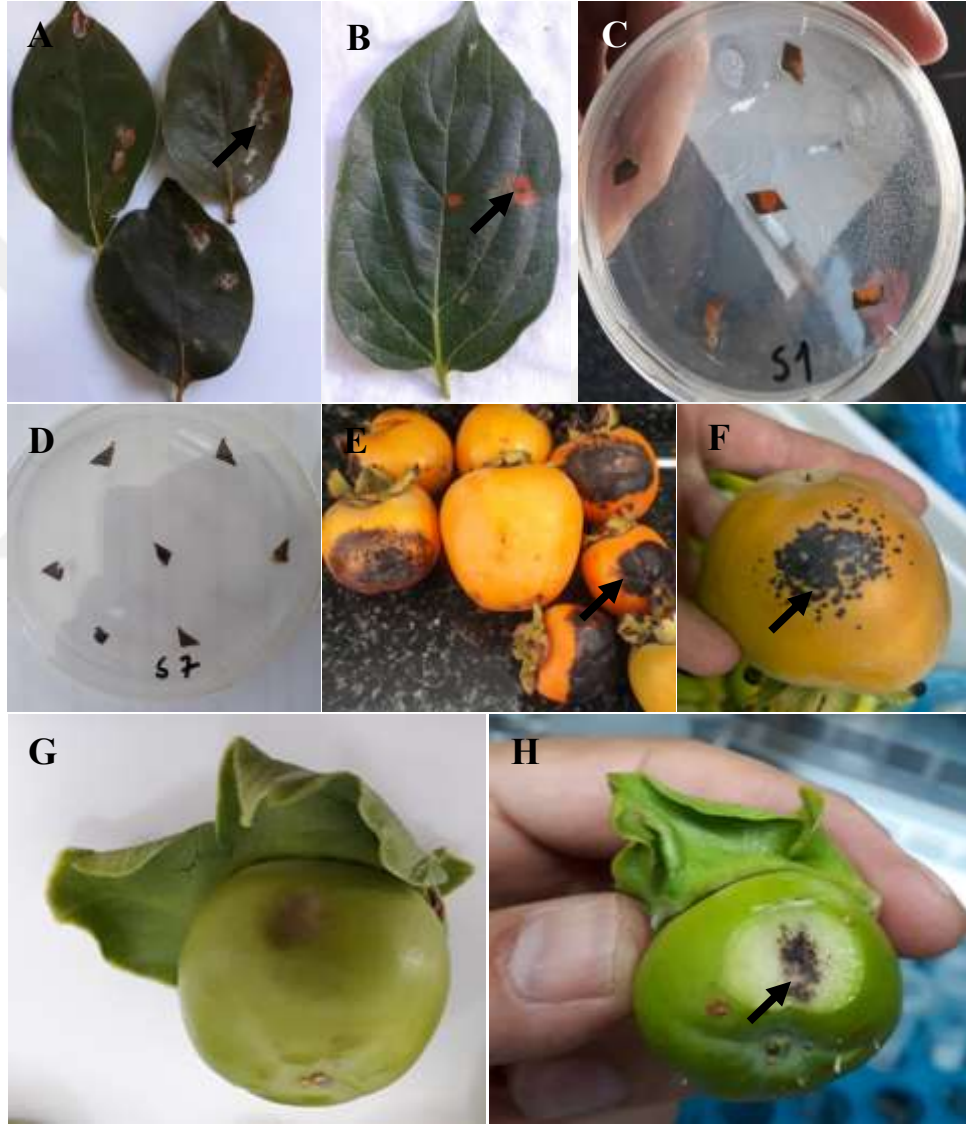
Her bir numunenin etiket bilgilerine örnekleme tarihi, konum, bitkinin çeşidi, örneğin alındığı bahçe sahibinin bilgileri ve bahçenin sulama koşulları gibi bilgiler kaydedilmiştir. Genel olarak yapılan makroskobik gözlemlerde örneklenen bitki kısımları üzerinde yer alan hastalık etmenleri tam şekilde belirlenmemiş olsa da bu belirtilerin numunelerdeki rastlama sıklıkları kaydedilmiştir. Yapılan bahçe kontrolleri sırasında hastalık şüphesi taşıyan belirtilerin daha çok meyve ve yapraklarda görüldüğü, nadiren de olsa sürgün/dal gibi odunsu dokularda mevcut olduğu görölmüştür (Şekil 4.1). Bunların aksine kök, kök boğazı ve gövde kısımlarında herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır.



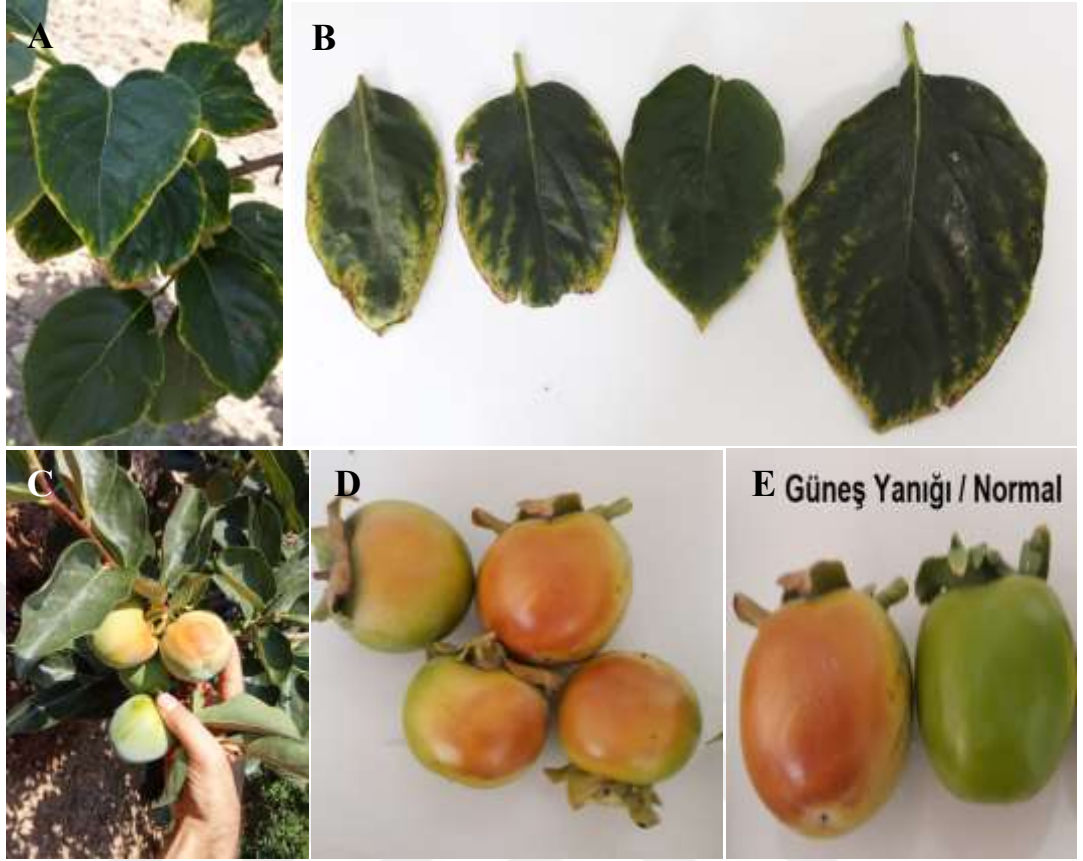
Şekil 4.1. (A) Adıyaman ili Gölbaşı ilçesinde yer alan bir Trabzon hurması bahçesi. Farklı Trabzon hurması bahçelerinde yapılan sörvey çalışmaları sonucu bazı ağaçların yaprak (B), meyve (C) ve sürgünlerinde (D,E) gözlemlenen tipik hastalık belirtileri (ok)

Fungus kaynaklı olup olmadığı ayırt edilmeksizin hastalık belirtisi olarak seçilen birçok belirtiden yapılan izolasyonlardan çok sayıda türe ait fungal izolatlar elde edilmiş olmakla birlikte özellikle yaprak/meyvelerde ilk bakışta tipik fungal kaynaklı hastalık belirtisi gibi görülen bazı örneklerden ise PDA besi ortamında yapılan tekrarlı izolasyonlara rağmen herhangi bir fungus gelişimi meydana gelmemiştir (Şekil 4.2). Bunların yanı sıra bazı bahçe/ağaçlarda besin elementi eksikliği olabileceği düşünülen yapraklara, çok sayıda bahçede ise özellikle güneş yanığından etkilenmiş meyvelere denk gelinmiştir (Şekil 4.3). Söz konusu bu meyveler hakkında üreticiler ile fikir alış

veriřleri yapıldığında bu meyvelerin piyasa deęerlerinin saęlıklı olanlara kıyasla oldukça dūřuk olduęu ve gūneř yanığından kaynaklı oluřan zarardan ciddi oranda muzdarip oldukları dile getirilmiřtir. Her ne kadar fungal kaynaklı bir sorun olarak tespit edilmemiřse de Adıyaman ilinde Trabzon hurması meyvelerinde gūneř yanığından ileri gelen sorunlara cōzūm arařıylarına gidilmesinin ve konu ūzerine detaylı arařtırmalara ihtiyaç duyulduęu gōzlenmiřtir.



şekil 4.2. Hastalık řūphesiyle seēilen ancak PDA besi ortamında yapılan tekrarlı ve farklı zamanlı izolasyon cālıřmalarına rağmen besi ortamında herhangi bir misel gelişimi gōzlenmeyen yaprak ve meyve belirtileri.



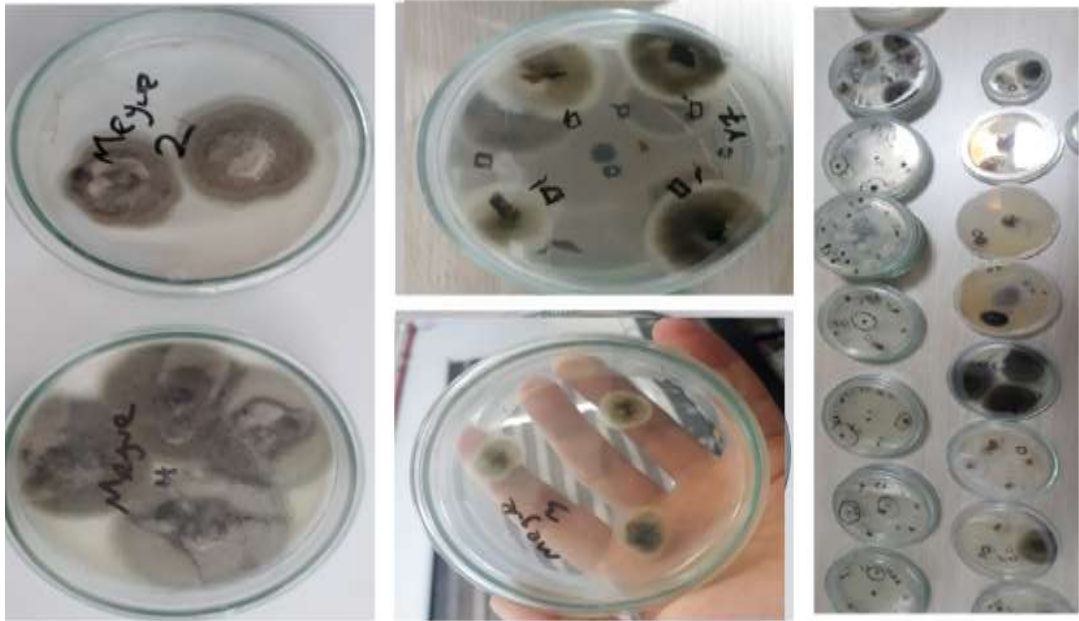
Şekil 4.3. (A,B) Muhtemelen besin elementi noksanlığına sahip Trabzon hurması yaprakları ve (C-E) güneş yanığının meyvelerde meydana getirdiği belirtiler. Fungal türlerin (veya fırsatçı patojenlerin) gelişme ihtimaline karşı bu tür yaprak ve meyve belirtilerinden de benzer yöntemlerle izolasyonlar yapılmış ancak besi ortamları üzerinde herhangi bir misel gelişimine rastlanmamıştır

4.2. Hastalık Belirtileri Gösteren Trabzon Hurması Ağaçlarından Fungal İzolatların Elde Edilmesi

Trabzon hurması bahçelerinde gerçekleştirilen sorvey çalışmaları sonucu fungal hastalık etmenlerinin ağaçların meyve, yaprak ve/veya sürgünlerde çeşitli belirtiler meydana getirdikleri görülmüştür. Yapraklarda yanıklıklar, meyvelerde çürüklüler ve sürgünlerin iletim demetlerinde meydana gelen enfeksiyonlar sonucu sürgünün kısmen veya tamamen kuruması, genel olarak gözlenen belirtiler olmuşlardır (Şekil 4.1). Tipik hastalık belirtisi gösteren meyvelerde oluşan çürümeler koyu kahverengi-siyah renkte olup bu meyveler ortadan ikiye bölündüğünde yüzeyde görülen çürümelerin enfeksiyonun şiddetine göre meyvenin iç kısımlara da ilerlediği gözlenmiştir. Sürgün/dal belirtilerinin de genel olarak sürgün/dalların iç kısımlarında iletim

demetlerinin siyahlaşmasına ve enfekteli sürgün/dalların kurumasına neden olduğu görülmüştür. Sörveyler esnasında gözlenen tüm belirtilerden yapılan izolasyon çalışmaları sonrası farklı türlere ait toplamda 438 adet fungal izolat elde edilmiştir. Söz konusu belirtilerden bazılarının önceki çalışmalarda da bildirildiği üzere Trabzon hurmasında meydana gelen hastalık belirtileri ile benzer oldukları görülmüştür. Nitekim meyvelerden izole edilmiş *Alternaria alternata*'nın meyvelerde hasat sonrası depolama aşamasında meyve yüzeylerinde siyah leke ve çürümelere (Palou ve ark., 2012; Palou ve ark., 2015), odunsu dokulardan izole edilmiş *Neoscytalidium novaehollandiae* ise konukçu bitkilerin dallarında geriye doğru ölüm, gövde kanseri, erken meyve dökülmesi ve meyvelerde çürüme simptomlarına neden olduğu bildirilmiştir (Ören ve ark., 2020).

Ağaçların farklı kısımlarından alınan örneklerden yapılan izolasyon çalışmaları sonrası petri kaplarında genellikle bir türe ait olduğu tahmin edilen misel gelişmeleri gözlenmiş ve bu tür petrilereki kültürlerin saflaştırmalarında bir izolat seçilmiştir. Ancak bazı petrilere birden fazla farklı türe ait olabileceği düşünülen misel gelişmeleri gerçekleşmiş, bu durumda farklı olduğu düşünülen her bir izolat ayrı ayrı seçilerek saflaştırma yapılmıştır (Şekil 4.4). İzolasyon çalışmaları sonucu elde edilen tüm fungal isolatlar, tanı-teşhis ve patojenisite çalışmaları yapılncaya kadar +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.4. Hastalık belirtisi gösteren bitki örneklerinden yapılan izolasyon çalışmaları sonrası petrilere gelişen tek veya farklı türlere ait olduğu düşünülen bazı isolatlar



Şekil 4.5. İzolasyonlar sonrası, farklı koloni morfolojisine sahip olduğu gözlenen bazı izolatlar. Elde edilen izolatlara ait koloni/mikroskop görüntüleri ve bilgiler kayıt altına alınarak bunların saf kültürleri +4 °C’de sonraki denemelerde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir

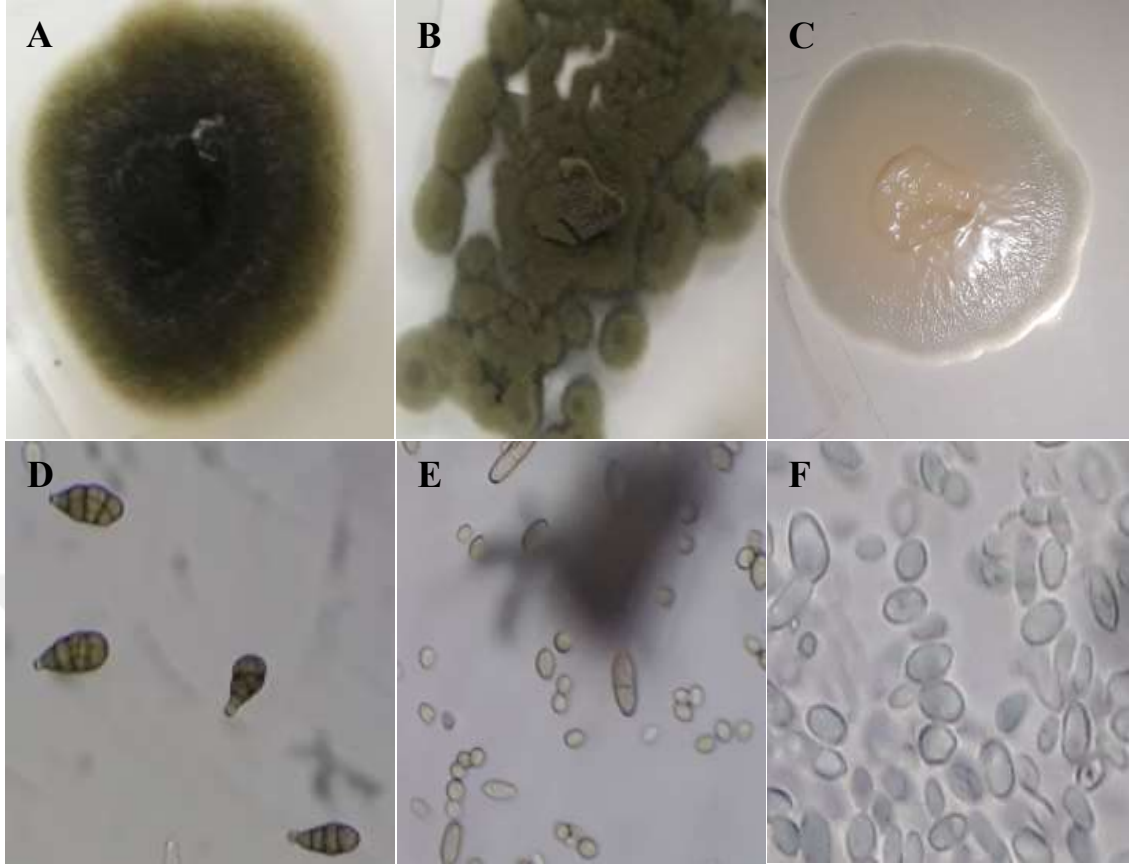
4.3. İzolasyonlar Sonrası Elde edilen Fungal İzolatların Morfolojik Olarak Tanımlanmaları ve Bunlardan Tek Spor İzolatların Elde Edilmesi

Trabzon hurması bahçelerinde yapılan sörveylerle ağaçların çeşitli kısımlarından hastalık şüphesiyle alınan örneklerden PDA besi ortamına yapılan izolasyon çalışmaları sonrası toplam 438 adet fungal izolat elde edilmiştir. Bu izolatların besi ortamında koloni gelişimleri ve spor oluşturma durumları incelenmiş, ayrıca bunların türlere özel olarak oluşturabildikleri özel yapıları (misel gelişimi, rengi, fungus konidisi, hif şekilleri vb.) incelenerek bu doğrultuda ön tanımlamaları gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.6). Yapılan incelemeler sonrası koloni gelişimi ve morfolojik yapıları göz önünde bulundurularak bunlar gruplandırılmış, sörvey yapılan her bölgeyi/türü temsil edecek sayıda izolat

sonraki aşamalarda çalışılmak üzere seçilmiştir. Yaprak ve meyve yanıklıkları, meyve çürüklüğü ve iletim demetleri kurumuş/siyahlaşmış sürgün/dallardan yapılan izolasyonlardan elde edilen izolatların; kültür gelişimi, sporulasyon ve misel yapıları gibi morfolojik özelliklerine göre *Alternaria alternata*, *Epicoccum* sp., *Cladosporium* sp., *Aureobasidium pullulans*, *Neosctalidium dimidiatum* ve *Penicillium* sp. türlerinin ön tanılamaları makroskobik ve mikroskobik olarak yapılmıştır. Bununla birlikte spor oluşturan izolatlar için, su agarda tek sporlardan çimlenen hifler alınarak bunlar içerisine antibiyotik eklenmiş yeni PDA besiyeri içeren petrilere aktarılmış ve böylece tek bir spordan geliştirilmiş olan izolatlar elde edilmiştir. Bu şekilde gelişen izolatlar uzun süreli muhafazaları amacıyla kuru ve steril edilmiş filtre kâğıtları üzerinde geliştirildikten sonra bir zarf içerisine alınarak -20°C’de soğutucuya alınmıştır.

Petrilerde gelişen ve oldukça sık karşılaşılan *A. alternata* (Simmons, 2007), *Cladosporium* sp. (Schubert ve ark., 2007; Abdel-Motaal ve ark., 2009), *Aureobasidium pullulans* (Yalage Don ve ark., 2020) morfolojik özelliklerine bakılarak yapılan incelemede ışık mikroskobu altındaki tipik spor/hif yapıları görülmüştür (Şekil 4.6). Bunlar dışındaki diğer türler benzer şekilde spor ve hif yapılarının ait oldukları tür veya cinslerin belirlenmesi adına ışık mikroskobunda incelenmiş ve incelemeler sonucu gözlenen yapılar kaydedilmiştir.

Sörveylerde incelenen Trabzon hurması ağaçlarının meyve ve yapraklarından alınan örnekler için yapılan izolasyonlar çalışmaları sonrası *A. alternata* olduğu belirlenen çok sayıda izolatın PDA besi yerinde konidi, hif ve koloni morfolojilerine göre ön tanıları yapılmış (Simmons, 2007), bu türe ait PDA besi yerlerinde oluşan fungusa özel morfolojik yapılar ışık mikroskobu altında detaylıca incelenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Morfolojik olarak tanılması yapılan sırasıyla; (A) *Alternaria alternata*, (B) *Cladosporium* sp., (C) *Aureobasidium pullulans* izolatlarının koloni görünüşleri ve (D-F) sırasıyla fungal etmenlerin sporlarına ait görüntüler

Yapılan izolasyon çalışmaları sonuçlarına göre en sık rastlanan fungus türü olarak belirlenen *A. alternata* geniş konukçu bitki dizisine sahip fitopatoloji açısından önemli bir türdür. Genellikle konukçusu olan bitkilerin hasat öncesi dönemlerinde yeşil aksam ve meyvelerde sorun olan bu tür, mücadele edilmediği takdirde hasat sonrası depolama aşamasında da ciddi ürün kayıplarına yol açabilmektedir. Enfekte ettiği konukçu türüne bağlı olarak bu patojenin neden olduğu hastalıklar için farklı isimler kullanılmakla beraber Trabzon hurmasında daha çok meyvelerde yaptığı zarar önemlidir ve bu nedenle meyve kayıplarını belirten çeşitli isimler bu patojenin Trabzon hurmasına meydana getirdiği hastalıklar için kullanılır. Sörveylerde Trabzon hurması ağaçlarının meyve ve yapraklarından alınan örnekler için yapılan izolasyonlar çalışmaları sonrası *A. alternata* olduğu belirlenen çok sayıda izolat için PDA besi yerinde oluşan konidi, hif ve koloni morfolojilerine göre ön tanıları yapılmış (Simmons, 2007), bu türe ait PDA besi yerlerinde oluşturulan fungusa karakteristik özellikler ışık mikroskobu altında

detaylıca incelenmiştir (Şekil 4.6). Türkiye'nin önemli Trabzon hurması üretim alanlarının yer aldığı Hatay ilinde yapılan bir çalışmada, depolama aşamasında hurma meyvelerinde hasat sonrası çürümelere sebep olan patojen olarak *Alternaria alternata* rapor edilmiştir (Kurt ve ark., 2010).

4.4. Trabzon Hurması Bahçelerinden İzolen Edilen Fungal Türler ve Yaygınlıkları

Sörvey çalışmalarında hastalıklı olduğu düşünülen bitkilerden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen ve morfolojik olarak ön teşhisleri yapılan etmenlerin dağılımı ve yaygınlıkları değerlendirilmiştir. Tüm sörvey çalışmaları sonrası incelenen bütün bahçelerdeki farklı hastalık belirtisi olarak düşünülen belirtiler fotoğraflanmış ve bahçelere göre yaygınlıkları kayıt altına alınmıştır. Bu belirtilerden yapılan izolasyonlar sonucunda besi ortamlarından toplam 438 adet fungal izolat elde edilmiş, bu izolatların ait oldukları tür ve sayılar ise Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Elde edilen 438 adet fungal izolatın bir kısmının Trabzon hurmasında patojen olmadığı sonraki çalışmalarla belirlenmiş olup tüm izolatlar için yapılan morfolojik ve bazıları için yapılmış moleküler teşhis çalışmaları neticesinde bunların tür bazında dağılımlarına bakıldığında patojen olarak belirlenen en yaygın türün 172 izolat ile *Alternaria alternata* olduğu belirlenmiştir. *A. alternata*'nın dışında patojen olarak belirlenen diğer türler ise *Cladosporium herbarum* (38 izolat), *Neoscytalidium dimidiatum* (28 izolat) ve *Curvularia spicifera* (8 izolat) şeklinde sıralanmışlardır. Genellikle hasat sonrası dönemde olgunlaşmış meyvelerde gelişebilen ve yapılan izolasyonlarda besi ortamlarından izole edilen diğer patojenler ise *Botrytis cinerea* (26 izolat), *Rhizopus stolonifer* (24 izolat), *Aspergillus flavus* (18 izolat) ve *Penicillium digitatum* (14 izolat) olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2). İzolasyon ve devamındaki tanılama çalışmaları sonrası *Aureobasidium pullulans*, *Stemphylium vesicarium*, *S. eturmiunum*, *Penicillium roqueforti*, *Epicoccum nigrum*, *Diatrype* spp., *Arthrimum phaeospermum*, *Alternaria infectoria* ve *Chaetomium* spp. olarak belirlenen türlere ait izolatların yapılan patojenisite testleri sonrası Trabzon hurmasında patojen olmadıkları tespit edilmiş olmakla birlikte söz konusu türlere ait izolatların sayısı toplamda 110 adet olarak belirlenmiştir.

Tüm sonuçlar özetle değerlendirildiğinde; İzolasyonlar kapsamında 17 farklı türe ait toplamda 438 izolat elde edilmiştir. Elde edilen izolatların büyük kısmı *A. alternata* türüne ait olup, tüm izolatlar arasında %25'nin ise patojen olmayan türlere ait oldukları saptanmıştır.

Çizelge 4.2. Adıyaman ilinde yer alan farklı Trabzon hurması bahçelerinde yapılan sörvey çalışmaları sonrası hastalıklı bitki oranı (%), örnek alınan ağaç sayısı (adet) ve elde edilen izolat sayılarının ilçelere göre dağılımı

	İlçeler					
	Besni	Gölbaşı	Merkez	Kahta	Tut	Çelikhan
BAS (adet)	666	4186	240	266	36	35
İAS (adet)	225	807	92	68	36	35
ÖAS (adet)	49	202	29	17	9	7
HAS (adet)	30	173	11	9	5	4
HAY (%)	13.13	21.43	11.96	13.23	13.88	11.42
İB/HB	6/6	13/11	3/3	2/2	1/1	1/1
EİS (adet)	68	276	38	32	10	14
<i>Alternaria alternata</i>	27	109	16	10	4	6
<i>Cladosporium herbarum</i>	5	21	5	4	0	3
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	0	19	0	9	0	0
<i>Curvularia spicifera</i>	0	8	0	0	0	0
Saprofitik patojenler	13	48	11	4	3	3
Patojen olmayan izolatlar	22	72	6	5	3	2

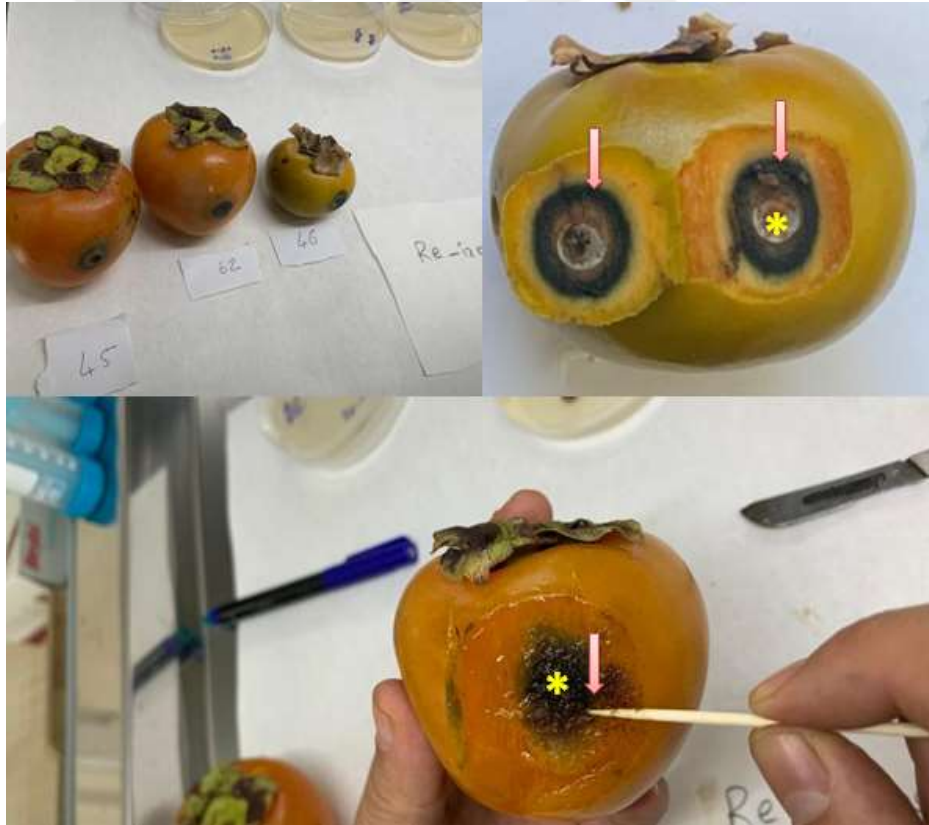
BAS: Sörvey programına dahil edilen bahçelerdeki toplam ağaç sayısı **İAS:** Sörveyler sırasında incelenen ağaç sayısı; **ÖAS:** Örnek alınan ağaç sayısı; **HAS:** Herhangi bir patojen ile bulaşık olduğu saptanan ağaç sayısı; **HAY:** Hastalıklı ağaç yaygınlık oranı; **EİS:** Alınan örneklerden yapılan izolasyon çalışmaları sonucu elde edilen toplam fungal izolat sayısı; **İB/HB:** İncelenen/Hastalıklı bahçe sayısı

Saprofitik patojenler: *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium digitatum*. Fırsatçı patojen olarak bilinen bu türler yapılan patojenisite çalışmaları sonrası meyvelerde patojen olarak belirlenmiştir. **Patojen olmayan türler:** İzolasyonlardan elde edilmesine patojenisite çalışmalarında Trabzon hurmasında herhangi bir şekilde hastalık etmeni olmadığı belirlenen fungal türler (*Aureobasidium pullulans*, *Stemphylium vesicarium*, *S. turrmium*, *Penicillium roqueforti*, *Epicoccum nigrum*, *Diatrype* spp., *Arthrinium phaeospermum*, *Alternaria infectoria*, *Chaetomium* spp.)'e ait toplam izolat sayılarını belirtir.

4.5. Fungal İzolatların Patojenisite Testleri

Morfolojik, MALDI TOF, bazıları için ise moleküler olarak tür düzeyinde tanılamaları yapılmış izolatların patojen olup olmadıklarının tespiti amacıyla bunların izole edildikleri bitki kısımlarında patojenisite çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 17 farklı türe ait toplamda 74 izolat belirlenerek sağlıklı Trabzon hurması fidanlarının gövde/sürgünleri ve sağlıklı ağaçlardan alınan meyve ve yapraklarında bu izolatlar için patojenisite testleri gerçekleştirilmiştir.

Yaprak, meyve ve odunsu dokularda yapılan patojenisite çalışmaları sonrası inokulasyon bölgesinin dışında tipik hastalık belirtilerinin meydana gelmesi ve bu belirtileri gösteren kısımlardan re-izolasyonlar yapılması (Şekil 4.7), devamında ise elde edilen re-izolatların orijinal izolatlarla karşılaştırılması suretiyle bir izolatın patojen olup olmadığı değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3).



Şekil 4.7. Patojenisite testleri sonucu farklı izolatlar tarafından hastalanmış meyvelerde yapılan re-izolasyon işlemleri. İnokulasyon amacıyla 6 mm misel diski aktarılmış alanın (*) uzağında meydana gelmiş enfekteli bölgelerden (ok) dokular alınarak PDA besi ortamı içeren yeni petrilere aktarılmıştır

Çizelge 4.3. Morfolojik, MALDI-TOF MS ve moleküler olarak tanılanmış farklı türleri temsilen seçilen bazı fungus izolatların Trabzon hurmasının çeşitli bitki kısımlarında yapılan patojenisite testi sonuçları

İzolatın Nucleotide BLAST Eşleşmesi	Patojenisite yapılan bitki kısmı	Test Sonucu
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Stemphylium vesicarium</i>	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Stemphylium eturmiunum</i>	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Cladosporium herbarum</i>	Yaprak	*
	Meyve	**
<i>Penicillium roqueforti</i>	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Penicillium digitatum</i>	Meyve	**
<i>Aspergillus flavus</i>	Meyve	**
<i>Botrytis cinerea</i>	Meyve	**
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Meyve	**
<i>Epicoccum nigrum</i>	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Alternaria alternata</i>	Yaprak	**
	Meyve	**
<i>Diatrype</i> sp.	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Arthrimum phaeospermum</i>	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Alternaria infectoria</i>	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Chaetomium</i> sp.	Yaprak	*
	Meyve	*
<i>Curvularia spicifera</i>	Yaprak	**
	Meyve	**
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	Dal/Sürgün	**
	Yaprak	**
	Meyve	**

Denemeler, her izolat için 3 tekrarlı, her tekrarda 1 bitki kısmı (dal, yaprak veya meyve) olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmış ve deneme 2 kez tekrarlanmıştır.

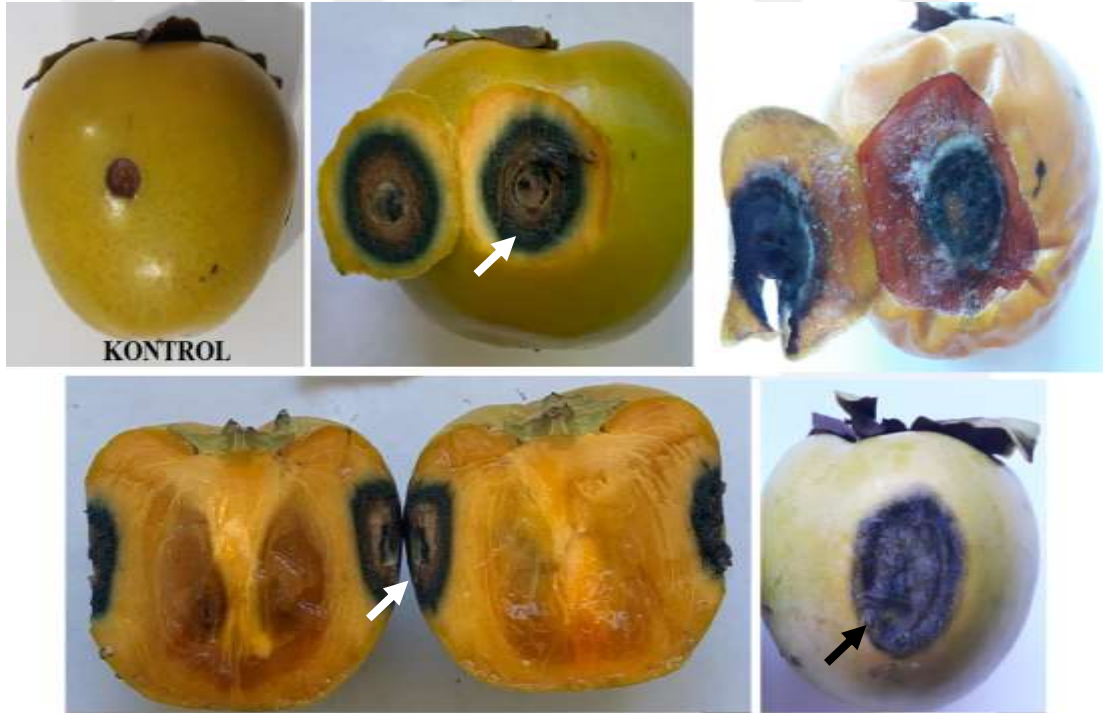
*: Patojenisite testi sonrası fungal izolatın patojen olmadığı saptanmıştır.

** : Patojenisite testi sonrası fungal izolatın patojen olduğu saptanmıştır.

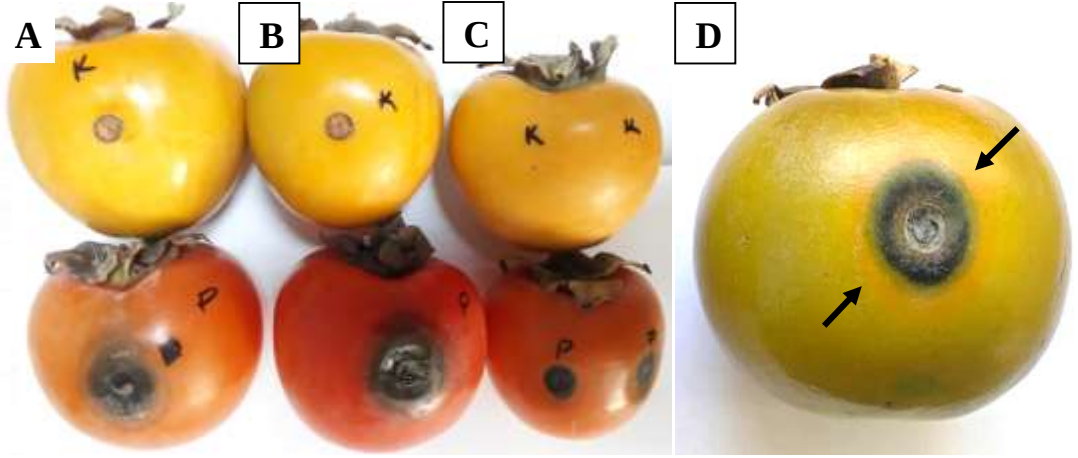
Yapılan patojensite çalışmaları sonrası tüm *A. alternata* izolatlarının yaprak ve meyvelerde, *Cladosporium herbarum*'un meyvede, *Curvularia spicifera*'nın yaprak ve meyvede, *Neoscytalidium dimidiatum*'un yaprak, meyve ve odunsu kısımlarda, fırsatçı patojen olarak bilinen *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium digitatum* izolatlarının ise meyvelerde “**patojen**” oldukları teyit edilmiştir. Bunun yanı sıra moleküler olarak da tanımlanması yapılan farklı türlere ait izolatlardan *Penicillium roqueforti*, *Arthrrium phaeospermum*, *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria infectoria*, *Stemphylium vesicarium*, *S. eturmiunum*, *Chaetomium* sp. ve *Epicoccum nigrum* izolatlarının patojenisite çalışmalarının yapıldığı yaprak, meyve veya odunsu bitki kısımlarda herhangi bir şekilde belirtilere neden olmamaları nedeniyle “**saprofit**” olarak değerlendirilmiştir.

Patojenisite çalışmaları gerçekleştirilen *A. alternata* izolatları arasında gerek meyvede gerekse de yaprakta en hızlı gelişen, diğer izolatlara oranla dokuları en çok tahrip ettiği ve meyvelerde tipik hastalık belirtilerini en belirgin şekilde meydana getirdiği gözlenen *A. alternata* MA23 izolatı, aday antagonist bakterilerin etkilerinin araştırılacağı *in vitro* ve *in vivo* denemelerde kullanılmak üzere seçilmiştir (Şekil 4.8). Özellikle *A. alternata* izolatlarında daha açık şekilde gözlenmiş olmakla birlikte patojen olarak belirlenen türler hastalandırdıkları meyvelerde kontrol meyvelerine kıyasla gözle görülür şekilde meyvenin daha erken olgunlaşmasına ve bu durumdan kaynaklı renk değişimine neden olmuşlardır (Şekil 4.9). *Alternaria*, yetiştiricilik sırasında bitkileri olumsuz etkileyebilen, ürünlerin tarla ya da hasat sonrası dönemde depolarda çürümmesine neden olabilen hem bitki patojeni hem de saprofitik türleri içeren bir fungus cinsidir (Logrieco ve ark., 2009). *Alternaria* spp. yaklaşık 400 bitki türünde çeşitli hastalıklara neden olan etmenler olarak saptanmış olup (Meena ve ark., 2017) bu cinse ait 300'den fazla tür dünya çapında tanımlanmıştır (Lee ve ark., 2015). Sadece portakal (*C. sinensis*) ağaçlarında bile bu cinse ait 22 patojen tür bildirilmiştir (Simmons, 2007). Çok sayıda bitki türünde daha hastalık etmeni olarak rapor edilmiş olan, hasat öncesi ve sonrası dönemlerde ciddi ürün kayıplarına sebep olan *Alternaria alternata*, bu cinse ait en önemli türdür. Aynı zamanda önemli bir mikotoksin üreticisi de olan bu türün bitkilerde (özellikle hasat sonrası ürünlerde) meydana getirdiği hastalıklar, insan ve hayvan sağlığı açısından da risk teşkil etmektedir (Logrieco ve ark., 2009; Ghanei Ghooshkhaneh ve ark., 2022).

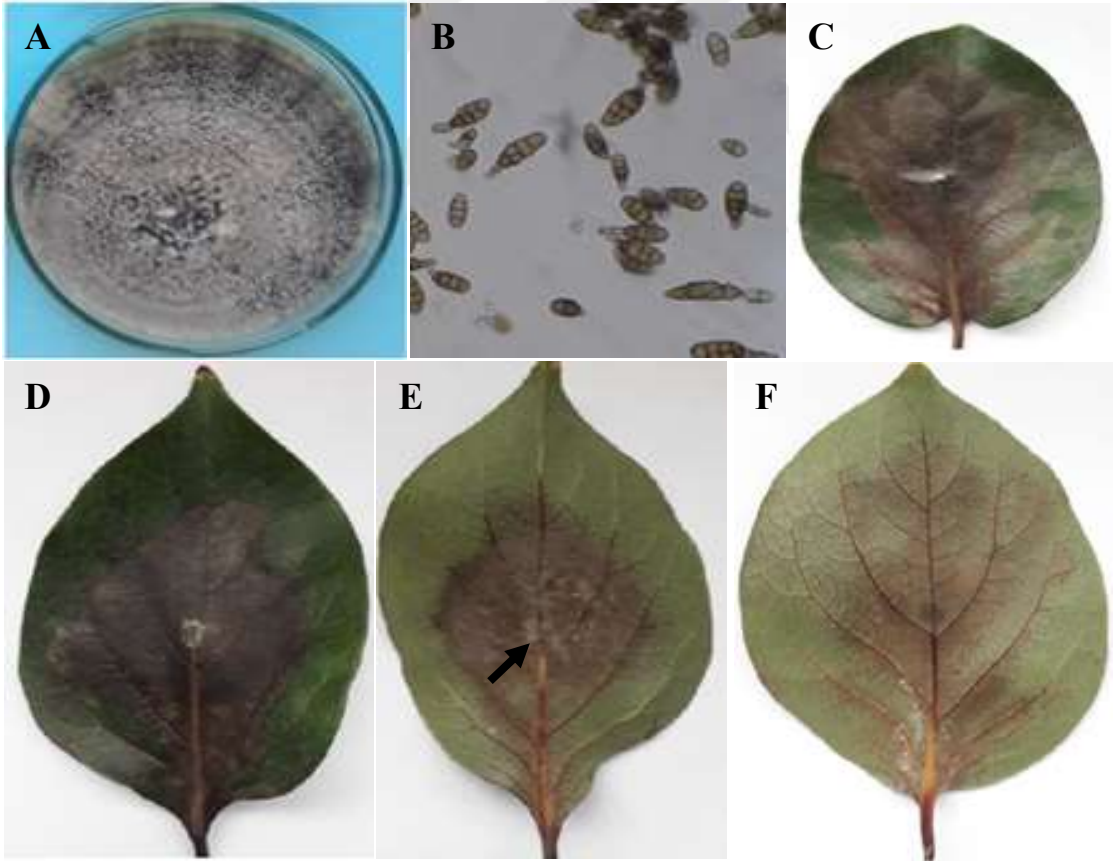
Sörvey çalışmalarında en sık rastlanan fungus türü olarak belirlenen, patojenisite çalışmaları ile de patojen olduğu tespit edilen *A. alternata*, birçok ülkede yetiştirilen Trabzon hurması meyvelerinde önemli ve yaygın bir hastalık etmeni olarak rapor edilmiştir (Prusky ve ark., 1981; Eshel ve ark., 2002; Kwon ve ark., 2004; Palou ve ark., 2012; Lee ve ark., 2013; Xiang ve ark., 2023). Hastalık etmeninin ülkemizde depolanan hurma meyvelerinde hasat sonrası çürümelere sebep olduğu Kurt ve ark. (2010) tarafından rapor edilmiştir. Çalışmamızda tespit edilen bu fungus türü benzer şekilde meyvelerde çürümeler şeklinde belirtiler meydana getirmiştir (Şekil 4.8, Şekil 4.9). Trabzon hurmasının insanlar tarafından tüketilen bitki kısımlarının çoğunlukla meyveleri olduğu göz önünde bulundurulduğunda patojenle bulaşık meyveleri tüketmenin insan sağlığı üzerine olumsuz etkilerinin meydana gelmesi olasıdır. Bunun yanı sıra etmenin ülkemizde Trabzon hurması yapraklarında patojen olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya çıkarılmıştır. Hastalık etmeni yapılan patojenisite çalışmaları sonrası yapraklarda tipik yanıklık belirtileri oluşturmuştur (Şekil 4.10). Fungal izolatin inokule edildiği meyvelerin kontrol meyvelerine kıyasla daha erken sürede olgunlaştıkları yine patojenisite çalışmaları sonucu gözlenen bir başka durum olmuştur (Şekil 4.9).



Şekil 4.8. *Alternaria alternata* MA23 izolatının inokule edildiği meyvelerde inokülasyondan 5-7 gün sonra meydana getirmiş olduğu hastalık belirtileri (ok)

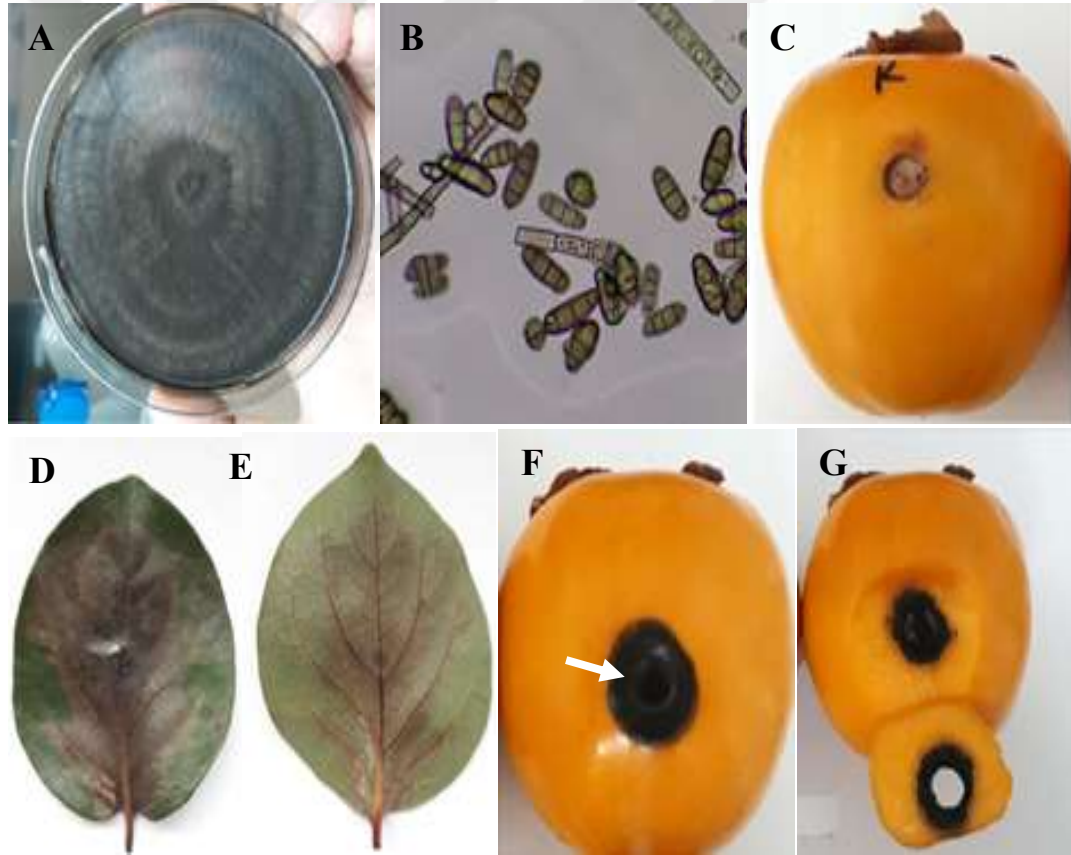


Şekil 4.9. *Alternaria alternata* MA23 izolatı için farklı yöntemlerle yapılan patojenisite testi sonuçları. (A-B) Fungus diski (C) ve kürdan ucu dolusu misel inokule edilmiş meyvelerde kontrol meyvelerine kıyasla meyve renginde meydana gelen değişimler (alt sıra). (D) *A. alternata* izolatı uygulanmış yeşil meyvede enfekteli alanın çevresinde oluşan hale oluşumu (açık turuncu renkli halka) (ok)



Şekil 4.10. (A,B) *Alternaria alternata* MA23 izolatının petride misel gelişimi ve spor görüntüsü. Patojenisite çalışmaları kapsamında izolatın inokule edildiği yaprakların üst (C-D) ve alt yüzeylerinde (E-F) meydana getirmiş olduğu hastalık belirtisi (ok)

Curvularia spicifera, patojenisite testleri sonucu Trabzon hurması ağaçlarının yaprak ve meyvelerinde patojen olarak belirlenmiştir (Şekil 4.11). *Curvularia* dünya çapına yayılmış bir fungus cinsi olup tahıllar ve yabancı otlar başta olmak üzere geniş bir konukçu dizisine sahip bitki patojeni türleri içerir. Bu cinse ait birkaç türün, tropik ve subtropik bölgelerdeki farklı bitki türlerinde patojen oldukları yapılan çalışmalarla rapor edilmiştir (Sharma ve ark., 2012; Garganese ve ark., 2015; Ayoubi ve ark., 2017). Çalışmamızdaki patojen fungus türlerinden biri olarak saptanan *Curvularia spicifera*'nın yapılan literatür taramalarına göre daha önceden Trabzon hurmasında patojen olarak rapor edildiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fungusun gerek ülkemiz gerekse dünya için Trabzon hurması alanlarında patojen olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.



Şekil 4.11. Yaprak ve meyvelerde patojen olarak tespit edilen *Curvularia spicifera* MA59 izolatının (A) PDA besi yerindeki gelişimi. (B) İzolatın ışık mikroskobu altında sporlarının görüntüsü. (C) Patojenisite çalışmalarında kontrol meyvesi. (D-E) Patojenisite çalışması kapsamında misel diski inokule edilmiş yaprağın üst ve alt yüzeyinde meydana gelen hastalık belirtileri. (F-G) Misel diski aktarılan sağlıklı meyvede etmenin 7 gün sonunda meydana getirmiş olduğu hastalık belirtisi (ok)

Neoscytalidium dimidiatum bu çalışmada odunsu dokularda patojen olarak belirlenen tek fungus türü olmuştur. Bununla birlikte fungusun yaprak ve meyvelerde de patojen olduğu yapılan patojenisite testleriyle belirlenmiştir (Şekil 4.12). *Neoscytalidium*, 1500'den fazla türe sahip olduğu tahmin edilen Botryosphaeriaceae familyasına ait bir fungus cinsidir (Crous ve ark., 2006; Kirk ve ark., 2008). Bu cinse ait fitopatojen türler genel olarak çok yıllık bitkilerin odunsu dokularında kanser ve geriye doğru ölüm hastalıklarına neden olurlar (von Arx, 1987). *Neoscytalidium dimidiatum*, bu cinse ait türler arasında dünya genelinde son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan türlerden biri olup bu fungusun bitki sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri son yıllarda ülkemizde ve dünyada yapılan birçok çalışma ile rapor edilmiştir. Klinik açıdan insanlarda bir takım sağlık sorunlarına sebep olduğu da belirlenen bu fungus (deri ve tırnaklarda bazı enfeksiyonlar) bitki sağlığı açısından zarar potansiyeli oldukça yüksek bir türdür (Alvarez ve ark., 2004; Elinav ve ark., 2009; Cursi ve ark., 2011; Raghavendra ve ark., 2015). Birçok ülkede farklı tür bitkilerde patojen olarak rapor edilen bu etmen ülkemizde ceviz ve Antepfıstığı alanlarında bildirilmiştir (Derviş ve ark., 2019a; Derviş ve ark., 2019b). Yapılan literatür taramalarına göre *N. dimidiatum*'un dünyada Trabzon hurması ağaçlarında hastalık etmeni olduğuna dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ülkemizde yapılan benzer bir çalışmada Ören ve ark. (2020), Trabzon hurması ağaçlarının dallarında geriye doğru ölüm, erken meyve dökülmesi ve meyvelerde çürüme belirtilerine neden olan etmen olarak bir başka *Neoscytalidium* türü olan *N. novaehollandiae*'i rapor etmişlerdir. Ancak *Neoscytalidium dimidiatum*'un Trabzon hurması ağaçlarında patojen olduğu gerek ülkemiz gerekse dünyada ilk defa bu çalışma ile ortaya konulmuştur.



Şekil 4.12. Yapılan patojenisite çalışmaları sonrası *Neoscytalidium dimidiatum* MA62 izolatının sağlıklı Trabzon hurması bitkilerinin yaprak, meyve ve odunsu dokularında meydana getirdiği hastalık belirtileri (ok)

Yapılan patojenisite testleri sonrası *Cladosporium herbarum*, Trabzon hurması meyvelerinde patojen olarak saptanan başka bir fungus olmuştur. *C. herbarum* 'un çeşitli bitki türlerinde hastalıklara neden olan bir fungus olduğu dünyanın farklı yerlerinde yapılmış çalışmalarla bildirilmiştir. Japonya'da üzümelerde kahverengi leke hastalığı (Ouchi ve ark., 1976), Güney Kore'de çay bitkilerinde uyuz hastalığı (Kwon ve ark., 2001) ve Arjantin'de buğday yapraklarında meydana getirdiği hastalıklar (Perelló ve ark., 2003) bunlardan bazılarıdır. Fungusun ayrıca Yunanistan'da *Centaurea solstitialis* (çakırdikeni) (Berner ve ark., 2007) ve Kuzey Amerika'da *Caltha leptosepala* (bataklık kadife çiçeği) bitkilerinde yaprak lekeli hastalığına neden olduğu rapor edilmiştir (Johnson ve ark., 2008). Yapılan literatür taramalarına göre *C. herbarum* 'un Trabzon hurması ağaçlarında neden olduğu herhangi bir hastalığa denk gelinmemiştir. Bir başka *Cladosporium* türü olan *C. cladosporioides* Güney Kore'de Trabzon hurması meyvelerinde rapor edilmişse de (Kwon ve Park, 2003) bu çalışmada tespit edilen *C. herbarum* 'un Trabzon hurması meyvelerinde patojen olduğu dünya ve ülkemizde ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur.

Botrytis cinerea, *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium digitatum* gibi daha çok fırsatçı patojen özelliği gösteren özellikle depolama aşamasında sorun

oluşturabilen fungus türlerinin ise yapılan patojenisite çalışmaları neticesinde Trabzon hurması meyvelerinde patojen oldukları belirlenmiştir. *Botrytis cinerea* ülkemizde daha önce Trabzon hurması meyvelerinde hastalık etmeni olarak bildirilmiş olup (Kara ve ark., 2021) bunun dışında kalan söz konusu diğer saprofitik fungusların ülkemizde meyvelerde patojen oldukları bu çalışma ile belirlenmiştir. Özellikle hasat sonrası olgunlaşmış meyve/sebzelerde çürümelere neden olabilen bu patojenler çeşitli araştırmacılar tarafından birçok bitki türünde rapor edilmiştir.

4.6. Fungal İzolatların Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Teşhisi

Morfolojik olarak ön teşhisleri tamamlanmış olan izolatların MALDI-TOF MS ile teşhislerinin yapılabilmesi için farklı olabilecek tür, ilçe ve bahçeleri temsilen seçilen ve tek spordan geliştirilmiş saf izolatlar PDA ortamında 5-7 gün süre ile geliştirilmiştir. Yapılan teşhisler sonucunda MALDI-TOF kütüphanesinde yer alan türlerle eşleşen *Alternaria alternata* ağırlıklı olmak üzere *Epicoccum nigrum* ve *Cladosporium herbarum* türleri teşhis edilmiştir (Şekil 4.13). Teşhisi yapılamayan diğer izolatların ise moleküler yöntemlerle teşhisleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Y7-2	<i>Alternaria alternata</i>	2.259
Y8-1	<i>Cladosporium herbarum</i>	1.876
Y7-4	<i>Epicoccum nigrum</i>	2.414
M1-1	<i>Alternaria alternata</i>	2.115
Y7-1	<i>Alternaria alternata</i>	2.25
2M4-1	<i>Epicoccum nigrum</i>	2.188
Y3-2	<i>Alternaria alternata</i>	1.74
2M2-1	<i>Alternaria alternata</i>	2.448
M4-1	<i>Alternaria alternata</i>	2.213

Şekil 4.13. Hastalıklı bitki örneklerinden izole edilen bazı izolatların toplu MALDI-TOF MS tanı sonucu

4.7. Fungal İzolatların Moleküler Tanılanması

Hastalık etmenlerinin belirlenmesine yönelik Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından alınan örneklerden yapılan izolasyon çalışmaları sonrası morfolojik ve MALDI TOF MS ile ön tanılamaları yapılan, bazıları patojenisite testlerinde şiddetli hastalık belirtilerine neden olan farklı türleri temsilen izolatlar seçilerek bunlar için Internal Transcribed Spacer (ITS) gen bölgesine özel bazı primerlerle (ITS1-4 ve ITS 4-5) moleküler tanılama yapılmış (White ve ark., 1990), böylece izolatların türleri teyit edilmiştir. Yapılan moleküler çalışmalar ve devamındaki sekans sonuçlarına göre izolatların eşleştiği tür isimleri ve benzerlik oranları Çizelge 4.4’de verilmiştir. Tanısı yapılan bu izolatlar ayrıca NCBI GenBank’a yüklenerek bunlar için erişim numarası alınmıştır.

Çizelge 4.4. Moleküler teşhis amacıyla farklı türleri temsilen seçilen fungal izolatlar ve bu izolatlardan elde edilen DNA’ların ITS primeri ile çoğaltılması sonrası elde edilen nükleotid dizilerinin NCBI BLAST analizleri ile eşleştikleri fungus türleri

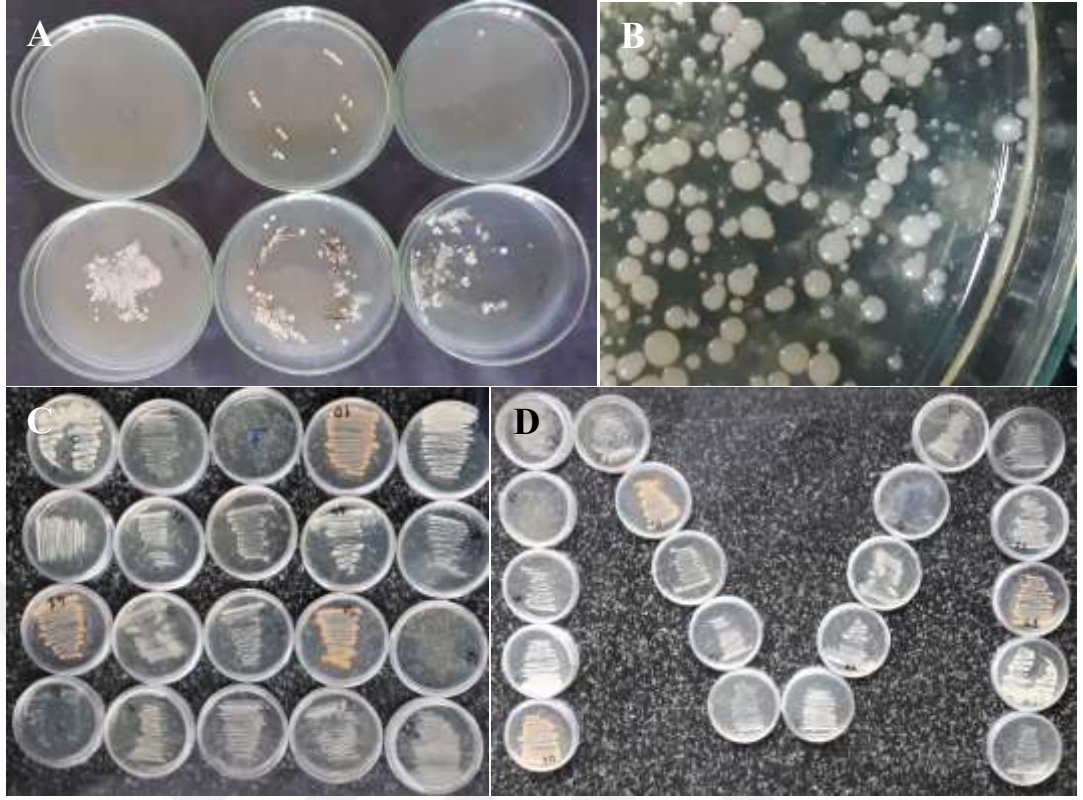
İzolat Adı ve Türü	GenBank Eşleşme Durumu ve Benzerlik Oranı (%)	GenBank Erişim Numaraları
<i>Cladosporium herbarum</i> MA9	LN808882 %100	PQ456381
<i>Alternaria alternata</i> MA22	KT238886 %99.61	PQ456382
<i>Alternaria alternata</i> MA23	MZ047552 %100	PQ456385
<i>Alternaria alternata</i> MA45	OM780203 %100	PQ456386
<i>Alternaria alternata</i> MA46	ON712199 %99.81	PQ456387
<i>Curvularia spicifera</i> MA59	KP899110 %99.81	PQ459508
<i>Neoscytalidium dimidiatum</i> MA62	OQ557469 %99.81	PQ458727

Morfolojik ve MALDI-TOF MS ile ön tanılamaları yapılan, patojenisite testlerinde yüksek düzeyde hastalık belirtileri gösteren 4 farklı türden toplam 7 izolat için GenBank’tan erişim numarası alınmıştır. *Cladosporium herbarum* MA9 (GenBank erişim no: PQ456381), *Alternaria alternata* MA22 (GenBank erişim no: OQ261768), *Alternaria alternata* MA23 (GenBank erişim no: PQ456385), *Alternaria alternata* MA45 (GenBank erişim no: PQ456386), *Alternaria alternata* MA46 (GenBank erişim

no: PQ456387), *Curvularia spicifera* MA59 (GenBank erişim no: PQ459508) ve *Neoscytalidium dimidiatum* MA62 izolatları (GenBank erişim no: PQ458727), GenBank'a sekans sonuçları kaydedilen ve eşleştikleri türlerle %99.61-%100 arasında benzerlik gösteren izolatlar olmuşlardır (Çizelge 4.3). İzolasyonlar sonrası en sık rastlanan *Alternaria alternata* izolatları arasında patojenisitesi en yüksek olarak belirlenen *Alternaria alternata* M23 izolatı, biyolojik mücadele çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir.

4.8. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakterilerin İzolasyonu

Adıyaman ilinin farklı lokasyonlarında yer alan Trabzon hurması bahçelerindeki sağlıklı ağaçların çeşitli kısımlarından endofit ve epifit karakterli bakteri izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Kök, dal, meyve ve yapraklardan yapılan izolasyonlar sonrası endofit ve epifit karakterli toplam 123 bakteri izolatı elde edilmiştir. Elde edilen izolatlar arasında morfolojik olarak benzer olduğu gözlenen bakterilerden bir kısmına (46 adet) ön eleme yapılarak izolasyon yapılacak bahçe ve bölgeleri de temsilen farklı olabileceği düşünülen 77 izolat sonraki testlerde (37 °C'de gelişim, tütün HR, patates çürüklük) kullanılmak üzere seçilmiştir. Bu izolatların tek koloniden saflaştırmaları yapılmış ve her bir izolat 60 mm TSA besi yeri içeren petrilere ayrı ayrı çizilerek buzdolabında 4 °C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 4.14). Genel olarak, petrilere endofit olanlara kıyasla epifit karakterli bakterilerin daha fazla sayıda farklı türlerinin geliştiği gözlenmiştir (Şekil 4.14 A).



Şekil 4.14. Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen bakteri izolatları. İzolasyonlar sonrası petrilerde gelişen (A) endofit (üst sıra) ve epifit (alt sıra) bakteriler. (B) İzolasyonlar sonucu bazı petrilerde oluşan tek koloniler, (C,D) tek kolonilerden geliştirilen saf bakteri izolatları

4.9. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Seçimi

Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından yapılan izolasyon çalışmaları sonrası toplam 123 bakteri izolatı elde edilmiştir. Elde edilen izolatlardan bir kısmı morfolojik olarak benzer oldukları gerekçesiyle ilk aşamada 46 tanesi elenmiş ve toplam izolat sayısı 77'ye düşürülmüştür. Kalan 77 izolatın insan patojeni olup olmadıklarını belirlemek amacıyla ilk önce 37 °C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrası gelişim gösteren 9 tanesi potansiyel insan/hayvan patojeni olabilceğinden bunlar da elenmiştir. Geriye kalan 68 izolat için sırasıyla; tütün bitkisinde aşırı duyarlılık (HR) ve patates yumrusunda yumuşak çürüklük testleri yapılmıştır. Bu testler sonrası 11 izolat HR, 10 tanesi ise yumuşak çürüklük testinde pozitif sonuçlar verdiklerinden dolayı bunlar da elenmiştir. Sonuç olarak tüm testlerde

negatif sonuç veren toplam 47 adet bakteri izolatu belirlenmiş, bunlar tanılarının yapılması ve denemelerde kullanılmak üzere uygun koşullarda muhafaza edilmiştir.

4.10. Aday Endofit ve Epifit BCA Bakteri İzolatlarının Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) ile Tanılanması

Adıyaman ilinin farklı lokasyonlarındaki Trabzon hurması bahçelerinde yer alan sağlıklı ağaçlardan yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen endofit ve epifit karakterli bakteri izolatlarından; 37 °C’de gelişim, tütün yapraklarında HR ve patates yumrularında yumuşak çürüklük testlerinin tümünde negatif sonuç veren toplam 47 izolatın tür düzeyinde teşhisi MALDI-TOF cihazı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) kullanılarak belirlenmiştir (Aktan ve Soylu, 2020). Analizler sonucunda, 2.000-3.000 arasında (yeşil renk) skala değerleri yüksek olasılıklı tür teşhisi, 1.700-1.999 (sarı renk) arasındaki skala değerleri ise yüksek olasılıklı cins veya muhtemel düzeyde tür teşhisi olarak değerlendirilmiş olup tanı işlemleri sonucu izolatların belirlenen isimleri ve bazı bilgilerine Çizelge 4.5’te yer verilmiştir. Aynı zamanda *Alternaria alternata* ’nın patojenisitesi en yüksek izolatına karşı ikili kültür testleriyle *in vitro* ve meyve denemeleriyle *in vivo* antagonistik etkileri belirlenen bu izolatlardan 20 tanesinin endofit, 27 tanesinin ise epifit karakterli olduğu belirlenmiştir. Bu izolatlar tür bazında incelendiğinde; 40 tanesinin farklı *Bacillus* türleri, diğer izolatlarından 3 tanesinin *Pseudomonas* spp., 2 tanesinin *Enterobacter cloacae*, birer tanesinin ise *Clostridium novyi* ve *Curtobacterium flaccumfaciens* oldukları saptanmıştır. Toplamda 11 farklı *Bacillus* türü tanılanmış olup en yaygın tür 10 izolatla *Bacillus subtilis* olmuştur. Bu türü 6’şar izolatla *Bacillus cereus* ve *Bacillus majovensis*, 5 izolatla *Bacillus megaterium*, 4 izolatla *Bacillus amyloliquefaciens*, 3 izolatla *Bacillus altitudinis*, 2 izolatla *Bacillus pumilus* ve 1’er izolatla *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus endophyticus*, *Bacillus mycoides* ve *Bacillus thuringiensis* izolatları izlemiştir (Çizelge 4.5). Köse, (2024), patatesteki fungal etmelere karşı biyolojik mücadele kapsamında bakteri izolatlarının antagonist etkilerini araştırmış olduğu çalışmada bu çalışmadakilere benzer veriler elde etmiş, yapılan izolasyonlar sonrası en fazla rastlanan bakteri türlerinin *Bacillus* spp. olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 4.5. Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarından yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen aday antagonist bakteri izolatların MALDI-TOF tanılanma sonuçları ve bunlara ait bazı bilgiler

Bakteri İzolatı	İzole edildiği yer	İzole edildiği bitki kısmı ve yöntemi	MALDI Eşleşme Değeri
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i> MA63ep	Gölbaşı	Kök EP	2.11
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA55ep	Gölbaşı	Dal EP	2.31
<i>Bacillus subtilis</i> MA50ep	Gölbaşı	Meyve EP	2.10
<i>Bacillus cereus</i> MA26ep	Gölbaşı	Kök EP	2.20
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> MA15en	Gölbaşı	Kök EN	2.06
<i>Bacillus subtilis</i> MA18ep	Besni	Yaprak EP	2.05
<i>Bacillus subtilis</i> MA36en	Merkez	Kök EN	1.89
<i>Bacillus mojavensis</i> MA19ep	Gölbaşı	Dal EP	1.88
<i>Bacillus subtilis</i> MA40en	Merkez	Dal EN	2.19
<i>Bacillus mojavensis</i> MA61en	Çelikhan	Kök EN	2.40
<i>Bacillus mojavensis</i> MA31en	Kahta	Yaprak EN	1.82
<i>Bacillus subtilis</i> MA48en	Gölbaşı	Meyve EN	1.98
<i>Bacillus mojavensis</i> MA59ep	Çelikhan	Kök EP	1.92
<i>Bacillus subtilis</i> MA53ep	Gölbaşı	Dal EP	1.95
<i>Bacillus atrophaeus</i> MA66ep	Tut	Kök EP	2.20
<i>Bacillus subtilis</i> MA1ep	Besni	Kök EP	2.07
<i>Bacillus mojavensis</i> MA12ep	Gölbaşı	Yaprak EP	1.80
<i>Bacillus cereus</i> MA27en	Merkez	Meyve EN	1.95
<i>Clostridium novyi</i> MA54ep	Gölbaşı	Kök EP	1.88
<i>Bacillus mojavensis</i> MA22en	Besni	Yaprak EN	1.79
<i>Bacillus subtilis</i> MA76ep	Gölbaşı	Kök EP	2.18
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA52ep	Gölbaşı	Meyve EP	1.86
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MA65en	Tut	Meyve EN	2.41
<i>Bacillus subtilis</i> MA29en	Merkez	Meyve EN	1.91
<i>Bacillus cereus</i> MA64ep	Tut	Kök EP	1.97
<i>Bacillus cereus</i> MA58ep	Çelikhan	Kök EP	1.90
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA44ep	Gölbaşı	Kök EP	1.85
<i>Bacillus cereus</i> MA57en	Gölbaşı	Yaprak EN	1.93
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA77ep	Besni	Dal EP	2.07
<i>Bacillus pumilus</i> MA73en	Gölbaşı	Meyve EN	1.77
<i>Bacillus cereus</i> MA47ep	Gölbaşı	Kök EP	2.46
<i>Bacillus thuringiensis</i> MA74ep	Gölbaşı	Dal EP	2.15
<i>Bacillus megaterium</i> MA38ep	Kahta	Kök EP	2.15
<i>Pseudomonas mosselii</i> MA21ep	Besni	Kök EP	1.78
<i>Bacillus altitudinis</i> MA17ep	Gölbaşı	Yaprak EP	1.74
<i>Bacillus altitudinis</i> MA46ep	Gölbaşı	Kök EP	2.05
<i>Bacillus pumilus</i> MA24en	Besni	Dal EN	1.84

Çizelge 4.5. (Devamı) Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarından yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen aday antagonist bakteri izolatların MALDI-TOF tanımlama sonuçları ve bunlara ait bazı bilgiler

<i>Bacillus altitudinis</i> MA28en	Merkez	Kök	EN	1.72
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> MA67en	Gölbaşı	Dal	EN	1.81
<i>Bacillus megaterium</i> MA41en	Kahta	Kök	EN	2.06
<i>Enterobacter cloacae</i> MA2en	Besni	Meyve	EN	2.29
<i>Bacillus megaterium</i> MA35ep	Kahta	Dal	EP	1.74
<i>Enterobacter cloacae</i> MA7ep	Besni	Kök	EP	2.12
<i>Bacillus endophyticus</i> MA34en	Kahta	Kök	EN	2.04
<i>Bacillus megaterium</i> MA8en	Besni	Kök	EN	2.07
<i>Bacillus megaterium</i> MA10ep	Besni	Dal	EP	1.87
<i>Bacillus mycoides</i> MA43en	Besni	Kök	EN	1.99

EP: Epifit olarak izole edilmiş bakteri izolatı; EN: Endofit olarak izole edilmiş bakteri izolatı

Bitkiler hem rizosfer (toprak altı kök bölgesi) hem de filosferde (toprak üstü kısım) çok sayıda mikroorganizma ile ilişki içerisinde bulunmaktadır. Farklı türlerden bakteriler bu organizmaların önemli bir kısmını oluşturmakla olup bunlar bitkilerin iç (endofit) ve dış kısımlarında (epifit) yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Bitkilerle yakın ilişki içerisinde olan bu bakterilerden bazıları bitkilere herhangi bir zarar vermeksizin bitki gelişimine olumlu katkılar sunma, verimin artırılmasını sağlama, tohum çimlenmesinin artırılmasından ve kök/sürgün gelişimini artırma gibi bitkinin faydasına olan durumlara neden olabilirler. Bitki gelişiminin yanı sıra bitki koruma açısından da önemli katkıları olan bakteriler konukçu bitkide patojen olan bir başka mikroorganizmaya karşı bitkideki dayanıklılık mekanizmalarını aktif hale getirebilmektedirler. Başlıca *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ve *Enterobacter* cinslerine ait bazı türler olmak üzere farklı türlerden kimi bakterinin bu tür faydaları sağlayabildiği çeşitli çalışmalarla saptanmıştır. Bu bakterilerin hem bitki gelişimine katkı sundukları hem de bitkileri çeşitli mikroorganizmalara (bakteri, fungus ve virüs) karşı koruyabildikleri bildirilmiştir (Somers ve ark., 2004; Çakmakçı ve ark., 2005; Egamberdieva ve Islam, 2008; Sayyed ve Chincholkar, 2009; Saharan ve Nehra, 2011; Egamberdieva ve ark., 2013; Berg ve ark., 2013; Jabborova ve ark., 2013; Sayyed ve ark., 2013).

4.11. Aday Endofit ve Epifit Bakteri İzolatlarının *Alternaria alternata*'ya Olan Antifungal Etkinliklerinin *in vitro* Koşullarda Belirlenmesi

Tanımlamaları yapılan ve çeşitli testlerle (tütün HR, patates yumuşak çürüklük) patojen olmadıkları saptanan aday bakteri izolatlarının Adıyaman ilinde en yaygın fungus türü olarak belirlenen *A. alternata*'ya olan antagonistik (engelleme) potansiyelleri, 90 mm çapında içerisinde PDA besi yeri bulunan petri kaplarında ikili kültür testleri ile belirlenmiş olup (Şekil 4.15) denemelerden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6'da sunulmuştur. Denemelerde tüm *Alternaria* izolatları arasında patojenisitesi en yüksek izolat olarak belirlenen *A. alternata* MA23 kullanılmış olup uygulama yapılan bakteri izolatları bu izolatın misel gelişimini değişen oranlarda engellemiştir. Engelleme oranlarına göre bakteriler 3 farklı düzeyde kategorize edilmiş olup buna göre fungus misel gelişimini; % 0.5-24.9 arasında engelleyenler “zayıf”; %25.0-49.9 arasında engelleyenler “orta”; %50.0 ve üzerinde engelleyenler “güçlü” düzeylerde misel gelişimini engelleyen bakteri izolatları olarak değerlendirilmişlerdir (Dalal ve Kulkarni, 2013). *In vitro* denemeler sonrası bakteri izolatlarının engelleme oranlarına bakıldığında 4 izolatın (izolatların %8.51'i) %3.33-13.89 arasında değişen oranlarla “zayıf”, 11 izolatın (izolatların %23.4'ü) %26.11-47.22 arasında değişen oranlarla “orta” ve 32 izolatın (izolatların %68.08'i) %51.67-80.56 arasında değişen oranlarla “güçlü” seviyede antagonistik etkiler sergiledikleri belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

A. alternata'nın misel gelişimini en yüksek düzeyde engelleyen bakteri izolatı %80,56 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MA63ep olurken bu izolatı sırasıyla %79.44 ve %78.89 oranlarla *Bacillus amyloliquefaciens* MA55ep ve *Bacillus subtilis* MA50ep izolatları izlemiştir (Çizelge 4.6). Misel gelişimini en yüksek engelleme oranına sahip bu üç izolat arasında istatistiksel açıdan fark görülmemiştir. Denemelerde antagonistik etkileri araştırılan tüm izolatlar arasında en düşük engelleme oranı ise misel gelişimini sadece %3.33 oranında engelleyebilen *Bacillus mycoides* MA43en izolatı tarafından gerçekleşmiştir.

Tüm epifit karakterli bakteri izolatlarının misel gelişimini engelleme ortalaması %59.83 olarak saptanırken, endofit karakterli bakteri izolatlarının misel gelişimini engelleme ortalaması %51.97 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan bakteri

izolatları arasında istatistiksel açıdan genel olarak anlamlı farklar bulunmakla beraber bu farkın özellikle aynı türe sahip izolatlar arasında meydana geldiği de görülmüştür. Bu açıdan değerlendirildiğinde izolatların etkilerinin tür düzeyinden ziyade izolat bazlı olarak göz önüne alınması durumunda pratikte daha etkili sonuçların alınacağı düşünülebilir. Ancak genel olarak tür bazlı bir değerlendirme yapılacak olursa özellikle bazı *Bacillus* türlerinin genel olarak hastalık etmeninin misel gelişimini oldukça yüksek düzeylerde engellediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Fungisidal/fungistatik açıdan değerlendirildiğinde (Şekil 4.16) bakterilerin büyük çoğunluğunun (35 adet) fungisidal, 12 tanesinin ise fungistatik özellikler gösterdikleri belirlenmiştir. Özellikle bakteri izolatlarının engelleme oranlarının artışına paralel şekilde genel olarak fungisidal etkinin de bu yönde meydana geldiği belirlenmiştir. Çalışmamızda *in vitro* etkileri açısından en etkili bakteri izolatı olarak belirlenmiş olan *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*'un herhangi bir bitkiden izole edilmiş *A. alternata*'a izolatlarına karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesine yönelik literatürde bir çalışma olmayıp bakterinin *A. alternata*'ya karşı antifungal etkileri ilk defa bu çalışma ile oraya çıkarılmıştır. Genellikle çeşitli bitkilerden elde edilmiş başta *Bacillus* türleri olmak üzere birçok antagonist BCA izolatların farklı bitkilerde patojen olan *A. alternata*'ya karşı antifungal etkinlik gösterdikleri önceden yapılmış birçok çalışmada da bildirilmiştir (Pastor ve ark., 2012; Li ve ark., 2015; Kurniawan ve ark., 2018; Shao ve ark., 2023; Sandani ve ark., 2024).

Çizelge 4.6. Aday endofit ve epifit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *Alternaria alternata*'nın misel gelişimi üzerine olan antagonistik etkileri

Bakteri İzolatı	MG (mm)	MGI (%)	Etki durumu
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp.	11.67 ^a	80.56	**
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA55ep	12.33 ^{ab}	79.44	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA50ep	12.67 ^{a-c}	78.89	**
<i>Bacillus cereus</i> MA26ep	14.33 ^{a-d}	76.11	**
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> MA15en	14.67 ^{a-d}	75.56	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA18ep	14.67 ^{a-d}	75.56	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA36en	15.00 ^{a-e}	75.00	**
<i>Bacillus mojavensis</i> MA19ep	15.33 ^{a-f}	74.44	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA40en	15.33 ^{a-f}	74.44	**
<i>Bacillus mojavensis</i> MA61en	15.67 ^{a-g}	73.89	**
<i>Bacillus mojavensis</i> MA31en	16.33 ^{b-g}	72.78	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA48en	16.33 ^{b-g}	72.78	**

Çizelge 4.6. (Devamı) Aday endofit ve epifit bakteri izolatların *in vitro* ikili kültür testlerinde *Alternaria alternata*'nın misel gelişimi üzerine olan antagonistik etkileri

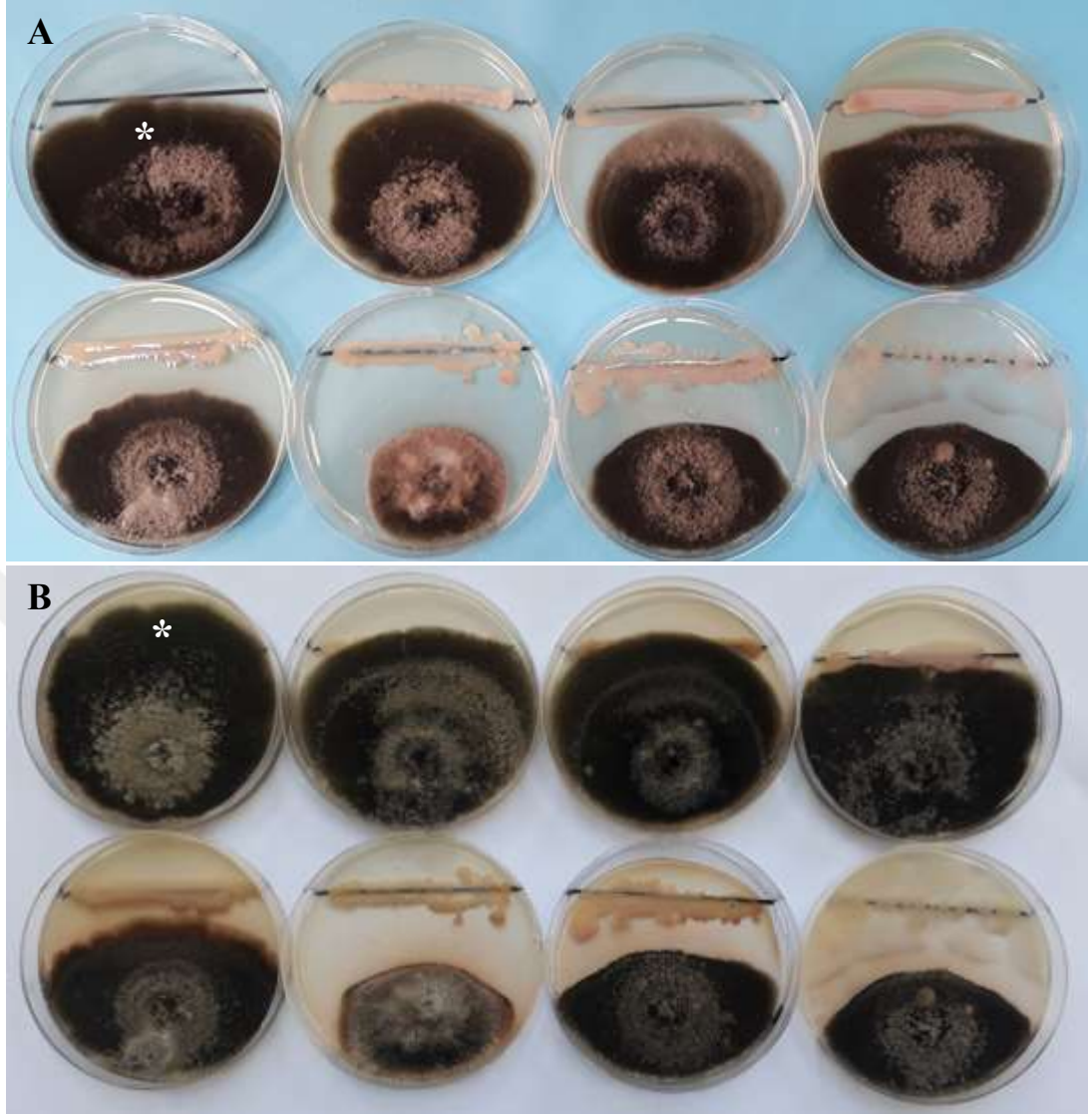
<i>Bacillus mojavensis</i> MA59ep	16.33 ^{b-g}	72.78	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA53ep	16.67 ^{c-g}	72.22	**
<i>Bacillus atrophaeus</i> MA66ep	16.67 ^{c-g}	72.22	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA1ep	17.00 ^{d-g}	71.67	**
<i>Bacillus mojavensis</i> MA12ep	17.33 ^{d-g}	71.11	**
<i>Bacillus cereus</i> MA27en	17.33 ^{d-g}	71.11	**
<i>Clostridium novyi</i> MA54ep	19.00 ^{e-h}	68.33	*
<i>Bacillus mojavensis</i> MA22en	19.33 ^{f-h}	67.78	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA76ep	19.33 ^{f-h}	67.78	**
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA52ep	19.67 ^{gh}	67.22	**
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MA65en	21.33 ^{hi}	64.44	**
<i>Bacillus subtilis</i> MA29en	21.67 ^{h-j}	63.89	**
<i>Bacillus cereus</i> MA64ep	21.67 ^{h-j}	63.89	**
<i>Bacillus cereus</i> MA58ep	23.67 ^{i-k}	60.56	**
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA44ep	25.33 ^{j-l}	57.78	*
<i>Bacillus cereus</i> MA57en	25.33 ^{j-l}	57.78	**
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA77ep	25.33 ^{j-l}	57.78	**
<i>Bacillus pumilus</i> MA73en	26.33 ^{kl}	56.11	*
<i>Bacillus cereus</i> MA47ep	28.67 ^{lm}	52.22	**
<i>Bacillus thuringiensis</i> MA74ep	29.00 ^{lm}	51.67	*
<i>Bacillus megaterium</i> MA38ep	31.67 ^{mn}	47.22	**
<i>Pseudomonas mosselii</i> MA21ep	32.00 ^{mn}	46.67	*
<i>Bacillus altitudinis</i> MA17ep	33.33 ^{no}	44.44	*
<i>Bacillus altitudinis</i> MA46ep	34.67 ^{n-p}	42.22	**
<i>Bacillus pumilus</i> MA24en	35.00 ^{n-p}	41.67	**
<i>Bacillus altitudinis</i> MA28en	35.00 ^{n-p}	41.67	*
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> MA67en	38.33 ^{pr}	36.11	**
<i>Bacillus megaterium</i> MA41en	40.67 ^{rs}	32.22	**
<i>Enterobacter cloacae</i> MA2en	41.00 ^{rs}	31.67	**
<i>Bacillus megaterium</i> MA35ep	42.33 ^s	29.44	**
<i>Enterobacter cloacae</i> MA7ep	44.33 ^s	26.11	*
<i>Bacillus endophyticus</i> MA34en	51.67 ^t	13.89	*
<i>Bacillus megaterium</i> MA8en	52.00 ^t	13.33	*
<i>Bacillus megaterium</i> MA10ep	55.67 ^u	7.22	*
<i>Bacillus mycoides</i> MA43en	58.00 ^{uv}	3.33	*
Kontrol	60.00^v	0.00	

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

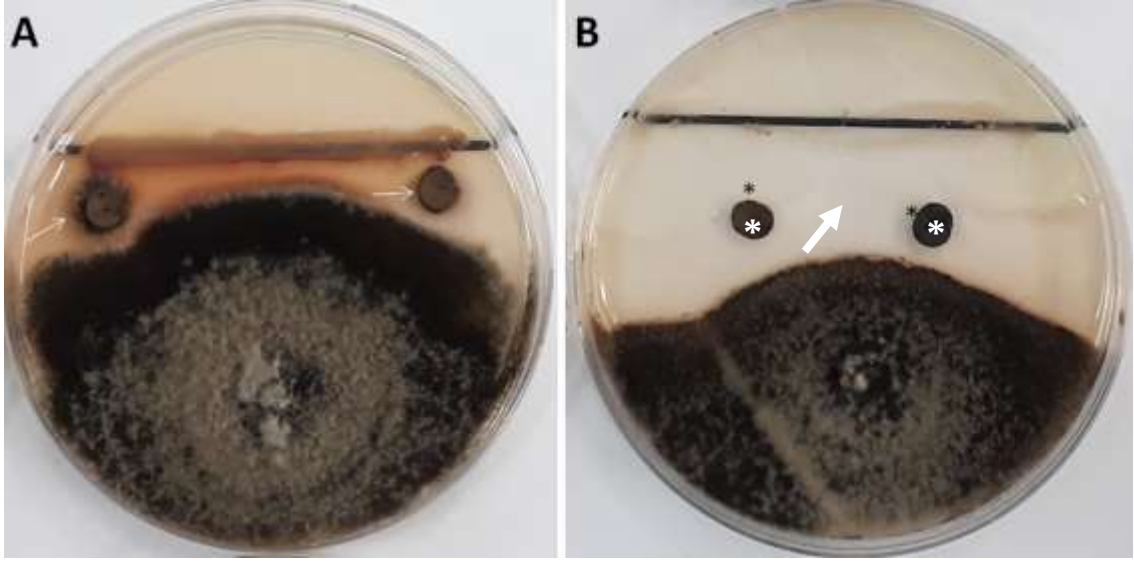
^a Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki benzer harfler izolatlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığını gösterir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, $P < 0.05$. Denemeler sonrası yüksek engelleme etkisine sahip olduğu saptanan izolatlar **koyu** renkle belirtilmiştir.

*: Bakteri izolatının oluşturduğu antagonistik etki fungistatik olarak değerlendirilmiştir

**: Bakteri izolatının oluşturduğu antagonistik etki fungisidal olarak değerlendirilmiştir



Şekil 4.15. Sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından izole edilmiş endofit ve epifit karakterli bakteri izolatlarının, *in vitro* ikili kültür testlerinde, *Alternaria alternata*'ya olan farklı düzeylerde antagonistik etkileri. Kontrol (*) petrisine kıyasla (A) 7 ve (B) 15 gün sonra bazı bakteri uygulaması yapılan petrilerde gözlenen misel gelişimlerin engellenme düzeyleri



Şekil 4.16. (A,B) İkili kültür testlerinde BCA izolatlarının neden olduğu engelleme bölgelerindeki fungisidal etkinliğin belirlenmesi. Engellenme bölgesine (ok) yerleştirilen sağlıklı misel disklerinde (*) gelişme gözlenmemiştir

Trabzon hurmasında *A. alternata*'nın kontrolü amacıyla biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması kapsamında bakteri izolatlarının kullanımının olduğu çalışmalar kısıtlıdır. Yapılan literatür taramalarına göre ülkemizde bu konuya yönelik daha önceden bir çalışmaya rastlanmamış olup Trabzon hurmasında sorun olan *A. alternata*'ya karşı faydalı bakteri izolatlarının biyokontrol etkileri ilk defa bu çalışma ile ortaya çıkarılmıştır. Bununla birlikte diğer ülkelerde de bu konuda çalışmaların kısıtlı olduğu görülmüştür. Trabzon hurmasından izole edilen *A. alternata*'ya karşı yapılan bir çalışmada *Bacillus amyloliquefaciens* Bacillus-GA izolatının antagonistik etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Batta, 2001).

Her ne kadar Trabzon hurmasından izole edilen *A. alternata* izolatlarına karşı bu alanda yapılan çalışmalar kısıtlı ise de farklı bitki türlerinden izole edilen *A. alternata* izolatlarına karşı farklı bakteri türlerinin antagonist etkilerinin araştırıldığı dünyada ve ülkemizde çeşitli çalışmalar mevcuttur. Buna yönelik yapılan çalışmalarda; Sid ve ark. (2003), *A. alternata*'ya karşı biberlerden izole ettikleri faydalı bakteri izolatlarının *A. alternata* yaprak lekelerini %54, %74, %62 ve %53 oranlarında azalttığını ve bu izolatların *Bacillus subtilis* HS9, *Bacillus licheniformis* LS234, LS523 ve LS674 olduğunu bildirmişlerdir. Pastor ve ark. (2012), domates ve biber bitkisinin rizosfer bölgesinden izole ettikleri farklı floresan *Pseudomonas* türlerini (*Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas aurantiaca*)

yaprak yanıklığı (*A. alternata* f. sp. *lycopersici*), güney yanıklığı (*Sclerotium rolfsii*) ve kök çürüklüğü (*Fusarium solani*) etmenlerine karşı potansiyel antagonistler olarak *in vitro* koşullarda test etmişlerdir. Test edilen bakteri türlerine ait farklı izolatların özellikle TSA ortamında *A. alternata* f. sp. *lycopersici* gelişimini engellediği bildirilmiştir. Li ve ark. (2015), tütün bitkisinden izole edilmiş bir *Bacillus megaterium* izolatı olan “Strain L2” izolatını, tütünlerde patojen olarak raporlanan *A. alternata*’nın misel gelişimini, spor çimlenme oranını ve spor çıkışını engellemesi üzerine olan etkilerini belirlemek adına uygulamışlardır. Sonuç olarak, bakterilerin belirli konsantrasyonundan hazırlanan çözeltilerin fungusun hif gelişimini etkili bir şekilde engellediği ve bakteri yoğunluğunun artışına paralel şekilde *A. alternata* üzerindeki antagonist etkinliğin arttığı bildirilmiştir. Atay ve ark., (2020), nar meyvelerinde hasat sonrası iç çürüklüğü etmeni *A. alternata*’ya karşı bazı endofitik bakteri izolatlarının (*Bacillus pumilus*, *B. subtilis* ssp. *subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. vallismortis*, *B. mojavensis*, *B. megaterium*, *B. endophyticus*, *B. cereus*, *Solibacillus silvestris*, *Erwinia herbicola*, *Corynebacterium glutamicum* ve *Pantoea dispersa*) *in vitro* antifungal etkilerini araştırmışlardır. Yapılan denemeler sonucu *Bacillus mojavensis* PEB39 izolatı fungal etmene karşı en etkili izolat olarak belirlenmiş olup (%80 misel gelişim engellemesi) bunu *Bacillus amyloliquefaciens* PEB46 (%78.90), *Bacillus vallismortis* PEB40 (%76.70) ve *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* PEB43 (%75.60) izolatlarının izlediği bildirilmiştir. Sandani ve ark. (2024), domateste geç yaprak yanıklığı hastalığı etmeni *A. alternata* ile mücadelede, sağlıklı domates bitkilerinin rizosfer ve filosferinden izole edilen *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait ve RA12, RA8, RA18, RA17, PA4, RA29 ve PA12 olarak kodlanan yedi farklı bakteri izolatının *in vitro* koşullar altında sergiledikleri antagonist etkilerini araştırmışlardır. Yapılan denemeler sonucu bu izolatların *A. alternata*’nın misel gelişimi üzerinde önemli etkilerinin olduğu, yapılan mikroskopik gözlemlerde hiflerde kalınlaşmalar, şişkinlikler ve vakuolleşme gibi normal hiflerde olmayan belirtilerin görüldüğü ve spor çimlenmesini ortalama %83,7 oranında engelledikleri, bunların yanı sıra fungal patojenin kontrolünde antibiyozis, hiperparazitizm ve rekabet gibi antagonistik mekanizmalar sergiledikleri saptanmıştır. Sonuç olarak çalışmadaki yedi bakteri izolatının domateste erken yanıklık hastalığını kontrol etmede potansiyel biyokontrol etmenleri olarak daha fazla araştırılabilecekleri bildirilmiştir. Bu çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda yer alan farklı türlerden

çeşitli bakteri izolatları da değişen oranlarda *A. alternata*'ya karşı antagonistik etkiler sergilemişlerdir.

4.12. Antagonist Bakteri İzolatlarının *Alternaria alternata*'yı Engellemede Kullandıkları Olası Biyokontrol Mekanizmaları ve Bitki Gelişimini Artırıcı Etkilerinin Belirlenmesi

A. alternata'ya karşı antagonistik etkileri *in vitro* ikili kültür testleriyle belirlenen izolatlardan farklı türleri temsilen 30 tanesi hastalığı engellemede kullandıkları olası biyokontrol ve bitki gelişimi teşvik eden mekanizmalarının belirlenmesi adına seçilmiştir. Bu doğrultuda izolatların fungusun misel gelişimini engellenmede kullanabilecekleri potansiyel biyokontrol etki mekanizmalarından proteaz, siderofor, amonyak (NH₃) ve hidrojen siyanür (HCN) üretimi ile birlikte bitki gelişimini teşvik eden IAA üretimi ve fosforu çözme potansiyelleri *in vitro* koşullarda belirlenmiştir. Denemeler sonrası elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı endofit ve epifit karakterli antagonist bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'yı engellemede kullandıkları olası biyokontrol mekanizmaları

Bakteri İzolatı	Sid-Ind	Pro-Ind	NH ₃	HCN
<i>Enterobacter cloacae</i> MA2en	2.41 ^j	0.00 ^a	+	++
<i>Enterobacter cloacae</i> MA7ep	1.52 ^h	2.69 ^l	+	-
<i>Bacillus mojavensis</i> MA12ep	1.28 ^{fg}	1.54 ^{e-h}	++	-
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> MA15en	1.54 ^h	1.07 ^b	++	-
<i>Bacillus altitudinis</i> MA17ep	0.00 ^a	1.57 ^{e-h}	++	-
<i>Bacillus subtilis</i> MA18ep	1.13 ^{b-e}	1.37 ^{c-e}	++	-
<i>Bacillus mojavensis</i> MA19ep	1.04 ^b	1.24 ^{b-d}	++	-
<i>Pseudomonas mosselii</i> MA21en	1.06 ^{bc}	2.31 ^{j-k}	++	-
<i>Bacillus cereus</i> MA26ep	1.84 ⁱ	1.67 ^{g-i}	++	-
<i>Bacillus cereus</i> MA27en	1.63 ^h	2.58 ^l	++	±
<i>Bacillus altitudinis</i> MA28en	1.14 ^{b-e}	2.11 ^j	++	-
<i>Bacillus mojavensis</i> MA31en	1.13 ^{b-e}	1.73 ^{h-i}	+	-
<i>Bacillus subtilis</i> MA36en	1.08 ^{b-d}	3.71ⁿ	++	-
<i>Bacillus megaterium</i> MA38ep	2.72^k	0.00 ^a	+	+++
<i>Bacillus megaterium</i> MA41en	1.20 ^{d-f}	2.16 ^j	++	-
<i>Bacillus subtilis</i> MA48en	1.04 ^b	3.12 ^m	+	-
<i>Bacillus subtilis</i> MA50ep	1.08 ^{b-d}	1.11 ^b	++	±
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA52ep	1.11 ^{b-e}	1.71 ^{h-i}	++	-

Çizelge 4.7. (Devamı) Farklı endofit ve epifit karakterli antagonist bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'yı engellemede kullandıkları olası biyokontrol mekanizmaları

<i>Bacillus subtilis</i> MA53ep	1.07 ^{b-d}	1.05 ^b	++	-
<i>Clostridium novyi</i> MA54ep	1.13 ^{b-e}	1.36 ^{c-e}	++	-
<i>Bacillus cereus</i> MA58en	1.20 ^{d-f}	1.44 ^{d-f}	++	±
<i>Bacillus mojavensis</i> MA59en	1.12 ^{b-e}	1.60 ^{e-h}	++	-
<i>Bacillus mojavensis</i> MA61en	1.63 ^h	1.19 ^{bc}	++	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i> MA63ep	1.13 ^{b-e}	1.46 ^{e-g}	+++	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MA65en	1.33 ^g	1.52 ^{e-h}	++	+
<i>Bacillus atrophaeus</i> MA66ep	0.00 ^a	1.83 ⁱ	++	-
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> MA67en	1.18 ^{c-f}	1.23 ^{b-d}	+	-
<i>Bacillus pumilus</i> MA73en	1.09 ^{b-e}	1.36 ^{c-e}	+++	-
<i>Bacillus thuringiensis</i> MA74ep	1.16 ^{b-f}	1.66 ^{e-i}	++	±
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA77ep	2.49^j	2.39 ^k	+	+++

Sid-Ind: Siderofor; **Pro-Ind:** Proteaz; **NH₃:** Amonyak; **HCN:** Hidrojen Siyanür; -, renk değişimi meydana gelmediğini,

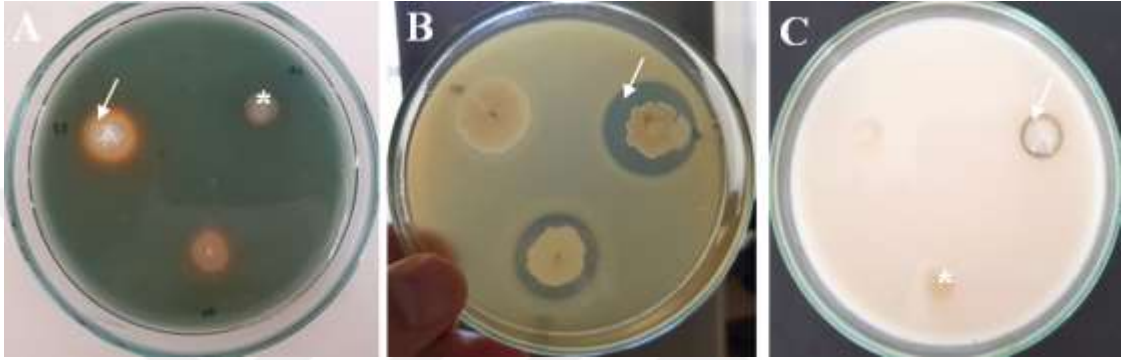
±, +, ++, +++ ise amonyak veya HCN yoğunluğunun artışına bağlı şekilde renk değişiminde meydana gelen artışı ifade eder. Denemelerde yüksek düzeyde etki gösteren bakteri izolatları koyu renkle gösterilmiştir.

Aynı sütun içerisinde bulunan ortalama indeks değerlerinin yanındaki benzer harflere sahip olan izolatlar arasında istatistiksel açıdan bir fark olmadığı anlamına gelir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)

Bakteri izolatlarının *A. alternata*'nın misel gelişimini engellemesinden (antagonistik) sorumlu biyokontrol etki mekanizmalarından olan siderofor (Şekil 4.17 A) ve proteaz enzimi (Şekil 4.17 B) üretim potansiyelleri spesifik besi yerleri üzerinde oluşturdıkları engelleme zonlarının bakteri çapına kıyaslanmasıyla hesaplanmış indeks değerleri ile kantitatif şekilde, diğer mekanizmalar olan amonyak (NH₃) (Şekil 4.18) ve hidrojen siyanür (HCN) (Şekil 4.19) üretim durumları ise yine bu denemeler için spesifik olarak hazırlanan ortamlarda oluşturdıkları renk değişikliklerinin kalitatif şekilde değerlendirilmesiyle belirlenmiştir.

Siderofor üretimi açısından test edilen 30 izolattan sadece 2 tanesinin siderofor oluşturma yeteneğinde olmadıkları, geriye kalan 28 izolatın ise 1.04-2.72 indeks değerleri arasında siderofor üretme yeteneğinde oldukları belirlenmiştir. Farklı tür veya aynı türe ait farklı izolatlar arasında istatistiksel açıdan farklılık olduğu belirlenmiştir. En yüksek siderofor üretimi 2.72 indeks değeri ile *Bacillus megaterium* MA38ep izolatı tarafından gerçekleştirilmiş olup bu izolatı 2.49 ve 2.41 indeks değeri ile sırasıyla *Pseudomonas chlororaphis* MA77ep ve *Enterobacter cloacae* MA2en izolatları izlemiştir (Çizelge 4.7).

Bir diğ er antagonistik etki mekanizması olan proteaz enzim üretimi de birçok izolat (28 adet) tarafından gerçekleştirilmiş olup en yüksek proteaz üretimi 3.71 indeks değeri ile *Bacillus subtilis* MA36en izolatında görülmüştür. Bu izolatu 3.12 indeks değeri ile *Bacillus subtilis* MA48en ve 2.69 indeks değeri ile *Enterobacter cloacae* MA7ep takip etmiştir. Farklı tür veya aynı türe ait farklı izolatlar arasında istatistiksel açıdan farklılık olduğu belirlenmiştir ( izelge 4.7).



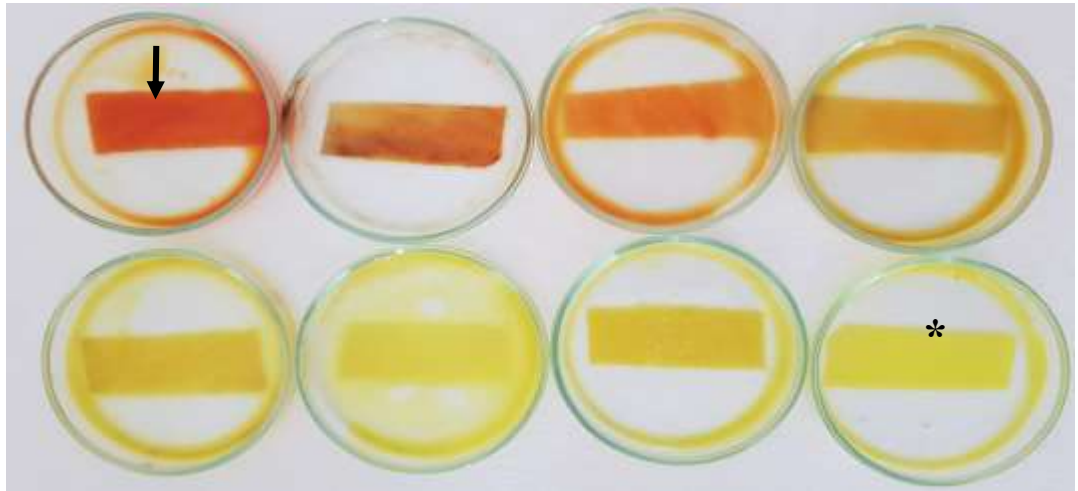
şekil 4.17. Antagonist bakteri izolatlarının (A) CAS Agar’da siderofor, (B) SMLB Agar’da proteaz ve (C) Pikovskaya Agar’da fosfor çözme potansiyellerinin belirlenmesi. Spesifik besi yerleri üzerinde engelleme bölgeleri (ok) oluşturmak suretiyle etkili olan ve olmayan (*) bazı izolatlar

Amonyak  retimi test edilen 30 bakteri izolatının tamamı tarafından gerçekleştirilmiştir. *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MA63ep ve *Bacillus pumilus* MA73en en yüksek miktarda amonyak üreten (+++ düzeyinde) izolatlar olarak belirlenirken bakterilerin büyük kısmının (21 izolat) ++ düzeyinde amonyak ürettikleri saptanmıştır ( izelge 4.7).



Şekil 4.18. Antagonist bakteri izolatları tarafından üretilen amonyak miktarına bağlı olarak tüplerde gözlenen renk değişimi. Soldan sağa doğru sıvı besi yeri içerisinde meydana gelen amonyak üretim miktarına bağlı olarak besiyerinin renginin açık sarı renkten koyu sarı-kahverengine (ok) dönüştüğü görülmektedir

Test edilen 30 izolattan sadece 8 tanesinin hidrojen siyanür (HCN) üretebildiği belirlenmiş olup aralarında *in vitro* ikili kültür testlerinde güçlü antagonistik etkileri saptanmış birçok izolattın ise HCN üretme potansiyellerinin olmadığı belirlenmiştir. *Bacillus megaterium* MA38ep ve *Pseudomonas chlororaphis* MA77ep denemelerde en fazla hidrojen siyanür üretebilen izolatlar olarak belirlenmişlerdir (Çizelge 4.7).



Şekil 4.19. Antagonist bakteri izolatlarının glycine içeren TSA besi yerinde hidrojen siyanür (HCN) üretme potansiyelleri. Bakteri izolatı tarafından ortamda HCN üretimi arttıkça petri kapağındaki filtre kâğıdının rengi sarı renkten (*) koyu kırmızı-turuncu renge (ok) dönüşmüştür

Çizelge 4.8. Farklı endofit ve epifit karakterli antagonist bakteri izolatlarının bitki gelişimini teşvik etmekte kullandıkları Indol asetik asit üretimi ve fosforu çözme durumları

Bakteri İzolatı	IAA (µg/ml)	Fosfor Çözme İndeksi
<i>Bacillus megaterium</i> MA38ep	114.75^m	1.05 ^b
<i>Bacillus megaterium</i> MA41en	37.95 ^l	0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i> MA26ep	14.54 ^j	0.00 ^a
<i>Bacillus pumilus</i> MA73en	12.85 ^{ij}	0.00 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA52ep	11.28 ^{hi}	0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i> MA27en	10.61 ^{gh}	0.00 ^a
<i>Bacillus mojavensis</i> MA59en	9.96 ^{f-h}	0.00 ^a
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MA65en	9.95 ^{f-h}	1.96 ^d
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA77ep	9.84 ^{f-h}	1.15 ^b
<i>Pseudomonas mosselii</i> MA21en	9.75 ^{f-h}	0.00 ^a
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i> MA63ep	9.74 ^{f-h}	1.13 ^b
<i>Bacillus altitudinis</i> MA28en	9.73 ^{f-h}	0.00 ^a
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> MA67en	9.71 ^{f-h}	0.00 ^a
<i>Bacillus atrophaeus</i> MA66ep	9.45 ^{f-h}	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> MA48en	9.20 ^{e-h}	0.00 ^a
<i>Bacillus mojavensis</i> MA19ep	8.84 ^{e-g}	0.00 ^a
<i>Clostridium novyi</i> MA54ep	8.80 ^{e-g}	0.00 ^a
<i>Bacillus thuringiensis</i> MA74ep	8.82 ^{e-g}	0.00 ^a
<i>Bacillus mojavensis</i> MA31en	8.54 ^{d-g}	0.00 ^a
<i>Bacillus cereus</i> MA58en	8.35 ^{d-g}	0.00 ^a
<i>Bacillus mojavensis</i> MA61en	8.09 ^{d-f}	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> MA50ep	8.02 ^{d-f}	0.00 ^a
<i>Enterobacter cloacae</i> MA2en	7.07 ^{c-e}	1.37 ^c
<i>Bacillus subtilis</i> MA18ep	6.32 ^{b-d}	0.00 ^a
<i>Bacillus altitudinis</i> MA17ep	5.80^{bc}	2.33^e
<i>Bacillus subtilis</i> MA36en	5.33 ^{bc}	0.00 ^a
<i>Enterobacter cloacae</i> MA7ep	5.27 ^{bc}	0.00 ^a
<i>Bacillus mojavensis</i> MA12ep	5.20 ^{bc}	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> MA15en	4.54 ^b	0.00 ^a
<i>Bacillus subtilis</i> MA53ep	1.41 ^a	0.00 ^a

^a: Aynı sütun içerisinde bulunan ortalama değerlerin sağındaki benzer harflere sahip olan izolatlar arasında istatistiksel açıdan bir fark olmadığı anlamına gelir (Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05). Denemelerde yüksek düzeyde etki gösteren bakteri izolatları koyu renkle gösterilmiştir.

In vitro ikili kültür testlerinde çeşitli düzeylerde antagonistik etkileri belirlenen farklı bakteri türlerini temsilen seçilen 30 bakteri izolatının bitki büyümesini teşvik etmekte kullanabilecekleri olası indol asetik asit (IAA) üretimi (Şekil 4.20) ve fosforu çözme potansiyelleri (Şekil 4.17 C) *in vitro* koşullarda kantitatif olarak belirlenmiş, denemelerden elde edilen tüm sonuçlara Çizelge 4.8’de yer verilmiştir. Bitki gelişimini teşvik eden hormonlardan biri olan IAA üretimi, test edilen 30 izolatın tamamı

tarafından gerçekleştirilmiş olup bakterilerin 1.41-114.75 µg/ml (ppm) arasında değişen yoğunluklarda IAA ürettikleri belirlenmiştir. En yüksek miktarda IAA üretimi 114.75 ppm ile *Bacillus megaterium* MA38ep izolatı tarafından gerçekleştirilmiş olup, bunu sırasıyla 37.95 ve 14.54 ppm yoğunluklarla *Bacillus megaterium* MA41en ve *Bacillus cereus* MA26ep izolatları izlemiştir (Çizelge 4.8).



Şekil 4.20. Bazı BCA bakteri izolatlarının LB besi ortamı içerisinde IAA üretme potansiyelleri. Üretilen IAA miktarına bağlı olarak besi ortamlarında kırmızıdan pembeye doğru renk değişimleri (ok) meydana gelmiştir

Bu çalışmada *in vitro* ikili kültür denemelerinde etkili oldukları saptanan *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine bağlı farklı türlere ait bakteri izolatlarının bitki gelişimini teşvik eden fosforu çözme, IAA üretimi ve antagonist etkilerin ortaya çıkmasına olanak sağlayan proteaz, siderofor, amonyak, hidrojen siyanür üretimi gibi çeşitli etki mekanizmalarını kullanarak gerek bitki gelişimini artırdıkları gerekse bitki hastalıklarını engelleyebildikleri bazı çalışmalarla rapor edilmiştir (Mohanty ve ark., 2021).

Bakteri izolatlarının bitki büyümesini teşvik etmekte kullandıkları bir diğer etki mekanizması olan fosforu çözme potansiyelleri tri kalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besi yeri üzerinde bakterilerin ürettiği enzimler sonucu tri kalsiyum fosfatın çözülmesiyle oluşan engelleme zonlarının bakteri çapına kıyaslanmasıyla ortaya çıkan indeks değerlerinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir. Denemeler sonrası elde edilen sonuçlara göre test edilen 30 izolat arasından sadece 6 tanesinin fosforu çözme potansiyellerinin olduğu, aralarında *in vitro* koşullarda güçlü antagonistik etkiler

gösteren birçok izolatin ise herhangi bir şekilde besi ortamında fosforu çözmedikleri belirlenmiştir. Fosforu çözme bakımından en yüksek etkiyi 2.33 indeks değeri ile *Bacillus altitudinis* MA17ep izolatu göstermiş olup bunu sırasıyla 1.96 ve 1.37 indeks değerleriyle *Pseudomonas aeruginosa* MA65en ve *Enterobacter cloacae* MA2en izolatları takip etmiştir (Çizelge 4.8).

İndol Asetik Asit (IAA) bitki gelişimine olumlu katkıları olan bir hormon olup *Actinomyces*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Klebsiella*, *Pantoea*, *Methylobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella* ve *Staphylococcus* cinsine dahil farklı bakteri türlerinin bitki büyümesine katkıları olan bu hormonu üretebildiği bildirilmiştir (Hayat ve ark., 2010). Bakterilerin patojenlere karşı antagonistik etkilerinin kaynağı olan etki mekanizmalarından olan amonyak, hidrojen siyanür, siderofor ve proteaz üretimi ise *Acinetobacter*, *Bacillus* ve *Pseudomonas*'ın farklı türlerine ait izolatlar tarafından dünyanın farklı ülkelerinde ve ülkemizde gerçekleştirilmiş çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Emdirme, 2019).

Biyolojik mücadele amacıyla kullanılan bakteri izolatları çeşitli etki mekanizmaları sayesinde bitki hastalık etmenlerine karşı etki gösterebilirler. Bakteri türüne göre değişmekle beraber; antibiyosis, antimikrobiyal metabolitler üretilmesi, hiperparazitizm, hedef patojen mikroorganizma ile yer ve besin rekabetine girilmesi, indol asetik asit (IAA), siderofor, amonyak, hidrojen siyanür, proteaz, selülaz, kitinaz, gibi çeşitli hormon/enzimlerin üretilmesi sayesinde bitki hastalıklarına karşı biyolojik mücadele kapsamında etkili olabilmektedirler (Babalola, 2010; Khabbaz ve ark., 2015).

Zhang ve ark. (2015), patates rizosferinden ve soya yapraklarından elde ettikleri farklı türlere ait bakteri izolatlarının (*Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. chlororaphis* ve diğer bazı türler) 10 farklı fitopatojen türe karşı antagonistik etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. PCR analizleri ile *Pseudomonas* izolatlarında phlD, phzFA, prnD ve pltC *Bacillus* izolatlarında ise bmyB, bacA, ituD, srfAA ve fenD gibi birçok antibiyotik biyosentetik geninin varlığı ortaya çıkarılmıştır. Patojenlere karşı değişen oranlarda antifungal etki sergileyen izolatların türe göre değişmekle beraber farklı seviyelerde hidrojen siyanür (HCN), siderofor, β -1,3-glukanaz, kitinaz, proteaz, indol-3-asetik asit ve salisilik asit ürettiği, ayrıca azot fiksasyonu ve fosfat çözünürlüğü açısından çeşitlilik gösterdikleri belirtilmiştir.

Bu çalışmada antagonist etkileri araştırılan bakteri izolatlarının hastalık etmenini engellemede kullanabilecekleri siderofor, amonyak, proteaz ve hidrojen üretimi gibi biyoetkinlik mekanizmaları, ayrıca bitki gelişimine katkıları olası fosforu çözme ve IAA üretme mekanizmalarının belirlenmesine yönelik ülkemizde ve dünyada yapılmış çalışmalar mevcuttur (Soylu ve ark., 2005; Aktan ve Soylu, 2020; Köse, 2024; Özkaya, 2024). Rajarathinam ve ark. (1995) topraktan izole etmiş oldukları *Bacillus megaterium*, *B. polymyxa* ve *Pseudomonas stutzeri* izolatlarını fosforu çözme potansiyeli açısından etkili bulmuşlardır. Chakraborty ve ark. (2006) çay bitkisinin rizosfer bölgesinden elde ettikleri bakteri izolatlarından biri olan *Bacillus megaterium*'un yüksek fosfor çözünürlüğü ve IAA üretimi sayesinde bitki gelişimini teşvik ettiği, antifungal metabolitlerin üretiminden dolayı ise hastalığın yoğunluğunun düşürülmesine olanak sağladığını bildirmişlerdir. Bishi ve Vakharia (2015), 11 floresan *Pseudomonas* izolatının antifungal etkilerini araştırdıkları çalışmada bu izolatlardan biri olan SKPf5'in bitki gelişimine ve hastalıkların engellenmesine olanak sağlayan siderofor, antimikrobiyal metabolitler, salisilik asit (SA) ve indol asetik asit (IAA) bileşikler üretebildiğini bildirmişlerdir. Yapılan biyokimyasal analiz sonrası bu izolatın ayrıca üretebildiği β -1,3 glukanaz, kitinaz ve proteaz sayesinde patojen fungusun poligalakturonaz ve selüloz aktivitesine engel olduğunu belirlemişlerdir. *Pseudomonas* izolatlarının bu enzimler dışında ayrıca yüksek oranda salisilik asit (SA) ve IAA üretebildikleri de belirtilmiştir.

4.13. Aday Endofit ve Epifit Bakteri İzolatlarının *Alternaria alternata*'nın Neden Olduğu Hastalık Çıkışı Üzerine Olan *in vivo* Etkilerinin Belirlenmesi

İn vitro ikili kültür testleriyle *A. alternata*'ya karşı antagonist etkileri araştırılan endofit ve epifit karakterli 47 bakteri izolatının hastalık çıkışı üzerine olan yarı *in vivo* etkileri, sağlıklı Trabzon hurması meyveleri üzerinde yapılan denemeler sonrası belirlenmiştir. BCA bakteri izolatlarının koruyucu ve tedavi edici etkinlikleri iki farklı inokulasyon yönteminin kullanıldığı denemelerle belirlenmiş olup (Şekil 4.21, Şekil 4.22) elde edilen sonuçlar Çizelge 4.9'da verilmiştir.

“**Disk inokulasyon**” yöntemi kullanılarak yapılan etkinlik denemelerinde BCA bakteri izolatlarının “**tedavi edici**” etkinlik oranı oldukça düşük oranlarda gözlenmiş

olup, hastalık çıkışının engellenme oranı %0.98 ile %29.05 aralığında gerçekleşmiştir. En yüksek etkinlik %29.05 engelleme oranı ile *Curtobacterium flaccumfaciens* MA67en ve *Pseudomonas mosselii* MA21en izolatlarınca gösterilmiştir. Aynı inokulasyon yönteminin kullanıldığı çalışmalarda BCA bakteri izolatlarının “**koruyucu**” etkinlik oranı nispeten daha yüksek oranlarda gerçekleşmiş olup bu uygulama şeklinde meyvelerdeki hastalık çıkışının engellenme oranı %10.92 ile %49.98 aralığında gerçekleşmiştir. Bu tür uygulama yapılan meyvelerde hastalık çıkışının engellenmesinde en yüksek etkinlik %49.98 engelleme oranları ile *Bacillus subtilis* MA1ep ve *Bacillus cereus* MA58en izolatları tarafından gösterilmiştir (Çizelge 4.9).

“**Kürdan inokulasyon**” yöntemi kullanılarak yapılan etkinlik denemelerinde BCA bakteri izolatlarının gerek “**tedavi edici**” gerekse “**koruyucu**” etkinlikleri “**disk inokulasyon**” yöntemine kıyasla daha etkili olmuştur. Kürdan ile inokule edilen meyvelerde BCA bakteri izolatlarının “**tedavi edici**” etkinlikleri %6.23 ile %86.63 engelleme oran aralığında gerçekleşmiştir. Bu tür uygulamada en yüksek **tedavi edici** antifungal etkinlik %86.63 engelleme oranı ile *Bacillus cereus* MA57en izolatı tarafından gösterilirken, bu izolatı %79.90 engelleme oranı ile *Bacillus subtilis* MA48en ile %76.58 engelleme oranı ile *Bacillus subtilis* MA29en izolatları takip etmiştir.

Aynı inokulasyon yönteminin kullanıldığı çalışmalarda BCA bakteri izolatlarının “**koruyucu**” etkinlik oranı “**tedavi edici**” etkinliğe kıyasla nispeten daha yüksek oranlarda gerçekleşmiş olup ((Şekil 4.23) bu uygulama şeklinde meyvelerdeki hastalık çıkışının engellenme oranı en düşük %61.69, en yüksek ise %86.12 aralığında gerçekleşmiştir. Bu tür uygulama yapılan meyvelerde hastalık çıkışının engellenmesinde en yüksek etkinlik %86.12 engelleme oranı ile *Bacillus cereus* MA57en ve *Bacillus mojavensis* MA61en izolatları tarafından gösterilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Farklı inokulasyon tekniklerinin uygulandığı meyvelerde BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata* tarafından neden olunan hastalık çıkışının engellenmesi üzerine olan yarı *in vivo* “tedavi edici” ve “koruyucu” etkileri.

Bakteri izolatı	Disk İnokulasyon Tekniği				Kürdan İnokulasyon Tekniği			
	Tedavi Edici Etki		Koruyucu Etki		Tedavi Edici Etki		Koruyucu Etki	
	LÇ	%EN	LÇ	%EN	LÇ	%EN	LÇ	%EN
<i>Bacillus cereus</i> MA57en	20.67 ⁱ⁻ⁿ	8.34	11.67 ^{ab}	45.29	1.33^a	86.63	1.33^a	86.12
<i>Bacillus mojavensis</i> MA61en	21.33 ^{k-n}	5.41	11.67 ^{ab}	45.29	6.67 ^{k-o}	32.96	1.33^a	86.12
<i>Bacillus mojavensis</i> MA31en	18.67 ^{c-h}	17.21	13.00 ^{b-e}	39.05	6.00 ^{i-m}	39.7	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus altitudinis</i> MA28en	17.33 ^{a-d}	23.15	12.00 ^{a-c}	43.74	7.33 ^{m-p}	26.33	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA52ep	18.00 ^{b-f}	20.18	11.67 ^{ab}	45.29	5.67 ^{h-m}	43.02	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus cereus</i> MA26ep	20.33 ^{h-m}	9.84	14.33 ^{d-h}	32.82	7.00 ^{l-p}	29.65	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus cereus</i> MA27en	19.33 ^{e-j}	14.28	17.67 ^{k-m}	17.16	4.33 ^{d-i}	56.48	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus mojavensis</i> MA22en	20.00 ^{g-l}	11.31	18.00 ^{lm}	15.61	5.33 ^{g-l}	46.43	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus pumilus</i> MA73en	17.33 ^{a-d}	23.15	15.33 ^{f-j}	28.13	7.00 ^{l-p}	29.65	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> MA15en	20.33 ^{h-m}	9.84	14.00 ^{c-g}	34.36	6.00 ^{i-m}	39.70	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus subtilis</i> MA48en	20.33 ^{h-m}	9.84	15.33 ^{f-j}	28.13	2.00 ^{ab}	79.90	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus thuringiensis</i> MA74ep	19.00 ^{d-i}	15.74	13.67 ^{b-f}	35.91	3.67 ^{b-g}	63.12	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Enterobacter cloacae</i> MA2en	19.00 ^{d-i}	15.74	14.33 ^{d-h}	32.82	5.33 ^{g-l}	46.43	1.67 ^{ab}	82.57
<i>Bacillus altitudinis</i> MA17ep	21.00 ^{j-n}	6.87	16.33 ^{h-l}	23.44	4.00 ^{c-h}	59.80	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus altitudinis</i> MA46ep	17.00 ^{a-c}	24.61	14.33 ^{d-h}	32.82	7.00 ^{l-p}	29.65	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus cereus</i> MA47ep	21.00 ^{j-n}	6.87	14.67 ^{e-i}	31.22	3.33 ^{b-f}	66.53	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus cereus</i> MA58en	21.67 ^{l-n}	3.90	10.67^a	49.98	3.00 ^{a-e}	69.85	2.00 ^{a-c}	79.12

Çizelge 4.9. (Devamı) Farklı inokulasyon tekniklerinin uygulandığı meyvelerde BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata* tarafından neden olunan hastalık çıkışının engellenmesi üzerine olan yarı *in vivo* “tedavi edici” ve “koruyucu” etkileri.

<i>Bacillus cereus</i> MA64en	17.67 ^{a-e}	21.64	16.00 ^{g-l}	24.99	5.00 ^{f-k}	49.75	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus endophyticus</i> MA34en	16.67 ^{ab}	26.08	15.33 ^{f-j}	28.13	6.33 ⁱ⁻ⁿ	36.38	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus mojavensis</i> MA19ep	18.67 ^{c-h}	17.21	13.67 ^{b-f}	35.91	9.33 ^{m-p}	6.23	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus mojavensis</i> MA12ep	21.67 ^{l-n}	3.90	16.33 ^{h-l}	23.44	3.67 ^{b-g}	63.12	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus mojavensis</i> MA59ep	22.00 ^{m-n}	2.44	17.00 ^{i-m}	20.30	5.67 ^{h-m}	43.02	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus subtilis</i> MA1ep	19.67 ^{f-k}	12.77	10.67^a	49.98	7.00 ^{l-p}	29.65	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus subtilis</i> MA29en	17.00 ^{a-c}	24.61	14.67 ^{e-i}	31.22	2.33 ^{a-c}	76.58	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus subtilis</i> MA36en	18.67 ^{c-h}	17.21	14.00 ^{c-g}	34.36	4.33 ^{d-i}	56.48	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus subtilis</i> MA50ep	20.33 ^{h-m}	9.84	13.67 ^{b-f}	35.91	5.00 ^{f-k}	49.75	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus subtilis</i> MA76ep	20.33 ^{h-m}	9.84	13.00 ^{b-e}	39.05	8.33 ^{m-p}	16.28	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> MA67en	16.00^a	29.05	14.00 ^{c-g}	34.36	6.33 ⁱ⁻ⁿ	36.38	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> MA77ep	18.67 ^{c-h}	17.21	12.33 ^{a-d}	42.19	4.00 ^{c-h}	59.80	2.00 ^{a-c}	79.12
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA44ep	18.67 ^{c-h}	17.21	14.00 ^{c-g}	34.36	4.00 ^{c-h}	59.80	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MA55ep	21.00 ⁱ⁻ⁿ	6.87	19.00 ^m	10.92	6.33 ⁱ⁻ⁿ	36.38	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i> MA63ep	20.67 ⁱ⁻ⁿ	8.34	15.67 ^{f-k}	26.54	7.00 ^{l-p}	29.65	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus atrophaeus</i> MA66ep	21.33 ^{k-n}	5.41	14.67 ^{e-i}	31.22	2.67 ^{a-d}	73.17	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus megaterium</i> MA10ep	19.67 ^{f-k}	12.77	15.00 ^{e-j}	29.68	8.00 ^{m-p}	19.60	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus megaterium</i> MA35ep	18.67 ^{c-h}	17.21	16.67 ^{i-l}	21.85	5.33 ^{g-l}	46.43	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus megaterium</i> MA38ep	19.67 ^{f-k}	12.77	17.67 ^{km}	17.16	7.33 ^{m-p}	26.33	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus megaterium</i> MA8en	18.67 ^{c-h}	17.21	14.33 ^{d-h}	32.82	3.67 ^{b-g}	63.12	2.33 ^{b-d}	75.68

Çizelge 4.9. (Devamı) Farklı inokulasyon tekniklerinin uygulandığı meyvelerde BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata* tarafından neden olunan hastalık çıkışının engellenmesi üzerine olan yarı *in vivo* “tedavi edici” ve “koruyucu” etkileri.

<i>Bacillus subtilis</i> MA18ep	17.67 ^{a-e}	21.64	14.67 ^{e-j}	31.22	5.67 ^{h-m}	43.02	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus subtilis</i> MA40en	17.33 ^{a-d}	23.15	14.00 ^{c-g}	34.36	5.67 ^{h-m}	43.02	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Clostridium novyi</i> MA54ep	18.33 ^{b-g}	18.71	13.00 ^{b-e}	39.05	5.33 ^{g-l}	46.43	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Enterobacter cloacae</i> MA7ep	22.33 ⁿ	0.98	18.00 ^{lm}	15.61	8.67 ^{m-p}	12.86	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Pseudomonas mosselii</i> MA21en	16.00 ^a	29.05	14.33 ^{d-h}	32.82	8.67 ^{m-p}	12.86	2.33 ^{b-d}	75.68
<i>Bacillus megaterium</i> MA41en	20.33 ^{h-m}	9.84	18.00 ^{lm}	15.61	5.00 ^{f-k}	49.75	2.67 ^{c-e}	72.13
<i>Bacillus subtilis</i> MA53ep	18.00 ^{b-f}	20.18	13.67 ^{b-f}	35.91	5.33 ^{g-l}	46.43	2.67 ^{c-e}	72.13
<i>Bacillus mycoides</i> MA43en	19.33 ^{e-j}	14.28	14.67 ^{e-j}	31.22	4.67 ^{e-j}	53.07	3.00 ^{d-f}	68.68
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> MA65en	18.67 ^{c-h}	17.21	13.67 ^{b-f}	35.91	4.00 ^{c-h}	59.80	3.33 ^{ef}	65.24
<i>Bacillus pumilus</i> MA24en	19.33 ^{e-j}	14.28	12.33 ^{a-d}	42.19	8.67 ^{m-p}	12.86	3.67 ^f	61.69
Kontrol	22.55^{k-n}	0	21.33ⁿ	0	9.95^{m-p}	0	9.58^g	0

Koyu renkle gösterilen izolatlar uygulamada en yüksek etkinlik gösteren BCA izolatını gösterir.

LÇ: Bakteri+fungus inokulasyonları sonrası meyve yüzeyinde oluşan lezyon gelişim çapı (mm); **%EN:** Lezyon gelişiminin % (yüzde) engellenme oranı

Tedavi edici etki: Meyveye önce BCA bakteri izolatı, 1 saat sonra ise fungus izolatı inokule edilmiştir. **Koruyucu etki:** Meyveye önce BCA bakteri izolatı, 48 saat sonra ise fungus izolatı inokule edilmiştir.

Disk İnokulasyonu: Meyvede açılan yara yerine 6 mm çapındaki fungus miseli inokule edilmiştir. **Kürdan ile inokulasyon:** Meyvede açılan yara yerine kürdan ucu dolusu fungus miseli inokule edilmiştir.

Aynı sütun içerisinde yer alan ortalama lezyon çap (mm) değerlerinin yanındaki benzer harfler izolatların etkinlikleri arasındaki farkın önemli olmadığını gösterir (Duncan's Çoklu Karşılaştırma Testi, P<0.05)

Özellikle *in vitro* ikili kültür denemelerinde misel gelişimini engellemede en güçlü BCA bakteri izolatı olarak belirlenen *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MA63ep izolatı “disk inokulasyon” yöntemi ile gerçekleştirilen *in vivo* meyve denemelerinde nispeten daha zayıf antagonistik etki sergilemiştir. Disk inokulasyon yönteminde bu izolat “koruyucu” olarak %26.54, tedavi edici olarak ise sadece %8.34 oranında lezyon gelişimini engelleyebilmiştir. Disk inokulasyon yönteminin kullanıldığı denemelerdeki tüm izolatların meyveler üzerinde lezyon gelişimini engelleme oranlarının ortalamaları göz önünde bulundurulduğunda (tedavi edici uygulamalarda %14.58; koruyucu uygulamalarda %31.90) BCA bakteri izolatının meyvelerde beklenen düzeyde antifungal etkiyi göstermediği söylenebilir.

Bir diğer yöntem olan “kürdan” ile inokulasyonda BCA bakteri izolatlarının antifungal etkinliği gerek “koruyucu” gerekse “tedavi edici” uygulamalarda daha yüksek düzeylerde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.22). Bu yöntemin kullanıldığı uygulamalarda “koruyucu” etkinlik değerlerine bakıldığında tüm izolatların meyve üzerinde lezyon gelişimini %50’nin üzerinde engelledikleri belirlenmiştir. Kürdan ile inokulasyon yönteminin kullanıldığı denemelerdeki tüm izolatların *in vivo* lezyon gelişimini engelleme oranlarının ortalamaları göz önünde bulundurulduğunda (tedavi edici uygulamalarında %44.76; koruyucu uygulamalarda %78.09) BCA bakteri izolatların meyvelerde oldukça yüksek düzeyde antifungal etki gösterdiği söylenebilir (Çizelge 4.9).

BCA bakteri izolatlarının *in vitro* ikili kültür testlerindeki etkinlikleri ile *in vivo* etkinliklerinin kıyaslandığı % (yüzde) engelleme oranları Çizelge 4.10’da sunulmuştur. Elde edilen verilere göre bakteriyel izolatların *in vitro* ve *in vivo* koşullardaki antifungal etkinlikleri arasında farklılıklar gözlenmiştir.

Çizelge 4.10. BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'ya karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda misel gelişimi ve hastalık gelişiminin engellenmesinde (%) gösterdikleri antifungal etkinliklerin^a karşılaştırılması.

	in vitro İkili kültür	In vivo lezyon oluşumunu engelleme (%)				Tüm uygulamaların ortalama etkinliği
		Disk inokulasyon		Kürdan inokulasyon		
		MGE (%)	TE	KE	TE	
Bacillus subtilis MA29en	75.00	24.61	31.22	76.58	79.12	57.31
Bacillus cereus MA57en	57.78	8.34	45.29	86.63	86.12	56.83
Bacillus subtilis MA48en	78.89	9.84	28.13	79.90	82.57	55.87
Bacillus cereus MA58en	60.56	3.90	49.98	69.85	79.12	52.68
Bacillus subtilis MA36en	74.44	17.21	34.36	56.48	79.12	52.32
Bacillus amyloliquefaciens MA52ep	67.22	20.18	45.29	43.02	82.57	51.65
Bacillus atrophaeus MA66ep	72.22	5.41	31.22	73.17	75.68	51.54
Pseudomonas chlororaphis MA77ep	57.78	17.21	42.19	59.80	79.12	51.22
Bacillus mojavensis MA31en	72.78	17.21	39.05	39.70	82.57	50.26
Bacillus thuringiensis MA74ep	51.67	15.74	35.91	63.12	82.57	49.80
Bacillus subtilis MA40en	72.78	23.15	34.36	43.02	75.68	49.80
Clostridium novyi MA54ep	68.33	18.71	39.05	46.43	75.68	49.64
Bacillus subtilis MA50ep	72.22	9.84	35.91	49.75	79.12	49.37
Bacillus amyloliquefaciens MA44ep	57.78	17.21	34.36	59.80	75.68	48.97
Bacillus mojavensis MA61en	73.89	5.41	45.29	32.96	86.12	48.73
Bacillus subtilis MA18ep	71.67	21.64	31.22	43.02	75.68	48.65
Pseudomonas aeruginosa MA65en	64.44	17.21	35.91	59.80	65.24	48.52
Bacillus subtilis MA53ep	67.78	20.18	35.91	46.43	72.13	48.49
Bacillus subtilis subsp. subtilis MA15en	75.56	9.84	34.36	39.70	82.57	48.41
Bacillus cereus MA27en	71.11	14.28	17.16	56.48	82.57	48.32
Bacillus mojavensis MA12ep	71.11	3.90	23.44	63.12	79.12	48.14
Bacillus cereus MA64en	63.89	21.64	24.99	49.75	79.12	47.88
Bacillus cereus MA47ep	52.22	6.87	31.22	66.53	79.12	47.19
Bacillus subtilis MA1ep	63.89	12.77	49.98	29.65	79.12	47.08
Bacillus cereus MA26ep	76.11	9.84	32.82	29.65	82.57	46.20
Bacillus mojavensis MA22en	67.78	11.31	15.61	46.43	82.57	44.74
Bacillus amyloliquefaciens subsp. plantarum MA63ep	80.56	8.34	26.54	29.65	75.68	44.15
Bacillus subtilis MA76ep	75.56	9.84	39.05	16.28	79.12	43.97
Bacillus pumilus MA73en	56.11	23.15	28.13	29.65	82.57	43.92
Bacillus mojavensis MA59ep	72.78	2.44	20.30	43.02	79.12	43.53
Bacillus altitudinis MA28en	41.67	23.15	43.74	26.33	82.57	43.49
Curtobacterium flaccumfaciens MA67en	36.11	29.05	34.36	36.38	79.12	43.01
Bacillus altitudinis MA17ep	44.44	6.87	23.44	59.80	79.12	42.74
Bacillus mojavensis MA19ep	74.44	17.21	35.91	6.23	79.12	42.58
Bacillus amyloliquefaciens MA55ep	79.44	6.87	10.92	36.38	75.68	41.86

Çizelge 4.10. (Devam) BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'ya karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda misel gelişimi ve hastalık gelişiminin engellenmesinde (%) gösterdikleri antifungal etkinliklerine karşılaştırılması.

<i>Enterobacter cloacae</i> MA2en	31.67	15.74	32.82	46.43	82.57	41.85
<i>Bacillus altitudinis</i> MA46ep	42.22	24.61	32.82	29.65	79.12	41.68
<i>Bacillus megaterium</i> MA8en	13.33	17.21	32.82	63.12	75.68	40.43
<i>Pseudomonas mosselii</i> MA21en	46.67	29.05	32.82	12.86	75.68	39.42
<i>Bacillus megaterium</i> MA35ep	29.44	17.21	21.85	46.43	75.68	38.12
<i>Bacillus endophyticus</i> MA34en	13.89	26.08	28.13	36.38	79.12	36.72
<i>Bacillus megaterium</i> MA41en	32.22	9.84	15.61	49.75	72.13	35.91
<i>Bacillus megaterium</i> MA38ep	47.22	12.77	17.16	26.33	75.68	35.83
<i>Bacillus pumilus</i> MA24en	41.67	14.28	42.19	12.86	61.69	34.54
<i>Bacillus mycoides</i> MA43en	3.33	14.28	31.22	53.07	68.68	34.12
<i>Bacillus megaterium</i> MA10ep	7.22	12.77	29.68	19.60	75.68	28.99
<i>Enterobacter cloacae</i> MA7ep	26.11	0.98	15.61	12.86	75.68	26.25

^a Değerler Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.9'daki verilerden derlenmiştir.

Koyu renkli BCA bakteri izolatları test edildikleri sütunda antifungal etkinlik açısından en yüksek ilk 3 sırada olanları gösterir. **MGE**: Misel gelişiminin % engellenme değerleri; **TE**: *in vivo* tedavi edici antifungal etkinliği; **KE**: *in vivo* koruyucu antifungal etkinliği

In vitro ikili kültür denemelerinde misel gelişimini %80.56 gibi en yüksek oranda engelleyen *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MA63ep izolatının *in vivo* koşullarda meyvelerde hastalık çıkışının engellenmesindeki tedavi edici etkinliği %8.34-29.65; koruyucu etkinliği %26.54-75.68 aralığında gerçekleşmiştir.

Tersi durumda *in vivo* koşullarda hastalık çıkışını engellemede etkinliği en yüksek ilk 3 izolat olan *Bacillus mojavensis* MA61en (%86.12 engelleme) *in vitro* misel gelişimini engellemedeki etkinliği %73.89, *Bacillus cereus* MA57en (%86.12 engelleme) izolatının *in vitro* misel gelişimini engellemedeki etkinliği %57.78, *Bacillus subtilis* MA48en (%82.57 engelleme) izolatının *in vitro* misel gelişimini engellemedeki etkinlikleri %78.89 oranında gerçekleşmiştir.

BCA bakteri izolatlarının *in vitro* ve *in vivo* antifungal etkinlik çalışmalarında kaydedilen değerlerin ortalaması alındığında *Bacillus subtilis* MA29en (%57.31), *Bacillus cereus* MA57en (%56.83) ve *Bacillus subtilis* MA48en (%55.87) izolatları fungal hastalık etmenine karşı en yüksek etkinlik gösteren BCA izolatlar olmuşlardır (Çizelge 4.10).

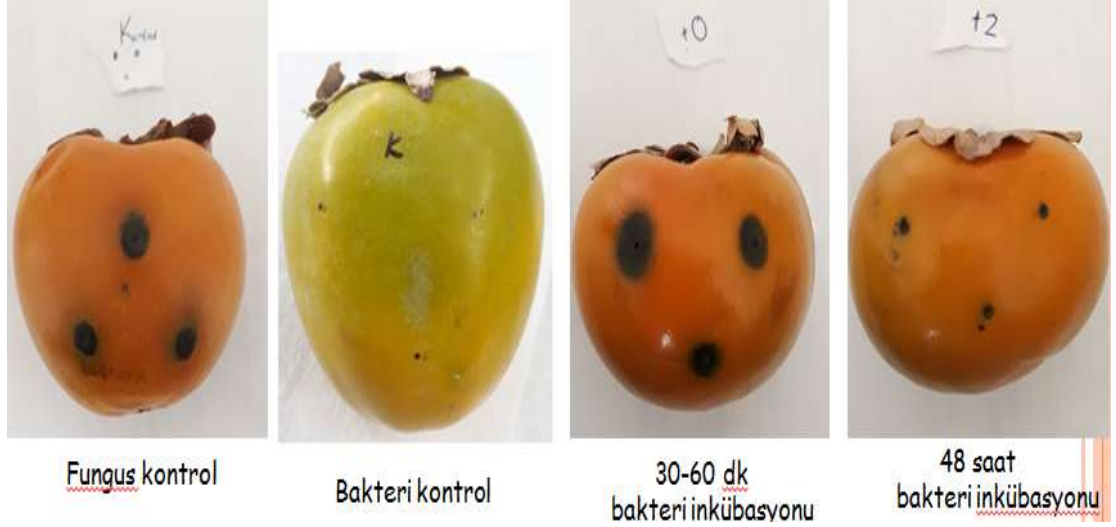
Antagonist bakteri izolatlarının *in vitro* ve *in vivo* etkinlik denemelerinde gösterdikleri antifungal etkinliklerindeki farklılık patates ve yerfıstığında sorun fungal etmenlere karşı daha önceden yapılmış biyolojik mücadele çalışmalarında da

bildirilmiştir (Köse, 2024; Özkaya, 2024). *In vitro* ve *in vivo* çalışmalardaki antifungal etkinliklerde gözlenen bu tür farklılıklar, izolatların doğrudan antifungal metabolitleri üretmelerin yanı sıra, bazı BCA bakteri izolatlarının bitkide var olan dayanıklılığı teşvik eden mekanizmalardan kaynaklanabileceği önceden yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Kumar ve ark., 2020). Bu tür izolatların ayrıca canlı bitki dokularında yer ve/veya besin açısından patojen funguslarla rekabete girerek de patojenlerin gelişimini baskılayabildikleri bildirilmiştir (Dukare ve ark., 2019).

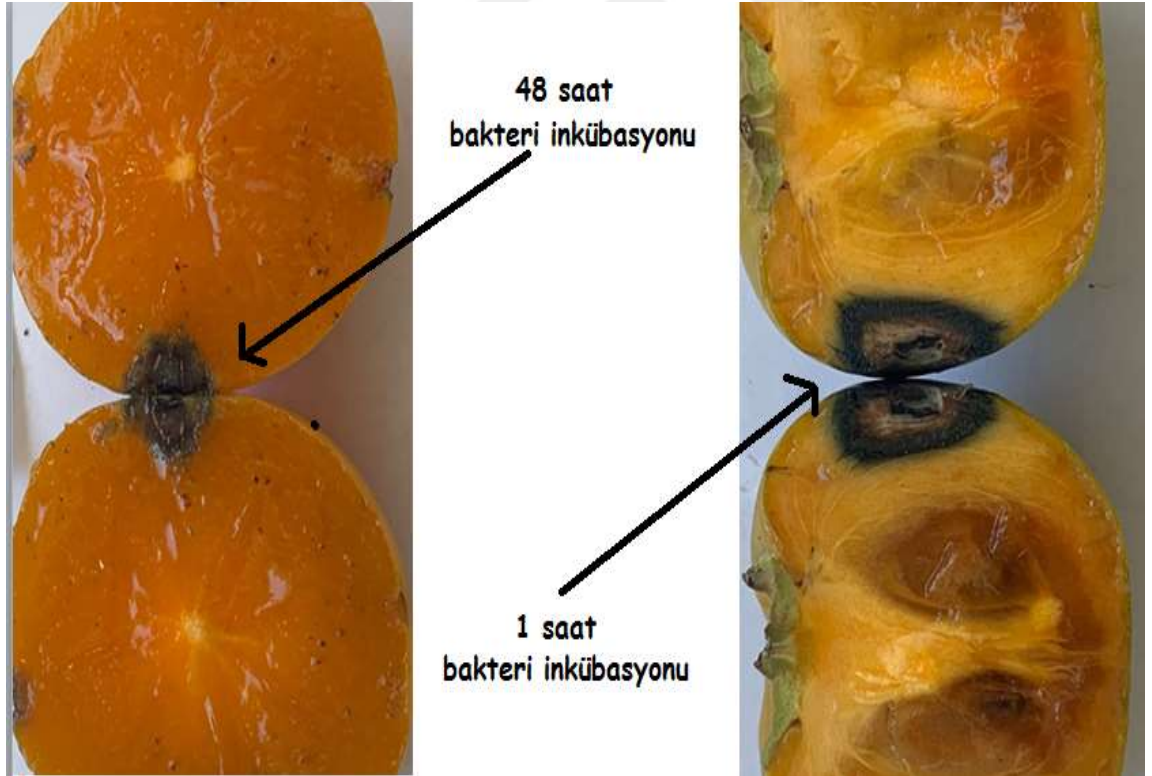
Çalışmadan elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde aynı türlere ait bakteri izolatları arasında antagonistik ve bitki büyümesini teşvik eden mekanizmaları arasında farklar olduğu görülmüştür. Bu tür bir durumun ortaya çıkmasında bakteri izolatının geliştiği bitkinin yetiştiği çevre koşullarından, ayrıca bitki ve bakteri izolatlarının genetik yapılarındaki farklılıktan ileri gelebileceği varsayılmaktadır. Buna benzer durumlar daha önce yapılmış çok sayıda araştırma sonucunda bildirilmiştir (Bernal ve ark., 2002; Araujo ve ark., 2005).



Şekil 4.21. Misel disk yöntemiyle yapılan inokulasyonlarda BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'ya karşı *in vivo* “koruyucu” ve “tedavi edici” antifungal etkileri



Şekil 4.22. Kürdan inokulasyon yöntemiyle yapılan inokulasyonlarda BCA bakteri izolatlarının *Alternaria alternata*'ya karşı *in vivo* “koruyucu” ve “tedavi edici” antifungal etkileri. İzolatın koruyucu şekilde uygulanmasının (bakterinin 48 saat inkübasyonu) meyvede *Alternaria alternata* kaynaklı lezyon oluşumunu büyük oranda engellediği açık şekilde görülmektedir



Şekil 4.23. Meyvelere *Alternaria alternata*'ya karşı BCA bakteri izolatların “koruyucu” (sol) ve “tedavi edici” (sağ) etkinliği sonucunda meyvelerde oluşan lezyonlar. Bakterilerin “koruyucu” etkisi her zaman için “tedavi edici” etkisinden daha etkili bulunmuştur

Denemelerden elde edilen sonuçlara genel olarak bakıldığında; hem “disk” ile hem de “kürdan” ile meyvelere misel aktarılması yöntemleriyle yapılan yarı *in vivo* denemelerde *Alternaria alternata* MA23 izolatına karşı bir bakteri izolatının “koruyucu” şekilde uygulamasının her zaman için “tedavi edici” uygulamasından daha etkili olduğu görülmüştür (Çizelge 4.9, Şekil 4.23). Benzer bir çalışmada Köse, (2024), patatesten sorun olarak belirledikleri fungal etmenlerden *F. sambucinum* ve *G. candidum*’a karşı antagonistik etkilerini araştırdıkları BCA bakteri izolatlarının benzer şekilde koruyucu etkilerinin (yumrulara fungus inokulasyonu öncesi 2 gün inkübasyona bırakılan izolatlar) tedavi edici (fungusla beraber aynı zamanda inokule edilen izolatlar) etkilerinden daha yüksek düzeylerde gerçekleştiğini bildirmiştir. Bu yönüyle sonuçlar birbirini destekler niteliktedir.

Misel diski ile yapılan inokulasyonlara kıyasla kürdan ile meyvelere yapılan fungus inokulasyonlarda, *in vivo* koşullarda bir bakteri izolatının fungal etmeni daha fazla engelleyebildiği belirlenmiştir. Bu tür bir etkinin ortaya çıkma sebeplerden biri olarak uygulamalar arasındaki fungus inokulum yoğunluğu farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim 6mm çapındaki bir misel diskinde yer alan *A. alternata*’nın konidi/hiflerinin miktarı ile yaklaşık 1 mm çapında olan kürdan ucuyla alınan misel parçasındaki konidi ve hiflerin miktarı birbirinden oldukça farklı çıkacaktır. Patojenlerin doğada konukçusu olan bir bitkiyi enfeksiyon etmek için ihtiyaç duyacağı inokulum yoğunluğu fungus türüne göre değişebilmekle beraber inokulum yoğunluğa bağlı olarak hastalık şiddetinin değiştiğine yönelik çalışmalar bildirilmiştir. Southwell ve ark. (1980) sera çalışmaları ile *A. alternata*’nın sert buğdayda neden olduğu siyah nokta hastalığının görülme sıklığının hem inokulum yoğunluğu hem de inokulum zamanı ile doğru orantılı olduğunu bildirmişlerdir. Buna benzer başka bir çalışmada Sunitha ve Jha (2023), karnabaharda önemli bir hastalık etmeni olan *Alternaria brassicae*’nin farklı inokulum seviyelerinin karnabaharda *Alternaria* yaprak lekesi hastalığının gelişimi üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. En düşük % (yüzde) hastalık şiddeti (%7.41) 5 g inokulum uygulamasıyla fark edilirken, 40 g inokulum uygulamasında yapraklarda hastalık şiddeti %50.81 ile maksimum seviyede tespit edilmiştir.

Bu çalışmada her ne kadar *A. alternata*’nın farklı inokulum yoğunluklarının Trabzon hurması meyvelerinde lezyon gelişimine etkileri direkt olarak araştırılmamış

olsada çalışmamızda “disk” veya “kürdan” ile yapılan inokulasyonlarda hastalık etmenin farklı düzeylerde engellediği ve sonuç olarak lezyon gelişimi üzerine etkisinin olduğu açıkça görülmüştür. Benzer şekilde patojenisite çalışmalarında meyvelere kürdan ile misel aktarıldığında meyvelerde oluşan lezyonların daha yavaş 6mm misel diski aktarıldığında ise daha hızlı geliştiği görülmüştür. Şekil 4.21 ve Şekil 4.22’de kontrol amacıyla fungus inokule edilmiş meyvelerdeki lezyon gelişimlerine bakıldığında bu durum daha net görünecektir. Her iki yöntem için inkübasyon süreleri eşit olmasına karşın özellikle disk aktarılan meyvede oluşan lezyonun çapı kürdanla misel aktarılanlara göre bariz şekilde büyüktür. Bu bilgiler ışığında, bakteri izolatlarının belirli bir seviyeye kadar fungus inokulumunu baskılayabildiği, yüksek fungus inokulumu ile karşılaştığında ise bakterinin daha az etkili olduğu düşünülmektedir. Bu varsayımdan yola çıkarak bakteri/fungus yoğunluklarına göre hastalık şiddetinin değişebileceği düşünülmektedir.

Trabzon hurması meyvelerine 6 mm çapında misel diskleri ile yapılan inokulasyonların doğada meydana gelecek doğal bir enfeksiyona kıyasla oldukça yüksek miktarda inokulum içereceği, bu yoğunlukta bir inokulum ile meyvelerin doğada enfekte olma ihtimallerinin çok düşük olacağı düşünülmektedir. Bu nedenle özellikle kürdan ile yapılan inokulasyon yönteminin biyolojik mücadele çalışmaları için daha uygun bir yöntem olduğu, gelecekte meyvelerde bu tür hastalıklara karşı yapılacak antifungal etkinlik çalışmalarında “kürdan ile inokulasyon” yönteminin “disk ile yapılan inokulasyon” yöntemine kıyasla daha etkili ve gerçekçi sonuçlar vereceği değerlendirilmiştir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Adıyaman ili Besni, Gölbaşı, Merkez, Kahta, Tut ve Çelikhan ilçelerinde ağaçların farklı fenolojik dönemlerine denk gelecek şekilde 5.429 ağacı kapsayan 28 farklı Trabzon hurması bahçesinde potansiyel fungal hastalık etmenlerini belirlemek amacıyla 2 yılda toplam 8 sörvey çalışması gerçekleştirilmiştir.

Sörveyler sırasında alınan şüpheli bitki kısımlarından yapılan izolasyon çalışmaları neticesinde; 17 farklı türe ait toplamda **438 fungal izolat** besi ortamlarından elde edilmiştir. Bu izolatlardan 4 farklı türe ait 246 primer, 4 farklı türe ait 82 sekonder (fırsatçı/opurtunistik) olmak üzere toplam **8 bitki patojeni türe ait 328 fungal izolat** belirlenmiştir. Elde edilen tüm izolatlardan izole edildikleri bitki kısımları üzerinde yapılan patojenisite testine tabi tutulmuş olup, 9 türe ait toplam 110 izolata (tüm izolatların yaklaşık %25'i) patojen olmadıkları belirlenmiştir. Elde edilen izolatların öncelikle morfolojik ve MALDI-TOF yöntemleri ile ön tanılamaları yapıldıktan sonra, farklı türleri temsilen seçilen “patojen” izolatlar ayrıca moleküler olarak tanılanmıştır.

Yapılan tanılama çalışmaları sonuçlarına göre patojen olarak belirlenen en yaygın hastalık etmeni tür 172 izolat ile (patojen izolatların %52.40'ı) *A. alternata* olarak belirlenmiştir. Diğer patojen türler ise *Cladosporium herbarum* (38 izolat), *Neoscytalidium dimidiatum* (28 izolat) ve *Curvularia spicifera* (8 izolat) olarak belirlenmiştir. Çalışmada *Botrytis cinerea* (26 izolat), *Rhizopus stolonifer* (24 izolat), *Aspergillus flavus* (18 izolat) ve *Penicillium digitatum* (14 izolat) gibi sekonder olan saprofitik fırsatçı patojen türlerde tanılanmıştır. *Aureobasidium pullulans*, *Stemphylium vesicarium*, *S. eturmiunum*, *Penicillium roqueforti*, *Epicoccum nigrum*, *Diatrype* spp., *Arthrinium phaeospermum*, *A. infectoria* ve *Chaetomium* spp. olarak belirlenen türlere ait izolatların ise yapılan patojenisite testleri sonucunda bitki patojeni olmadıkları tespit edilmiştir.

Ülkemizde önceden yapılmış çalışmalarda *Alternaria alternata* ve *Botrytis cinerea*'nın Trabzon hurmasında hastalık etmeni olarak bildirimleri mevcuttur. Çalışmamızda primer hastalık etmeni olarak belirlenen *Neoscytalidium dimidiatum*, *Cladosporium herbarum*, *Curvularia spicifera*, sekonder patojenler olan *Rhizopus stolonifer*, *Aspergillus flavus* ve *Penicillium digitatum*'un yapılan literatür taramalarına göre Türkiye'de Trabzon hurması bitkilerinde patojen olarak rapor edildiği herhangi bir

çalışmaya rastlanmamıştır (Farr ve ark., 2024). Bu türlerin ülkemiz için Trabzon hurması alanlarında patojen olduğu ilk kez bu çalışma ile ortaya konulmuştur. *A. alternata* dünyanın farklı ülkelerinde yetişen Trabzon hurması bitkilerinde hastalık etmeni olarak bildirilmiş olup, primer patojen türleri olan *Neoscytalidium dimidiatum*, *Curvularia spicifera* ve *C. herbarum*'un dünyanın herhangi bir ülkesinde Trabzon hurmasında hastalık etmeni olduğuna dair bir çalışmaya rastlanılmamıştır (Farr ve ark., 2024).

Çalışmanın başka bir aşaması olarak bölgede en sık rastlanan fungus türü olan *A. alternata* ile biyolojik mücadele kapsamında sağlıklı Trabzon hurması ağaçlarının çeşitli kısımlarından izole edilen endofit ve epifit BCA bakteri izolatların izolasyonu, tanınması, en virulent fungal izolat *Alternaria alternata* MA23 üzerine *in vitro/in vivo* antifungal etkileri, hastalık etmenini engelleme ve bitki gelişimini teşvik etmekte kullanabilecekleri olası etki mekanizmaları araştırılmıştır.

Sağlıklı ağaçlardan alınan bitki kısımlardan yapılan izolasyonlar sonrası toplam 123 tane BCA bakteri izole edilmiş, çeşitli testlerle tütün, patates ve insanda patojen olmayacağı belirlenen 47 adet izolat MALDI-TOF MS ile tanılanarak *in vivo* ve *in vitro* denemelerinde, temsilen seçilen 30 izolat ise biyokontrol ve bitki gelişimini teşvik eden etkinlik mekanizmalarının belirlendiği denemelerde kullanılmıştır.

Yapılan *in vitro* ikili kültür denemelerinde BCA bakteri izolatları fungal hastalık etmeni *Alternaria alternata* MA23 izolatının misel gelişimi üzerine olan antagonistik potansiyelleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 32 farklı izolatın misel gelişimini güçlü düzeyde (>%50) engelledikleri belirlenmiştir. *A. alternata* MA23'ün misel gelişimini en fazla engelleyen izolat %80.56 engelleme oranı ile *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MA63ep olurken bu izolatu sırasıyla %79.44 ve %78.89 oranlarla *Bacillus amyloliquefaciens* MA55ep ve *Bacillus subtilis* MA50ep izolatları izlemiştir.

Alternaria alternata MA23 izolatına karşı *in vitro* ikili kültür testlerinde misel gelişimini engelleyen bakteri izolatlarından farklı türleri temsilen seçilen 30 izolat antagonistik ve bitki gelişimini teşvik etmede sorumlu etki mekanizmalarından siderofor, proteaz enzimi, hidrojen siyanür (HCN), amonyak (NH₃), IAA üretimi ve fosfor çözme etkinliklerini belirlemeye yönelik çalışmalarda kullanılmıştır. Tüm bakteri izolatları amonyak (NH₃), 28 bakteri izolatu siderofor ve proteaz, 8 bakteri izolatu HCN

üretimi açısından pozitif olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, 47 bakteri izolatı değişen miktarlarda IAA üretirken 6 izolat fosfor çözme özelliği sergilemiştir. *B. cereus* MA58en ve MA27en, *B. megaterium* MA38ep, *B. subtilis* MA50ep, *Pseudomonas aeruginosa* MA65en, *P. chlororaphis* MA77ep ve *B. thuringiensis* MA74ep söz konusu tüm mekanizmalara sahip BCA bakteri izolat olarak tespit edilmiştir.

In vitro ikili kültür denemelerinde test edilen 47 BCA bakteri izolatının *in vivo* koşullarda hastalık gelişiminin önlenmesindeki “koruyucu” ve “tedavi edici” etkileri “fungus misel diski ile yapılan inokulasyon” ve “kürdan ile misel inokulasyonu” olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir.

BCA bakteri izolatlarının *in vitro* ikili kültür testlerindeki etkinlikleri ile *in vivo* etkinlikleri kıyaslandığında antifungal etkinlikleri arasında farklılıklar gözlenmiştir.

Disk inokulasyon yönteminin kullanıldığı etkinlik denemelerinde bakterilerin hastalık lezyon gelişimini engellemedeki antifungal etkinlikleri, kürdan ile yapılan inokulasyon yöntemine kıyasla daha düşük seviyelerde ortaya çıkmıştır.

Her iki yöntemin kullanıldığı çalışmalarda BCA bakteri izolatlarının “koruyucu” etkinliği “tedavi edici” etkinliğine kıyasla meyvede *A. alternata* kaynaklı lezyon gelişimini engellemede daha yüksek oranda etkili olmuştur.

Kürdan ile inokulasyon yönteminin kullanıldığı “koruyucu” etkinlik değerlerine bakıldığında tüm izolatların meyve yüzeyinde lezyon gelişimlerini %50’nin üzerinde engelleyebildikleri belirlenmiştir.

Kürdan ile inokulasyon yönteminin kullanıldığı denemelerdeki tüm izolatların *in vivo* lezyon gelişimini engelleme oranlarının ortalamaları göz önünde bulundurulduğunda ortalama antifungal etkinlik “tedavi edici” uygulamalarda %44.76; koruyucu uygulamalarda %78.09 gibi oldukça yüksek düzeylerde gerçekleşmiştir.

BCA bakteri izolatlarının *in vitro* ve *in vivo* antifungal etkinlik çalışmalarında kaydedilen engelleme değerlerinin ortalaması alındığında *Bacillus subtilis* MA29en, *Bacillus cereus* MA57en ve *Bacillus subtilis* MA48en izolatları fungal hastalık etmenine karşı en yüksek etkinlik gösteren izolatlar olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, endofit ve epifit bakteri izolatlarından bazılarının Trabzon hurması meyvelerinde gerek bahçelerde, gerekse potansiyel olarak depolama aşamasında önemli bir patojen olabilecek *Alternaria alternata* MA23 izolatına karşı *in vitro* ve yarı *in vivo* şartlarda antagonistik etkiler sergiledikleri, özellikle farklı *Bacillus* türlerine ait bazı

izolatların diğer izolatlarla kıyasla daha etkili oldukları, bunların fungusun engellenmesi adına önemli antagonistik, ayrıca bitki büyümesini teşvik etmede önemli rolü olan mekanizmalardan bir ya da birden fazlasını kullanabildikleri belirlenmiştir.

Çalışmalardan elde edilen bulgular birlikte değerlendirildiğinde aynı türlere ait bakteri izolatları arasında antagonistik ve bitki büyümesini teşvik eden mekanizmaları arasında farklar olduğu görülmüştür. Bu tür bir durumun ortaya çıkmasında bakteri izolatının geliştiği bitkinin yetiştiği çevre koşullarından, ayrıca bitki ve bakteri izolatlarının genetik yapılarındaki farklılıktan ileri gelebileceği varsayılmaktadır.

Çalışmada en yaygın fungus türü olarak tespit *A. alternata*'ya ait izolatların birçoğunun yaprak ve özellikle meyvelerde önemli bir patojen oldukları, yapılan patojenisite testleri sonucu virülensliklerinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu türün Trabzon hurması dışında birçok bitkide daha hastalık etmeni olduğu ve geniş konukçu dizisine sahip olduğu, fungusun çevresindeki sağlıklı bitkilere hızlı şekilde yayılabildiği, üretim süreci haricinde özellikle depolama aşamasında da ciddi ürün kayıplarına neden olan ve üretebildiği mikotoksinler neticesinde bitki sağlığı dışında insan sağlığını da hedef alan bir fungus türü olduğu bilinmektedir.

In vivo denemelerdeki güçlü etkilerinden ötürü özellikle *Bacillus subtilis* MA29en, *Bacillus cereus* MA57en, *Bacillus subtilis* MA1ep, *Bacillus cereus* MA58en, *Bacillus mojavensis* MA61en ve *Bacillus subtilis* MA48en izolatlarının Trabzon hurması meyvelerinde sorun olan *A. alternata*'ya karşı depolama aşamasında fungusitlere alternatif olarak kullanılabilir, çevre dostu biyopreparat adayı bakteriler olabilecekleri değerlendirilmiştir.

Bu izolatlar, bir ya da birden fazla sahip oldukları hastalıkları önlemede kullanabilecekleri etki mekanizmaları sayesinde uzun süreli kimyasal kullanımında büyük bir risk olan patojenlerin kimyasallara direnç oluşturmaları riskine alternatif olabilirler. Yüksek düzeyde *in vitro* ve *in vivo* antifungal etkilerinin yanı sıra bitki büyümesini de teşvik etme potansiyeline sahip bu izolatlardan tek veya karışımlar halinde biyopreparatlar hazırlanarak bunlar *A. alternata* dışındaki diğer bitki hastalıklarına (fungal veya bakteriyel) karşı da araştırılabilir ve “entegre mücadele programı” kapsamında biyopreparatları hazırlanarak değerlendirilebilirler.

Sonuç olarak, biyolojik mücadele kapsamında kullanılan bakterilerin uygulandıkları bitkilere herhangi bir olumsuzluklarının olmaması, hedef patojenin

bunlara direnç oluşturmasının m¼mk¼n olmaması, hedef dışı canlılara ve doğaya zararlı etkilerinin olmaması ve g¼n¼m¼zde s¼rd¼r¼lebilir tarım i¼in ¼nemli bir konumda yer almaları gibi ¼nemli avantajları mevcuttur. Bu ¼alıřma sonrası ortaya koyulan bulguların ¼lkemizde ve d¼nyada Trabzon hurması hastalıkları ve m¼cadeleleri konularında ileride yapılacak ¼alıřmalara da ışık tutacağı ve bunlara katkı sağlayacağı d¼ř¼n¼lmektedir.



KAYNAKLAR

- Abdel-Motaal, F.F., El-Sayed, M.A., El-Zayat, S.A., Nassar, M.S. and Ito, S.I., 2009. Leaf spot disease of *Hyoscyamus muticus* (Egyptian henbane) caused by *Cladosporium herbarum*. **Journal of General Plant Pathology**, 75: 437-439.
- Abdullah M.T., Ali N.Y. and Suleman P., 2008. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. **Crop Protection**, 27: 1354-1359.
- Ahmadpour, S. A., Mehrabi-Koushki, M., Farokhinejad, R., Mirsoleymani, Z., 2023. Characterization and pathogenicity of *Neoscytalidium novaehollandiae* causing dieback and sooty canker in Iran. **Tropical Plant Pathology**, 48(5): 493-507.
- Aktan, Z.C. and 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.
- Aktar, M.W., Sengupta, D., and Chowdhury, A., 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Interdisciplinary Toxicology**, 2(1): 1.
- Aktepe, B.P. and Aysan, Y., 2023. Biological control of fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* on Apple. **Erwerbs-Obstbau**, 65: 645-654.
- Alvarez, M.I., González, L.Á., Castro, L.A., 2004. Onychomycosis in Cali, Colombia. **Mycopathologia**, 158(2): 181-186.
- Alves, R.F., Marques, J.P.R., Appezzato-da-Glória, B. and Spósito, M.B., 2021. Process of infection and colonization of *Pseudocercospora kaki* in persimmon leaves. **Journal of Phytopathology**, 169(3): 168-175.
- Anonim, 2021. Trabzon hurması (Cennet elması) raporu. Ordu Ticaret Borsası, Ordu. <https://www.ordutb.org.tr/wp-content/uploads/2021/01/Trabzon-Hurmasi-Guncel.pdf>
- 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., 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., 2023. Kurutmalık Biber Meyvelerinde İç Çürüklüğüne Neden Olan Bazı Fungal Etmenlere Karşı Bitki Uçucu Yağlarının *in vitro* Antifungal Etkileri. **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi**, 26(1): 76-89.
- Atay, M., 2019. Kurutmalık biber (*Capsicum annum* L.) meyvelerinde mikotoksin oluşturan bazı fungal etmenlerin gelişimi üzerine bitki uçucu yağ, isothiocyanate ve antagonist bakteri izolatlarının *in vitro* koşullarda antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. **Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı**.
- Atay, M., Kara, M., Uysal, A., Soylu, S., Kurt, Ş. and Soylu, E.M., 2020. *In vitro* antifungal activities of endophytic bacterial isolates against postharvest heart rot disease agent *Alternaria alternata* in pomegranate fruits. **Acta Horticulturae**, 1289: 309-314.

- Ayoubi, N., Soleimani, M.J., Zare, R. and Zafari, D., 2017. First report of *Curvularia inaequalis* and *C. spicifera* causing leaf blight and fruit rot of strawberry in Iran. **Nova Hedwigia**, 105: 75–85.
- Babalola, O.O., 2010. Beneficial bacteria of agricultural importance. **Biotechnology Letters**, 32: 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.
- Batta, Y.A., 2001. Effect of fungicides and antagonistic microorganisms on the black fruit spot disease on persimmon. **Dirasat: Agricultural Sciences**, 28(2,3): 165-171.
- Berbegal, M., Pérez-Sierra, A., Armengol, J., Park, C.S. and García-Jiménez, J., 2010. First report of circular leaf spot of persimmon caused by *Mycosphaerella nawae* in Spain. **Plant Disease**, 94(3): 374-374.
- 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.
- Berner, D.K., Smallwood, E.L., McMahon, M.B. and Luster, D.G., 2007. First report of leaf spot caused by *Cladosporium herbarum* on *Centaurea solstitialis* in Greece. **Plant Disease**, 91(4): 463-463.
- Bhardwaj, D., Ansari, M.W., Sahoo, R.K. and Tuteja, N., 2014. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. **Microbial Cell Factories**, 13(66): 1-10.
- Birişik, N., Karaat, Ş., Atay, M., 2024. Bitki Sağlığı Rehberi (Fitoklinik Uygulamaları ve Zararlı Organizmalar Kataloğu). Akademisyen Kitabevi, 221 s., Ankara. ISBN: 978-625-399-831-8.
- Bishi, S. K. and Vakharia, D.N., 2015. Secondary metabolites and lytic enzymes produced by fluorescent pseudomonads determine in-vitro antagonistic potential against *Sclerotium rolfsii* in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). **Journal of Pure and Applied Microbiology**, 9: 3283-3294.
- Blanco, C., Romero, F. and De los Santos, B., 2008. First report of *Pestalotiopsis dyospyri* causing calyx blight of sweet persimmon in Huelva province (Southwestern Spain). **Plant disease**, 92(1): 176-176.
- Cappuccino, J.C and Sherman, N., 1992. Microbiology: A Laboratory Manual. 3. edition. New York: Benjamin/Cummings Pub. Co.,p. 125-179.
- Carraro, T. A., Lichtemberg, P.S.F., Michailides, T.J., Pereira, W.V., Figueiredo, J.A.G. and May-De Mio, L. L., 2019. First Report of *Colletotrichum fructicola*, *C. nymphaeae*, and *C. melonis* causing persimmon anthracnose in Brazil. **Plant Disease**, 103(10): 2692-2692.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., Chowdhury, P. R., Tongden, C., and Basnet, M., 2006. Investigation on plant growth promoting rhizobacteria of tea rhizosphere. **6th ed. International Workshop on PGPR, IISR, Calicut, Kerala**, pp: 78-82.

- Chang, T., Hassan, O., Jeon, J.Y., Shin, J.S., Oh, N.K. and Lim, T.H., 2018. First report of anthracnose of persimmon (*Diospyros kaki* L. f.) caused by *Colletotrichum siamense* in Korea. **Plant Disease**, 102(2): 443-444.
- Chen, G., Lu, H., Wang, C., Yamashita, K., Manabe, M., Meng, Z., Xu, S. and Kodama, H., 2002. Effect of five flavonoid compounds isolated from leaves of *Diospyros kaki* on stimulus-induced superoxide generation and tyrosyl phosphorylation of proteins in human neutrophils. **Clinica Chimica Acta**, 326(1-2), 169-175.
- Choudhary D.K. and Johri, B.N., 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants with special reference to induced systemic resistance (ISR). **Microbiological Research**, 164: 493–513.
- Crous, P.W., Slippers, B., Wingfield, M.J., Rheeder, J., Marasas, W.F., Philips, A.J. and Groenewald, J.Z., 2006. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. **Studies in Mycology**, 55(1): 235-253.
- Cursi, I.B., Freitas, L.B.D.C.R.D., Neves, M.D.L.P.F., Silva, I.C.D., 2011. Onychomycosis due to *Scytalidium* spp.: A clinical and epidemiologic study at a University Hospital in Rio de Janeiro, **Brazilian Annals of Dermatology**, 86: 689–693.
- Çakmakçı, 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.
- Derviş, S., Özer, G. and Türkölmez, Ş., 2020. First report of *Neoscytalidium novaehollandiae* causing stem blight on tomato in Turkey. **Journal of Plant Pathology**, 102(4): 1339-1340.
- Derviş, S., Tok, F.M. and Gündüz, K., 2010. First report of *Fusicladium levieri* on persimmon in Turkey. **Journal of Plant Pathology**, 92(4): 108-108.
- Derviş, S., Türkölmez, Ş., Çiftçi, O., Ulubaş Serçe, Ç. and Dikilitas, M., 2019b. First report of *Neoscytalidium dimidiatum* causing black canker and root rot of walnut in Turkey. **Plant Disease**, 103.8: 2129-2129.
- Derviş, S., Türkölmez, Ş., Çiftçi, O., Ulubaş, Serce, C. and Dikilitas, M., 2019a. First report of *Neoscytalidium dimidiatum* causing canker, shoot blight, and root rot of pistachio in Turkey. **Plant Disease**, 103(6): 1411.
- Dhawefi, N., Jedidi, S., Rtibi, K., Jridi, M., Sammeri, H., Abidi, C. and Sebai, H., 2021. Antidiarrheal, antimicrobial, and antioxidant properties of the aqueous extract of Tunisian persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) Fruits. **Journal of Medicinal Food**, 24(10): 1100-1112.
- 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.

- Elinav, H., Izhar, U., and Benenson, S., 2009. Invasive *Scytalidium dimidiatum* infection in an immune competent adult: case report and review. *Journal of Clinical Microbiology*, 47: 1259–1263.
- 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.**
- EPPO, 2024. European and Mediterranean Plant Protection Organisation (EPPO). <https://gd.eppo.int/> (Erişim tarihi 05.04.2024).
- Eshel, D., Miyara, I., Ailing, T., Dinooor, A. and Prusky, D., 2002. pH regulates endoglucanase expression and virulence of *Alternaria alternata* in persimmon fruit. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 15(8): 774-779.
- Evallo, E., Taguian, J. D. and Balendres, M.A., 2022. *Colletotrichum fructicola* associated with fruit anthracnose of persimmon. **Journal of Phytopathology**, 170(3): 194-201.
- FAO, 2024. Food and Agriculture Organization of the United Nations Official Website. Persimmon production. <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (Erişim tarihi: 10.02.2024).
- Farr, D.F., Rossman, A.Y., and Castlebury, L.A. 2024. USDA United States National Fungus Collections Fungus-Host Database. <https://fungi.ars.usda.gov/> (Erişim Tarihi 12.10.2024)
- Fravel, D.R., 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. **Annual Review of Phytopathology**, 4: 75–91.
- Garganese, F., Sanzani, S.M., Mincuzzi, A. and Ippolito, A., 2015. First report of *Curvularia spicifera* causing brown rot of citrus in southern Italy. **Journal of Plant Pathology**, 97: 541–551.
- Garibaldi, A., Bertetti, D., Amatulli, M. T. and Gullino, M.L., 2010. First report of postharvest fruit rot in persimmon caused by *Phacidiopycnis washingtonensis* in Italy. **Plant Disease**, 94(6): 788-788.
- Ghanei, Ghooshkhaneh. N., Golzarian, M.R. and Mamarabadi, M., 2022. Withdrawn: spectral pattern study of citrus black rot caused by *Alternaria alternata* and selecting optimal wavelengths for decay detection. **Food Science & Nutrition**, 10(6): 1694.
- 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.
- Golzar, H., Tan, Y.P., Shivas, R.G. and Wang, C., 2012. First report of shoot blight of persimmon caused by *Diaporthe neotheicola* in Australia. **Australasian Plant Disease Notes**, 7(1): 115-117.
- Grigorov, S.P., 1974. Karantina na restaniata, Zemizdat, Sofya, 346 pp.
- Gupta, G., Parihar, S.S., Ahirwar, N.K., Snehi, S.K. and Singh, V., 2015. Plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. **Journal of Microbial and Biochemical Technology**, 7(2): 96-102.
- Halfeld-Vieira, B.A., Romeiro, R.S., Mounteer, A. and Mizubuti, E.S.G., 2008. Efficiency of phylloplane bacteria in controlling aerial tomato diseases under field conditions. **Summa Phytopathologica**, 34(1): 86-87.

- Halfeld-Vieira, B.A., Vieira Junior, J.R., Romeiro, R.S., Silva, H.S.A. and Baracat-Pereira, M.C., 2006. Induction of systemic resistance in tomato by the autochthonous phylloplane resident *Bacillus cereus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 41: 1247-1252.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W.F. and Kloepper, J.W., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. **Canadian Journal of Microbiology**, 43, 895-914.
- 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.
- Heydari, A. and Pessarakli, M., 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. **Journal of biological sciences**, 10(4): 273-290.
- Hossain, A., Moon, H.K. and Kim, J. K., 2018. Antioxidant properties of Korean major persimmon (*Diospyros kaki*) leaves. **Food science and Biotechnology**, 27: 177-184.
- Hou, X., Boyetchko, S.M., Brkic, M., Olson, D., Ross, A. and Hegedus, D., 2006. Characterization of the anti-fungal activity of a *Bacillus* spp. associated with sclerotia from *Sclerotinia sclerotiorum*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 72: 644-653.
- Hyde, K. D., Cai, L., McKenzie, E.H.C., Yang, Y.L., Zhang, J.Z. and Prihastuti, H., 2009. Colletotrichum: a catalogue of confusion. **Fungal Diversity**, 39(1): 1-17.
- Jabbari Firoozjah, M., Mohammadi, H. and Banihashemi, Z., 2015. First report of *Eutypella vitis* associated with persimmon trees in Iran. **Plant Disease**, 99(8): 1181-1181.
- Jaborova, 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.
- Jeong Jeon, J.Y., Hassan, O., Chang, T., Lee, D. W., Shin, J. S. and Oh, N.K., 2017. Anthracnose of persimmon (*Diospyros kaki*) caused by *Colletotrichum horii* in Sangju, Korea. **Plant Disease**, 101(6): 1035-1035.
- Jeong, E.Y., Jeon, J.H., Lee, C.H. and Lee, H.S., 2009. Antimicrobial activity of catechol isolated from *Diospyros kaki* THUNB. roots and its derivatives toward intestinal bacteria. **Food Chemistry**, 115: 1006–1010
- Jiang, S., Zhang, J., Yang, D., Du, C. J., Ye, Y., Pan, L. F. and Fu, G., 2024. First report of *Fusarium kyushuense* causing leaf spot on sweet persimmon in China. **Plant Disease**, (Online yayın: erken görünümde) <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-24-0925-PDN>
- Johnson, D.A., Pimentel, G. and Dugan, F.M., 2008. *Cladosporium herbarum* causes a leaf spot on *Caltha leptosepala* (marsh marigold) in Western North America. **Online Plant Health Progress**, doi:10.1094/PHP-2008-1121-01-RS
- Kang, S. and Ko, K., 1997. The Persimmon Industry and Research Activities in Republic of Korea. **Acta Horticulturae**, 436: 33-39.
- Kara, M., Soylu, S., Atay, M., Soylu, E.M. and Kurt, Ş., 2022. *In vitro* antagonistic potential of bacterial isolates from persimmon fruit against postharvest gray mold

- disease agent, *Botrytis cinerea*. **VII International Symposium on Persimmon**, 20-26 September 2021, Nara (Japan). Abstract Book, pp 100.
- Kawase, M., Motohashi, N., Satoh, K., Sakagami, H., Nakashima, H., Tani, S., Shirataki, Y., Kurihara, T., Spengler, G., Wolfard, K. and Molnár, J., 2003. Biological activity of persimmon (*Diospyros kaki*) peel extracts. **Phytotherapy Research**, 17(5): 495–500.
- 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.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A., 2008. **Dictionary of the Fungi**. Wallingford, UK: CABI (p. 599).
- Kotani, M., Matsumoto, M., Fujita, A., Higa, S., Wang, W., Suemura, M. and Tanaka, T., 2000. Persimmon leaf extract and astragalins inhibit development of dermatitis and IgE elevation in NC/Nga mice. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 106(1): 159-166.
- Köse, F., 2024. Konya ilinde depolanan patates yumrularında fungal hastalık etmenlerinin tanınması, yaygınlığı ve endofit bakteriler ile biyolojik mücadelesi. **Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı**.
- 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.
- Kurniawan, O., Wilson, K. Mohamed, R. and Avis, T.J., 2018. *Bacillus* and *Pseudomonas* spp. provide antifungal activity against gray mold and *Alternaria* rot on blueberry fruit. **Biological Control**, 126, 136-141.
- Kurt, Ş., Soylu, E. M. and Soylu, S., 2010. First report of black spot disease caused by *Alternaria alternata* in persimmon fruits in Turkey. **Plant Disease**, 94(8): 1069-1069.
- Kwon, J. H. and Park, C.S., 2003. Sooty mold of persimmon (*Diospyros kaki*) caused by *Cladosporium cladosporioides*. **The Plant Pathology Journal**, 19(5): 266-268.
- Kwon, J. H., Ahn, G. H., Park, C. S., 2004. Black spot of sweet persimmon (*Diospyros kaki*) caused by *Alternaria alternata*. **Research in Plant Disease**, 10(3): 183-187.
- Kwon, J.H. and Kim, J., 2011. First report of fruit black spot of *Diospyros kaki* caused by *Colletotrichum acutatum* in Korea. **The Plant Pathology Journal**, 27(1): 100-100.
- Kwon, J.H., Kang, S.W., Kim, J.S. and Park, C.S., 2001. Scab of tea (*Thea sinensis*) caused by *Cladosporium herbarum* in Korea. **The Plant Pathology Journal**, 17: 350–353.
- Lan, Q., Liu, Y., Mu, R., Wang, X., Zhou, Q., Islam, R. and Tian, Y. (2024). Biological control effect of antagonistic bacteria on potato black scurf disease caused by *Rhizoctonia solani*. **Agronomy**, 14(2): 351.

- Lee, H.B., Patriarca, A. and Magan, N., 2015. Alternaria in food: ecophysiology, mycotoxin production and toxicology. *Mycobiology*, 43(2), 93-106.
- Lee, J.H., Kim, J. and Kwak, Y-S. 2013. First report of black spot disease caused by *Alternaria alternata* on sweet persimmon fruits. *Mycobiology*, 3: 167-169
- Lee, S. Y. and Jung, H. Y., 2020. First report of persimmon (*Diospyros kaki*) fruit rot caused by *Mucor inaequisporus* in South Korea. *Plant Disease*, 104(7): 2031-2031.
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E., 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. (T.F. Preece, Editör). In: *Methods in Plant Pathology*, **Black well Scientific Publications**. Pp, 2, 176-177, Oxford.
- Leong, J., 1986. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 24(1): 187-209.
- Li, Z., Guo, B., Wan, K., Cong, M., Huang, H. and Ge, Y., 2015. Effects of bacteria-free filtrate from *Bacillus megaterium* strain L2 on the mycelium growth and spore germination of *Alternaria alternata*. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(6): 1062-1068.
- Lindow, S.E. and Brandl, M.T., 2003. "Microbiology of the phyllosphere." *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4): 1875-1883.
- Logrieco, A., Moretti, A. and Solfrizzo, M., 2009. Alternaria toxins and plant diseases: an overview of origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal*, 2(2): 129-140.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F., 2009. Plant-growth-promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, 63:541-556.
- Maharachchikumbura, S. S., Guo, L. D., Chukeatirote, E., Bahkali, A. H. and Hyde, K.D., 2011. Pestalotiopsis—morphology, phylogeny, biochemistry and diversity. *Fungal diversity*, 50: 167-187.
- MEB, 2011. T.C.Millî Eğitim Bakanlığı, Bahçecilik Modülü, Trabzon Hurması Yetiştiriciliği. Ankara.
- Meena, M., Gupta, S.K., Swapnil, P., Zehra, A., Dubey, M.K., Upadhyay, R.S., 2017. Alternaria toxins: potential virulence factors and genes related to pathogenesis. *Frontiers in Microbiology*, 8:1451.
- Mohanty, P., Singh, P. K., Chakraborty, D., Mishra, S., and Pattnaik and R., 2021. Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment. *Frontiers Sustainable Food Systems*, 5: 667150.
- Morton, J., 1987. Japanese persimmon. *Fruits of Warm Climates*, 411-416.
- Moyo, P., Mostert, L., Bester, M. and Halleen, F., 2016. Trunk disease fungi associated with *Diospyros kaki* in South Africa. *Plant Disease*, 100(12): 2383-2393.
- Naher, L., Yusuf, U.K., Ismail, A. and Hossain, K., 2014. *Trichoderma* spp.: a biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. *Pakistan Journal of Botany*, 46(4): 1489-1493.
- Nogueira, J., Santos, R.F., Pagenotto, A.C.V. and Spósito, M.B., 2017. First report of *Lasiodiplodia pseudotheobromae* causing fruit rot of persimmon in Brazil. *New Disease Reports*, 36(1): 10-5197.
- Ouchi, S., Hatamoto, M., Oku, H., Shiraishi, T., Yokoyama, T., Tateishi, M. and Fujii, S., 1976. Brown spot of grapes caused by *Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium herbarum*. *Scientific Reports of the Faculty of Agriculture Okayama University*, 48: 17-22

- Ören, E., Koca, G. and Bayraktar, H., 2020. First report of *Neoscytalidium novaehollandiae* associated with branch dieback on Japanese persimmon in Turkey. **Journal of Plant Pathology**, 102(4): 1311-1312.
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F. and Kınay, P., 2010. Fitopatolojide biyolojik mücadele. **Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi**, 1(1): 61-78.
- Özcan, M. ve Özkaraman, F., 1994. Trabzon hurmasının olgunlaştırılması üzerine çalışma. **Derim**, 11(2): 50-58.
- Özcan, M., 1994. Karadeniz Bölgesinin Trabzon hurması üretim potansiyeli. **O.M.Ü Ziraat Fakültesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 9: 133-147.
- Özkan, H.U. ve Can, H.Z., 2013. Farklı dönemlerde hasat edilen trabzon hurması (*Diospyros kaki* L.) meyvelerinin kalite özelliklerinin araştırılması. **Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 50 (2): 137-144.
- Özkaya, S., 2024. Osmaniye’de yetiştirilen yer fıstığı bitkilerinde (*Arachis hypogaea* L.) görülen toprak kökenli fungal hastalıklar ve bakteriyel mikrobiyomlarla biyolojik mücadelesi. **Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı.**
- Palou, L., Montesinos-Herrero, C., Tarazona, I., Besada, C. and Taberner, V., 2015. Incidence and etiology of postharvest fungal diseases of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb. cv. Rojo Brillante) in Spain. **Plant Disease**, 99(10): 1416-1425.
- Palou, L., Taberner, V., Guardado, A. and Montesinos-Herrero, C., 2012. First report of *Alternaria alternata* causing postharvest black spot of persimmon in Spain. **Australasian Plant Disease Notes**, 7(1): 41-42.
- Pane, C. and Zaccardelli, M., 2015. Evaluation of *Bacillus* strains isolated from solanaceous phylloplane for biocontrol of *Alternaria* early blight of tomato. **Biological Control**, 84: 11-18.
- Park, Y. H., Oh, Y., Goh, J., yeon Mun, H. and Chung, N., 2018. *Trichoderma* species isolated from freshwater environment has biocontrol activity against *Colletotrichum* causing persimmon anthracnose. **The Korean Society of Plant Pathology**, 2018(1): 47-47.
- Pastor, N., Carlier, E., Andres, J., Rosas, S.B. and Rovera, M., 2012. Characterization of rhizosphere bacteria for control of phytopathogenic fungi of tomato. **Journal of Environmental Management**, 95: 332-337.
- 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.
- Perelló, A.E., Sisterna, M.N. and Moreno, M.V., 2003. Occurrence of *Cladosporium herbarum* on wheat leaves (*Triticum aestivum*) in Argentina. **Australasian Plant Pathology**, 32: 327–328.
- Perets, S., Fooks, J. and Ezra, D., 2023. “Star like” disease of persimmon (*Diospyros kaki*) fruit caused by *Botrytis cinerea* in Israel. **Plant Disease**, 107(9): 2865.
- 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.
- Prusky, D., Ben-Arie, R., and Guelfat-Reich, S. 1981. Etiology and histology of *Alternaria* rot of persimmon fruits. **Phytopathology**, 71: 1124–1128

- Qin, R., Li, Q., Huang, S., Chen, X., Mo, J., Guo, T. and Yu, Z., 2023. Fruit rot on persimmon caused by *Neopestalotiopsis saprophytica* and *Neopestalotiopsis ellipsospora* in Guangxi, China. **Plant Disease**, 107(8): 2531.
- Raghavendra, K.R., Yadav, D., Kumar, A., Sharma, M., Bhuria, J. and Chand, A.E., 2015. The nondermatophyte molds: Emerging as leading cause of onychomycosis in south-east Rajasthan. **Indian Dermatology Online Journal**, 6: 92–97.
- Rajaratnam, K., Balamurugan, T., Kulashera, Pandian, R., Veersamy, S., and Jayabalan, M., 1995. Isolation and screening of phosphate solubilizers from soil of Kamarajar district. **Journal of Ecotoxicology and Environmental Monitoring**, 5(2): 155-157.
- Ramdial, H., De Abreu, K. and Rampersad, S.N., 2017. Fungicide sensitivity among isolates of *Colletotrichum truncatum* and *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex infecting bell pepper in Trinidad. **The Plant Pathology Journal**, 33(2): 118-124.
- Rauf, A., Uddin, G., Patel, S., Khan, A., Halim, S. A., Bawazeer, S., Ahmad K., Muhammad, N. and Mubarak, M.S., 2017. Diospyros, an under-utilized, multi-purpose plant genus: A review. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 91: 714-730.
- Saharan, B.S. and Nehra, V., 2011. Plant growth promoting Rhizobacteria: a critical review. **Life Sciences and Medicine Research**, 21: 1-30.
- Sandani, H.B.P., Sithumini, G.G.C. and Weerahewa, H.L.D., 2024. Biocontrol potential of some selected native bacterial antagonists against tomato (*Solanum lycopersicum* L.) early blight causal agent *Alternaria alternata*. **Ceylon Journal of Science**, 53(1): 119-131.
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N. and Nelson, A., 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. **Nature Ecology & Evolution**, 3(3): 430-439.
- 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., 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 agrobiology: disease management**. Springer, Berlin/Heidelberg, pp 449-471.
- Schubert, K., Groenewald, J.Z., Braun, U., Dijksterhuis, J., Starink, M., Hill, C. F. and Crous, P.W., 2007. Biodiversity in the *Cladosporium herbarum* complex (Davidiellaceae, Capnodiales), with standardisation of methods for *Cladosporium* taxonomy and diagnostics. **Studies in Mycology**, 58, 105-156.
- Schulz, B. and Boyle, C., 2006. What are endophytes? Microbial Root Endophytes (Schulz BJE, Boyle CJC and Sieber TN, eds): **Springer-Verlag**, Berlin, 1–13.
- Schwyn, B. and Neilands, J.B., 1987. Universal chemical assay for detection and determination of siderophores. **Analytical Biochemistry**, 160(1):47-56.
- Shao, Z., Schenk, P. M. and Dart, P., 2023. Phyllosphere bacterial strains *Rhizobium* b1 and *Bacillus subtilis* b2 control tomato leaf diseases caused by *Pseudomonas syringae* pv. tomato and *Alternaria solani*. **Journal of Applied Microbiology**, 134(7): 1x4139.
- Sharma, P., Singh, N. and Verma, O.P., 2012. First report of *Curvularia* leaf spot, caused by *Curvularia affinis* on *Dalbergia sissoo*. **Forest Pathology**, 42: 265–266.

- Sid, A., Ezziyyani, M., Egea-Gilabert, C. and Candela, M.E., 2003. Selecting bacterial strains for use in the biocontrol of diseases caused by *Phytophthora capsici* and *Alternaria alternata* in sweet pepper plants. **Biologia Plantarum**, 47: 569-574.
- Simmons, E. G., 2007. *Alternaria*: An Identification Manual. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- Singh, B. K., Trivedi, P., Egidi, E., Macdonald, C. A., and Delgado-Baquerizo, M., 2020. Crop microbiome and sustainable agriculture. **Nature Reviews Microbiology**, 18(11): 601-602.
- 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.
- Sonker, N., Pandey, A.K., Singh, P., and Tripathi, N.N., 2014. Assessment of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf essential oil as herbal preservatives based on antifungal, antiaflatoxin, and antiochratoxin activities and *in vivo* efficacy during storage. **Journal of Food Science**, 79, Nr. 4
- Southwell, R.J., Brown, J.F. and Wong, P.T.W., 1980. Effect of inoculum density, stage of plant growth and dew period on the incidence of black point caused by *Alternaria alternata* in durum wheat. **Annals of Applied Biology**, 96(1), 29-35.
- Souto, A. L., Sylvestre, M., Tölke, E.D., Tavares, J.F., Barbosa-Filho, J.M., and Cebrián-Torrejón, G., 2021. Plant-derived pesticides as an alternative to pest management and sustainable agricultural production: Prospects, applications and challenges. **Molecules**, 26(16): 4835.
- Soylu, E.M., Soylu, S., Kara, M. ve Kurt, Ş., 2020. Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı verimikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. **KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi**, 23(1): 7- 18.
- Soylu, S., Kara, M., Toketti, O., Soylu, M., Uysal, A. ve Kurt, Ş., 2021. konya ilinde yetiştirilen patates yumrularında lastik çürüklük hastalık etmeni *Geotrichum candidum*'un izolasyonu, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu. **KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi**, 24(2): 353-361.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş. and Ekici, Ö.K., 2005. Antagonistic potentials of rhizosphere-associated bacterial isolates against soil-borne diseases of tomato and pepper caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 8: 43-48.
- 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.
- Strange, R. N. ve Scott, P.R., 2005. Plant disease: A threat to global food security. **Annual Review of Phytopathology**, 43: 83-116.
- Sunitha, M. and Jha, P. K., 2023. Influence of inoculum density of *Alternaria brassicae* on development of *Alternaria* leaf spot in cauliflower. **Biological Forum–An International Journal**, 15(9): 588-591(2023).
- Suzuki, H., Konishi, M., Kimura, M., Mori, T., Suzuki, M. and Ikemi, T., 2007. Inhibitory effects of *Diospyros kaki* THUNB. extracts in dental caries in rats. **The Japanese Journal Of Conservative Dentistry**, 50: 140–145.
- Şeker, M. ve Toplu, C., 2003. Trabzon Hurması. **Ekin**, 7(23): 33-37.

- 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.
- Tode, H.J., 1790. Fungi Mecklenbergensis Selecti 1: 1-64.
- Toker Demiray, S. ve Akçalı, E., 2021. Doğu Akdeniz Bölgesi Trabzon hurmas alanlarında fungal hastalık etmenlerinin ve trabzon hurması yaprak leke hastalığı (*Mycosphaerella nawae*)’na karşı ilaçlama programının belirlenmesi. Sayfa, 129. **Bitki Korumada Son Gelişmeler** (Editör, Doç. Dr. Gülay KAÇAR), Paradigma Akademi. ISBN: 978-625-8009-68-2
- Tuset, J. J., Hinarejos, C. and Mira, J.L., 1999. First report of leaf blight on sweet persimmon tree by *Pestalotiopsis theae* in Spain. **Plant Disease**, 83(11): 1070-1070.
- TÜİK, 2024. Bitkisel Üretim İstatistikleri, (Trabzon Hurması). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr> (Erişim Tarihi 11.08.2024)
- Ueda K., Kawabata, R., Irie, T., Nakai, Y., Tohya, Y. and Sakaguchi., 2013. Inactivation of pathogenic viruses by plant-derived tannins: strong effects of extracts from persimmon (*Diospyros kaki*) on a broad range of viruses. **PLOS ONE**, 8: e55343.
- 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.
- von Arx, J.A. (1987). Plant-pathogenic Fungi. J. Cramer, Berlin, Germany.
- Wang, J., Ai, C.X., Yu, X.M., An, M., Sun, S. and Gao, R., 2016. First report of *Colletotrichum karstii* causing anthracnose on persimmon leaves in China. **Plant Disease**, 100(2): 532-532.
- Wang, R.Z., Yang, Y. and Li, G.C., 1997. Chinese persimmon germplasm resources. **Acta Horticulturae**, 436: 43–50.
- Wei, G., Kloepper, J.W. and Tuzun, S., 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. **Phytopathology**, 86: 221-20224.
- Weller, D.M., 1988. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, 26: 379–407.
- 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.
- Williamson, S.M. and Sutton, T.B., 2010. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum* on persimmon fruit in the United States. **Plant Disease**, 94(5): 634-634.
- Xiang, M.L., Wang, Y.B., Wang, D.H., Fu, Y.Q., Zeng, J. K., Ouyang, D. M. and Chen, M. (2023). First report of black spot disease caused by *Alternaria alternata* on persimmon fruit in China. **Plant Disease**, 107(8): 2525.
- Yalage Don, S.M., Schmidtke, L.M., Gambetta, J.M. and Steel, C.C., 2020. *Aureobasidium pullulans* volatilome identified by a novel, quantitative approach employing SPME-GC-MS, suppressed *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata* in vitro. **Scientific Reports**, 10(1): 4498.
- Yamada, M., Giordani, E. And Yonemori, K., 2012. Persimmon. **Fruit Breeding**, 663-693.

- Yamada, Y., Yamamoto, A., Yoneda, N. and Nakatani N., 1999. Identification of kaempferol from the leaves of *Diospyros kaki* and its antimicrobial activity against *Streptococcus mutans*. **Biocontrol Science**, 4(2): 97–100.
- Yamamoto, J., Tanaka, K., Ohtaka, N. and Sato, T., 2012. Black leaf spot of Japanese persimmon (*Diospyros kaki*): A new disease caused by *Adisciso kaki* sp. nov. **Journal of General Plant Pathology**, 78(2): 99-105.
- Yasuda, F., Kobayashi, T., Watanabe, H. and Izawa, H., 2003. Addition of *Pestalotiopsis* spp. to leaf spot pathogens of Japanese persimmon. **Journal of General Plant Pathology**, 69: 29-32.
- Yonemori, K., Yamada, M. and Sugiura A., 2000. Persimmon genetics and breeding. **Plant Breeding Reviews**, 19: 191-20225.
- Yönel, S., Uylaşer, V. ve Yonak, S., 2008. Trabzon hurmasının bileşimi ve besleyici değeri. **Türkiye 10. Gıda Kongresi**, 339-342.
- 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.

ÖZGEÇMİŞ

Yazar, 2012 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünü kazanandı. Aynı bölümden 2016 yılında bölüm birincisi olarak mezun oldu. 2016 yılı Eylül ayında Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı ve 2019 yılında burada yüksek lisansını tamamladı. 2019 yılı Nisan ayında Adıyaman Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde araştırma görevlisi olarak görev yapmaya başladı. 2019 yılı Eylül ayında Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladı.

2019 yılından bu yana Adıyaman Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde araştırma görevlisi olarak görev yapmakta olan yazarın Fitopatoloji alanında çeşitli araştırmaları ve yayınları mevcuttur.



EKLER

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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