



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇİLEKTE KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.:ex. Fr.)
HASTALIĞINA KARŞI BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERİN
SAPTANMASI, ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE POPULASYON
DİNAMİKLERİNİN İZLENMESİ**

Kadir İLHAN

**DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

BURSA-2009



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÇİLEKTE KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.:ex. Fr.)
HASTALIĞINA KARŞI BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERİN
SAPTANMASI, ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE POPULASYON
DİNAMİKLERİNİN İZLENMESİ**

Kadir İLHAN

**Doç.Dr. Özgür Akgün KARABULUT
(Danışman)**

**DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

BURSA-2009

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇİLEKTE KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.:ex. Fr.)
HASTALIĞINA KARŞI BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERİN
SAPTANMASI, ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE POPULASYON
DİNAMİKLERİNİN İZLENMESİ

Kadir İLHAN

DOKTORA TEZİ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez 23/10/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile
kabul edilmiştir.

Doç.Dr.Özgür Akgün KARABULUT
Danışman

Doç.Dr.Himmet TEZCAN
Asil Üye

Pror.Dr.Hatice ÖZAKTAN
Asil Üye

Prof.Dr.Cengiz ELMACI
Asil Üye

Prof.Dr.Sara DOLAR
Asil Üye

ÖZET

ÇİLEKTE KURŞUNİ KÜF (*Botrytis cinerea* Pers.:ex. Fr.) HASTALIĞINA KARŞI BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERİN SAPTANMASI, ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE POPULASYON DİNAMİKLERİNİN İZLENMESİ

Bu çalışmada, 2005 ve 2006 yıllarında bazı bakteriyel antagonistler kullanılarak çileğin en önemli hastalığı olan *Botrytis cinerea*'nın hasat öncesi ve sonrası dönemde engellenmesi araştırılmıştır. Bu amaçla 219 adet bakteriyel antagonist adayı izolat 2004 yılında Bursa ve çevresinde ticari olarak çilek yetiştiriciliği yapılan Keles, Kestel, ve Uludağ'da bulunan bahçelerdeki çilek bitkilerinin farklı organlarından izole edilmiş ve etkinlikleri çilek meyveleri üzerinde ön denemeler ile belirlenmiştir. Ön denemeler sonucu 10 bakteriyel izolatın etkili olduğu bulunmuştur. Bu izolatların LOPAT testleri ve tür teşhisleri yapılmıştır. Etkili bulunan izolatların tür teşhisleri sonucu *Bacillus megaterium* ve *Pseudomonas vesicularis* olduğu anlaşılmıştır. Bu iki izolatın biyolojik savaşında kullanılabileceği bulunmuştur. *P. vesicularis*'in biyolojik savaşında kullanılması literatür için yeni bir kayıt olmuştur. Bu iki izolata ek olarak bezelyeden izole edilmiş floresant özellik gösteren bir *Pseudomonas fluorescens* izolatı da arazi denemelerine dahil edilmiştir. Arazi denemeleri sonucunda, 2005 ve 2006 yıllarında tüm antagonist bakteri uygulamalarının sentetik fungusit kadar etkili olduğu bulunmuş ve etki düzeylerinin %26.84 ile %47.36 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Hasat sonundaki enfekteli meyve yüzdeleri incelendiğinde ise 2005 yılında *P. vesicularis* ve *B. megaterium*'un, 2006 yılında ise tüm antagonist bakteri uygulamalarının etkili oldukları görülmüştür. Bakterilerin populasyon değişimleri antibiyotik işaretleme ve RAPD-PCR tekniği ile izlenmiştir. Arazide çalışmalarında uygulamadan bir hafta sonra antagonist bakteri populasyonlarının antibiyotik ile işaretleme yönteminde 10^4 cfu/meyve düzeyinde, RAPD-PCR tekniğinde ise 10^3 cfu/meyve düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Hasat sonunda ise antagonist bakteri populasyonları antibiyotik ile işaretleme yönteminde 10^5 cfu/meyve düzeyinde, RAPD-PCR tekniğinde ise 10^4 cfu/meyve düzeyinde bulunmuştur. Soğuk hava deposunda antagonist bakterilerin canlılıklarını devam ettirebildiği belirlenmiştir. RAPD-PCR tekniğinin bakterilerin populasyonunun izlenmesinde diğer yöntemlerin doğruluğunu test etmek açısından yararlı olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çilek, hasat sonrası hastalıkları, *Botrytis cinerea*, kurşuni küf, antagonist bakteri, biyolojik savaş, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas vesicularis*, RAPD-PCR

ABSTRACT**EVALUATION OF THE EFFICACY OF BACTERIAL ANTAGONISTS AGAINST GREY MOLD (*Botrytis cinerea* Pers:ex. Fr.) IN STRAWBERRY AND MONITORING POPULATION DYNAMICS**

In this study, the efficacy of bacterial antagonists was tested against one of the major diseases of strawberry in preharvest and postharvest stage. In this regard, 219 bacterial isolates were obtained from various parts of plant and efficacy was evaluated on strawberry fruit in preliminary experiments. Ten isolates were effective in preliminary experiments. LOPAT tests and identification protocols were applied to effective isolates. Two effective isolates were identified as *Bacillus megaterium* and *Pseudomonas vesicularis*. Both isolates were eligible to use as biocontrol agent. In addition, another isolate originated from pea that shows fluorescent character and identified as *Pseudomonas fluorescens* was used in experiments. All isolates were effective as a synthetic fungicide in field experiments and their efficacy were 26.84 to 47.36%. *B. megaterium* and *P. vesicularis* in 2005 and all three isolates were effective in 2006 in reducing postharvest decay. The population of bacteria was screened by adaptation to antibiotics and RAPD-PCR. The population of all bacteria in field a week after application was around 10^4 cfu/fruit in antibiotic adaptation method and 10^3 cfu/fruit in RAPD-PCR technique. In postharvest stage, the population of bacteria was around 10^5 cfu/fruit in antibiotic adaptation method and 10^4 cfu/fruit in RAPD-PCR technique. The antagonists achieved to survive in cold storage unit. The RAPD-PCR technique was useful in testing accuracy of other methods used in monitoring population of bacterial antagonists.

Key words: Strawberry, postharvest diseases, *Botrytis cinerea*, gray mold, antagonist bacteria, biological control, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas vesicularis*, *Pseudomonas fluorescens*, RAPD-PCR

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEZ ONAY SAYFASI	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
1.GİRİŞ	1
2.KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
3.MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Antagonist Adayı Bakteriyel İzolatlar.....	18
3.1.2. Patojenin (<i>B. cinerea</i>) Eldesi	21
3.1.3. Ön Denemede Kullanılan Çilek Meyvelerinin Temini	22
3.1.4. Arazi Denemelerinin Yapıldığı Çilek Bahçesinin Oluşturulması	22
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Antagonist Adayı Bakterilerin İzolasyonu	24
3.2.2. Ön Denemeler ile Antagonist Adayı Bakterilerin Etkisinin Saptanması ...	25
3.2.3. <i>In vitro</i> Denemeler	27
3.2.3.1. Ön Denemelerde Etkili Bulunan İzolatların Tür Teşhisi ve Arazi Denemesi İçin Seçimi	27
3.2.3.1.1. Levan Oluşumu	28
3.2.3.1.2. Oksidaz Testi	28
3.2.3.1.3. Patates Testi	28
3.2.3.1.4. Arginin Dihidrolase Testi	29
3.2.3.1.5. Tütün Testi	29
3.2.3.1.6. Jelatinin Sıvılaşması	29
3.2.3.1.7. Potasyum Hidroksit (KOH)Testi	29
3.2.3.2. Arazi Denemesi İçin Seçilen Bakteriyel Antagonistlerin <i>In vitro</i> 'da <i>B. cinerea</i> 'nın Miseliyal Gelişimine Etkisi, Antibiosis ve Siderofor Etkinin Belirlenmesi	30
3.2.3.3. Arazi Denemesi İçin Seçilen Bakteriyel Antagonistlerin Antibiyotik İle İşaretlenmesi	31

3.2.3.4. Arazi Denemelerine Alınan Bakteriyel Antagonistlerden DNA İzolasyonu ve RAPD-PCR Tekniğinin Uygulanması	31
3.2.4. Arazi Denemeleri	35
3.2.4.1. Arazide Bakteriyel Antagonistlerin Etkinliklerinin Belirlenmesi	35
3.2.4.2. Arazide Uygulanan Bakteriyel Antagonistlerin Hasat Sonu Hastalıklarına Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesi	40
3.2.5. Bakteriyel Antagonistlerin Arazide ve Hasat Sonunda Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi	41
3.2.5.1. Antibiyotik İşaretli Bakteriyel Antagonistlerin Arazide ve Hasat Sonunda Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi	41
3.2.5.2. RAPD-PCR Tekniği İle Bakteriyel Antagonistlerin Arazide ve Hasat Sonunda Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi	42
3.2.6. İklim Verileri	44
3.2.7. İstatik Analiz	44
4. SONUÇLAR	46
4.1. Elde Edilen Antagonist Adayı Bakterilerin Özellikleri	46
4.2. Ön denemelerde Etkili Olarak Belirlenen Bakteriyel Antagonistler ve Arazi Denemeleri İçin Bakteriyel Antagonistlerin Seçimi	47
4.3. <i>In vitro</i> Denemeler	50
4.3.1. Ön Denemelerde Etkili Bulunan İzolatların Tür Teşhisi ve Arazi Denemesi İçin Seçimi	50
4.3.2. Arazi Denemesinde Kullanılan İzolatların Antibiyotikle Etiketlenmeleri ..	52
4.3.3. Antibiosis ve Siderofor Etkinin Belirlenmesi	53
4.4. Arazi Denemeleri	57
4.5. Antagonistlerin Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi	71
4.5.1. Antibiyotik İşaretli Bakteriler İle Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi ..	71
4.5.2 RAPD-PCR Tekniği İle Populasyon Dinamiğinin İzlenmesi	77
4.6. İklim Verileri	90
5. TARTIŞMA	93
6. KAYNAKLAR	121
7. EKLER	133
8. ÖZGEÇMİŞ.....	139
9. TEŞEKKÜR.....	140

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1 2005 yılı Dünya çilek üretimi	1
Çizelge 3.1 Bakteriyel izolatların alındığı bölgeler, elde edildikleri bitki organları ve floresant pigment oluşumları	18
Çizelge 3.2 Genomik DNA İzolasyon Kiti'nin İçeriği	32
Çizelge 3.3 RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlerin dizileri, Tm dereceleri ve % GC oranları.....	34
Çizelge 3.4 RAPD-PCR İşleminde Kullanılan 25µl Reaksiyon Tüpü İçin Gerekli Reaksiyon Çözeltisi	34
Çizelge 3.5 RAPD-PCR döngüsü	34
Çizelge 3.6 2005 ve 2006 Yıllarında Arazide Yapılan Uygulama ve Hasat Tarihleri.....	37
Çizelge 4.1 Arazi denemeleri için kullanılacak en etkili izolatların ön deneme sonuçları	48
Çizelge 4.2 Ön Denemeler Sonucu Etkili Bulunan İzolatların Lopat ve Tanı Test Sonuçları	50
Çizelge 4.3 Arazi Denemesinde Kullanılacak Bakterilerin Rifampicin ve Streptomycin'e Spontan Dayanıklılıkları ve Antibiyotik İle Etiketli Dozları	52
Çizelge 4.4 <i>In vitro</i> Ortamda Bakteriyel Antagonitlerin, <i>Botrytis cinerea</i> 'ya Karşı Oluşturdukları İnhibasyon Bölgelerinin Büyüklükleri	53
Çizelge 4.5 2005 ve 2006 Yıllarında Çilek Bahçesinde Doğal Bakterilerin Uygulandığı 8 Metrelik Çilek Parsellerinden Her Hasat Döneminde Görülen <i>Botrytis cinerea</i> İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı (adet)	58
Çizelge 4.6 2005 ve 2006 Yıllarında Doğal Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası Muhafazası Sırasında <i>Botrytis cinerea</i> İle Enfekte Olmuş Meyve Sayıları (adet).....	63
Çizelge 4.7 2005 ve 2006 Yıllarında Antibiyotik İle İşaretli Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası Muhafazası Sırasında <i>Botrytis cinerea</i> İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı (adet).....	69
Çizelge 4.8 2005 ve 2006 yıllarında araziden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların orjinal izolatlar ile % benzerlik oranları	83

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1	Yıllara Göre Bursa İli Çilek Üretim Miktarları 2
Şekil 3.1	Bursa İli içerisinde antagonist adayı bakteriyel izolatların alındığı bölgeler 21
Şekil 3.2	Çilek bahçesinin genel şekli ve uygulamaların yerleri 23
Şekil 3.3	Arazi denemelerinin yapıldığı çilek bahçesinden genel bir görünüş... 24
Şekil 3.4	Ön denemeler sırasında çilek meyvelerine açılan yaralara antagonist adayı bakterilerin ve <i>Botrytis cinerea</i> spor süspansiyonunun verilmesi 26
Şekil 3.5	Arazi denemelerinde kullanılmak üzere geliştirilen bakteriyel izolatların 7000 rpm hızda, 4°C’de, 15 dakika santrifüj edilmesi sonucu oluşan bakteriyel hücre çökeltileri 36
Şekil 3.6	2005 yılında arazide uygulama, arazi ve soğuk hava deposunda muhafaza sırasında, antagonist bakterilerin populasyon dinamiklerinin takibi için örnek alınma zamanları ile arazide meyvelerin hasat tarihleri 38
Şekil 3.7	2006 yılında arazide uygulama, arazi ve soğuk hava deposunda muhafaza sırasında, antagonist bakterilerin populasyon dinamiklerinin takibi için örnek alınma zamanları ile arazide meyvelerin hasat tarihleri 39
Şekil 3.8	Arazide çilek bitkileri üzerine uygulamaların spreyleneşmesine ait genel görünüş 40
Şekil 3.9	Bakterilerin DNA izolasyonu amacı ile santrifüjlenmesi sonucu oluşturdukları hücre çökeltileri 44
Şekil 4.1	Arazideki çilek bitkilerinin değişik organlarından izole edilen antagonist adayı bakterilerin seri seyreltmeler yapılan petri kabındaki görünüşleri.. 47
Şekil 4.2	110 nolu <i>Serratia fonticola</i> izolatının inokule edildiği çilek meyvelerinin kontrolde bulunan çilek meyveleri ile karşılaştırmalı olarak görüntüsü 49
Şekil 4.3	173 nolu <i>Bacillus megaterium</i> ’un ön deneme sonunda kontrole göre etkinliği 49
Şekil 4.4	Tütün HR testi (+) olan 216 nolu bakterinin (<i>Pseudomonas syringae</i>) a) Tütün bitkisine inokulasyondan hemen sonraki görüntüsü, b) aynı yaprak üzerinde 2 gün sonra görülen fitotoksiste 51
Şekil 4.5	173 nolu bakterinin (<i>Bacillus megaterium</i>) patates testi sonucundaki negatif test sonucunun görüntüsü 51
Şekil 4.6	118 nolu antagonist bakterinin (<i>Pseudomonas vesicularis</i>) TSA ortamındaki gelişimi 52
Şekil 4.7	Antagonist bakteriler tarafından TSA ortamında <i>Botrytis cinerea</i> ’ya ait miselyum gelişiminin engellemesi 55

Şekil 4.8	<i>B. cinerea</i> spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe ⁺³ bulunan ve bulunmayan King-B besiortamında <i>Botrytis cinerea</i> 'nın gelişimi	55
Şekil 4.9	<i>B. cinerea</i> spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe ⁺³ bulunan ve bulunmayan King-B besiortamında 122 nolu <i>Pseudomonas fluorescens</i> bakterisinin ve <i>Botrytis cinerea</i> 'nın gelişimi	56
Şekil 4.10	<i>B. cinerea</i> spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe ⁺³ bulunan ve bulunmayan King-B besiortamında 118 nolu <i>Pseudomonas vesicularis</i> bakterisinin ve <i>Botrytis cinerea</i> 'nın gelişimi	56
Şekil 4.11	<i>B. cinerea</i> spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe ⁺³ bulunan ve bulunmayan King-B besiortamında 173 nolu <i>Bacillus megaterium</i> bakterisinin ve <i>Botrytis cinerea</i> 'nın gelişimi	57
Şekil 4.12	2005 yılında arazide doğal bakterilerin uygulandığı 8 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan <i>Botrytis cinerea</i> ile enfekte olmuş meyve sayısı	59
Şekil 4.13	2006 yılında arazide doğal bakterilerin uygulandığı 8 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan <i>Botrytis cinerea</i> ile enfekte olmuş meyve sayısı	60
Şekil 4.14	2005 yılında arazide antibiyotikle işaretli bakterilerin uygulandığı 4 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan <i>Botrytis cinerea</i> ile enfekte olmuş meyve sayısı	61
Şekil 4.15	2006 yılında antibiyotikle işaretli bakterilerin uygulandığı 4 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan <i>Botrytis cinerea</i> ile enfekte olmuş meyve sayısı	61
Şekil 4.16	2005 yılında Doğal Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Depolama Sonrası <i>Botrytis cinerea</i> İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı	64
Şekil 4.17	2006 yılında Doğal Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Depolama Sonrası <i>Botrytis cinerea</i> İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı	64
Şekil 4.18	122 nolu <i>Pseudomonas fluorescens</i> uygulaması yapılarak 1°C'de 4 gün muhafaza edildikten sonraki görünüşleri	66
Şekil 4.19	4 gün 1°C muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda kontrol parsellerinden toplanan çilekler üzerindeki <i>Botrytis cinerea</i> enfeksiyonu	68
Şekil 4.20	4 gün 1°C muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda 173 nolu <i>Bacillus megaterium</i> uygulanan parsellerden toplanan çilekler üzerindeki <i>Botrytis cinerea</i> enfeksiyonu	68
Şekil 4.21	2005 yılında Antibiyotik İle İşaretli Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası Muhafazası Sırasında <i>Botrytis cinerea</i> İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı	70
Şekil 4.22	2006 Yılında Antibiyotik İle İşaretli Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası <i>Botrytis cinerea</i> İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı	70

Şekil 4.23 2005 Yılında Arazide Antibiyotik İşaretli Bakteriler İle Saptanan Populasyon Değişimi.....	73
Şekil 4.24 2006 Yılında Arazide Antibiyotik İşaretli Bakteriler İle Saptanan Populasyon Değişimi.....	73
Şekil 4.25 2005 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi	75
Şekil 4.26 2005 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 4. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi	75
Şekil 4.27 2006 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi	76
Şekil 4.28 2006 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 3. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi	76
Şekil 4.29 122 nolu <i>Pseudomonas fluorescens</i> 'in S30-S39 dizisindeki RAPD primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar	78
Şekil 4.30 118 nolu <i>Pseudomonas vesicularis</i> 'in S30-S39 dizisindeki RAPD primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar	78
Şekil 4.31 173 nolu <i>Bacillus megaterium</i> 'un S30-S39 dizisindeki RAPD primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar	79
Şekil 4.32 122 nolu <i>Pseudomonas fluorescens</i> 'in uygulandığı parsellerden alınan ve morfolojik olarak orjinal izolata benzerliği bulunan bazı izolatların S31 ve S33 primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar	79
Şekil 4.33 118 nolu <i>Pseudomonas vesicularis</i> 'in uygulandığı parsellerden alınan ve morfolojik olarak orjinal izolata benzerliği bulunan bazı izolatların S36 ve S37 primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar	80
Şekil 4.34 173 nolu <i>Bacillus megaterium</i> 'un uygulandığı parsellerden alınan ve morfolojik olarak orjinal izolata benzerliği bulunan bazı izolatların S30 ve S32 primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar	80
Şekil 4.35 2005 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Arazide Uygulanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi.....	87
Şekil 4.36 2006 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Arazide Uygulanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi	87
Şekil 4.37 2005 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi	88
Şekil 4.38 2005 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 4. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi.....	88
Şekil 4.39 2006 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi	89

Şekil 4.40 2006 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 3. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi	89
Şekil 4.41 2005 yılına ait iklim verileri (Ortalama sıcaklık, nispi nem, yağış ve yaprak ıslaklığı)	91
Şekil 4.42 2005 yılına ait iklim verileri (Ortalama sıcaklık, nispi nem, yağış ve yaprak ıslaklığı)	92

1. GİRİŞ

Çilek (*Fragaria × ananassa* Duch.), üzüksü meyveler grubunun önemli bir üyesi olup, Rosaceae familyasının *Fragaria* cinsine ait çok yıllık bir bitkidir. Anavatanının Kuzey ve Güney Amerika olduğu bilinmektedir (Hancock 1999).

Çilek tüm dünya ve ülkemizde yaş, dondurulmuş ve meyve suyu şeklinde tüketilmektedir. Besleyici değerleri açısından bakıldığında özellikle C vitamini bakımından zengin olan bu meyvenin, 100 gramında 100 mg'a kadar çıkabilen C vitamini bulunmaktadır. Çilek, sindirimin kolaylaştırılmasında büyük rolü olan selüloz bakımından da zengindir. Ellajik asit içeriğinin yüksek olması nedeniyle, kanseri önleyici etkisinin olduğu bilinmektedir. Ayrıca 100g çilek meyvesi 40–45 kalori vermekte, önemli miktarda salisilik asit, A ve B vitaminleri, kalsiyum, demir, fosfor gibi mineral maddeler ve çok az miktarda brom, iyot ve kükürt içermektedir (Türemiş ve ark. 2000).

Çok geniş ekolojik sınırlar içerisinde yetişebilme imkanına sahip nadir meyve türlerinden olan çilek, uzun yıllardan beri Avrupa ülkelerinde ve ülkemizde tanınmakta ve yetiştirilmektedir. (Konarlı 1978).

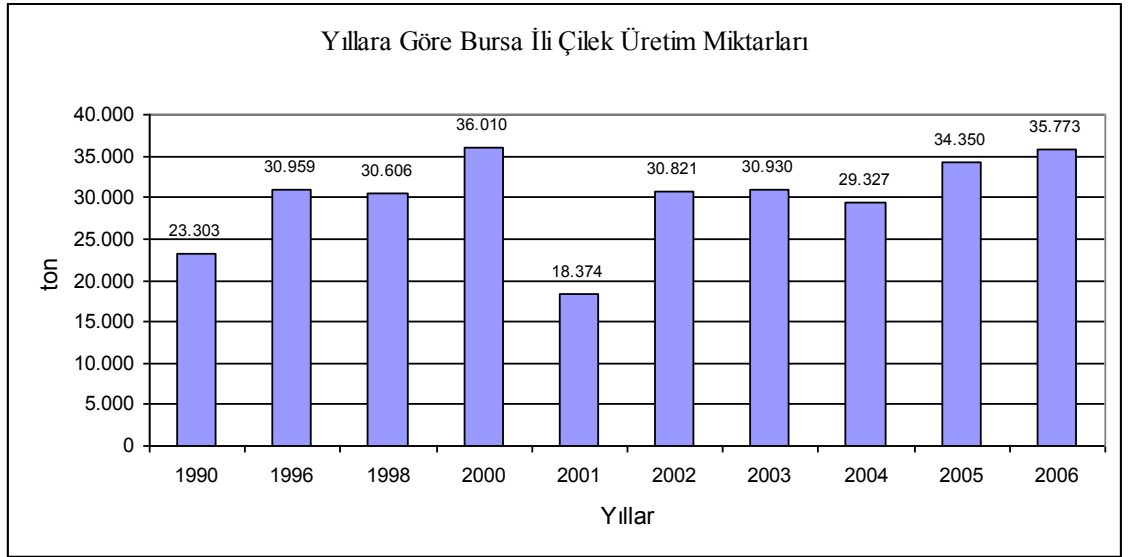
Dünyada çilek üretimi 2005 verilerine göre yaklaşık 3.616.865 ton ve Türkiye'nin bu üretimdeki payı 160,000 ton ile %4.42'dir. Türkiye dünya çilek üretiminde 7. sırada olup ekiliş alanı 10.500 ha'dır (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1 2005 yılı Dünya çilek üretimi (Anonim 2006)

Ülke	Alan (x1000 ha)	Üretim (x1000 ton)
ABD	21	1053
İspanya	7.6	308
Rusya	36	217
Japonya	7.3	200
Kore	7	200
Polonya	53.7	180
Türkiye	10.5	160
Meksika	5.4	150
İtalya	6.2	147
Almanya	12.2	146
Fas	2.7	106
Diğerleri	81.8	73
Dünya	251.7	3.616

Türkiye'den yapılan toplam çilek ihracatı 2007 yılında 17.167 ton olarak gerçekleşmiş, bu ihracattan 21.306.221 dolar gelir elde edilmiştir. Bu miktarlar 2008 yılında artarak ihracat miktarı 22.351 tona çıkmış, bu ihracattan elde edilen gelir 30.313.433 dolar olarak gerçekleşmiştir (Anonim 2008a). Bu veriler ülkemiz yaş meyve ve sebze ihracatında çileğin önemli ürünlerden biri olduğunu ve öneminin de önümüzdeki yıllarda daha da artabileceğini göstermektedir.

Bursa ilinde çilek üretim miktarı 1990 yılında 23.300 ton iken 2006 yılında 35.773 tona çıkmıştır (Şekil 1.1). Çileğin Bursa'daki ekim alanı 2006 yılı itibari ile 39.070 dönümdür. Bursa ilinden 2006 yılında yapılan taze çilek ihracatı miktarı 1.345 ton, dondurulmuş çilek ihracatı miktarı 6.107 tondur (Anonim 2007). Bursa ilinde çilek üretimi ağırlıklı olarak, merkez, Kestel, Keles, Uludağ ve İnegöl yöresinde yapılmaktadır.



Şekil 1.1 Yıllara Göre Bursa İli Çilek Üretim Miktarları (Anonim 2007)

Üretimde verimi etkileyen en önemli faktörlerden biri bitki koruma problemleridir. Yabancıotlar, böcekler ve hastalıkların neden olduğu zarar diğer bitkilerde olduğu gibi çilek bitkisinde de önemli ölçüde kayıplara neden olabilmektedir. Dünyada yapılan çalışmalar çilekde bir çok fungal patojenin ekonomik ölçüde zarara neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu fungal hastalıklar başlıca yaprak, meyve gibi

kısımları hastalandıran toprak üstü hastalıklar ile kök ve kök boğazını hastalandıran toprak kaynaklı hastalıklardır. Topraküstü organlarda görülen hastalıklar kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.:Ex Fr.) başta olmak üzere, külleme (*Sphaerotheca macularis* (Wallr.:Fr.) Jacz.), yaprak leke hastalığı (*Mycosphaerella fragariae* (Tul.) Lindau) ve antraknoz (*Collectotrichum* spp.) olarak sayılabilir. Kök ve kök boğazında görülen fungal hastalıklar arasında ise *Rhizoctonia solani* Kühn, *Phytophthora cactorum* (Lebert & Cohn) J. Schröt, *Phytophthora fragaria* C. J. Hickman, *Verticillium dahliae* Kleb, *Pythium* spp. ve *Fusarium* spp. sayılmaktadır (Maas 1998, De los Santos ve ark. 2003).

Ülkemizde de çilek üretiminin en yaygın olduğu Ege ve Akdeniz Bölgelerinde üretimi sınırlandıran ve ekonomik kayıplara neden olan en önemli hastalıkların başta Kurşuni küf (*B. cinerea*) ve kök ve kök boğazında görülen fungal hastalıklardan *Rhizoctonia* spp. ve *P. cactorum* olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çileğin meyvesi çok kolay bozulabilen, yumuşak dokusu sebebi ile kısa raf ömrüne sahip ve fungal saldırılara yüksek derecede duyarlı bir meyvedir (Kapkın 1978, Pala 1987, Güncü 1989, Vicente ve ark. 2002).

Çilekte *B. cinerea* hasat öncesi ve hasat sonrasında meyvelerde çürümeye neden olarak önemli ürün kaybına sebep olmakta ve çilek hastalıkları içinde en önemlisi olarak kabul edilmektedir. Hastalık çileğin yanı sıra dünya üzerindeki bir çok ülkede 200'den fazla bitki türünün çiçek, sürgün, yaprak ve meyve gibi pek çok organında enfeksiyon yapabilmektedir (Jarvis 1980, Maude 1980).

Hastalık tomurcuklanma sırasında çiçek kısmından başlamakta ve patojen genç bitkiyi erken dönemde enfekte etmektedir. Enfeksiyondan sonra meyve olgunlaşmaya ve biyokimyasal savunma maddeleri azalmaya kadar latent olarak beklemektedir. Hastalık genellikle olgun meyvede hasattan sonra görünmekle birlikte, hasattan önce olgunlaşmakta olan veya olgunlaşmış meyvelerde de ortaya çıkabilmektedir (Powelson 1960, Schönbeck 1967, Mass 1984, Jersch ve ark. 1989, Snowdon 1990).

Hastalık ile savaşmada çiçeklenme dönemindeki fungusit uygulamaları hastalığın engellenmesinde kullanılan en etkili ve yaygın yöntemdir. Ancak, *B. cinerea*'nın fungusitlere karşı kazandığı dayanıklılık, meyveler üzerindeki ilaç kalıntıları, fungusitlerin çevreye olumsuz etkileri ve tüketici kaynaklı oluşan kamuoyu baskısı nedeni ile alternatif savaşım yöntemlerinin bulunması zorunlu hale gelmiştir (Maas

1984, Wilson ve Wisniewski 1989, Wilson ve ark. 1991, Washington ve ark. 1992, El-Ghouth 1997, Someya ve ark. 2001, Kunoh 2002, Schena ve ark. 2003).

Çilekte çürümeye neden olan patojenlerin biyolojik savaş elemanları ile engellenmesinin mümkün olduğu bazı çalışmalar ile ortaya konmuştur. Bu çalışmalarda patojeni engellemek için kullanılan ortak yaklaşım, çiçeklenme ve meyve gelişim aşamasında patojenin enfeksiyonunun engellenmesi veya inokulum potansiyelinin baskı altına alınmasıdır (Lima ve ark. 1997, Helbig 2001).

Biyolojik savaş elemanları çilekte çiçeklenme döneminde püskürtme şeklinde veya arılar aracılığı ile uygulandığında stamen ve petallerde *B. cinerea*'yı baskı altına alarak meyvelerdeki çürümeleri azaltmıştır. *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arnaud ve *Candida oleophila* Montrocher çilekte hasat öncesinde bitkiye uygulandığında hasat sonrası uygulamaya oranla hastalıkları daha etkili bir şekilde engellemiştir. Yine çilekte *B. cinerea*'yı bakteriyel antagonistlerden *Bacillus mycoides* Flugge 1886, *Paenibacillus polymyxa* Prazmowski 1880, *Bacillus pumilus* Meyer and Gottheil 1901 ve *Pseudomonas fluorescens* Migula 1895, *Pseudomonas antimicrobica* Attafuah and Bradbury 1990 hasat öncesi ve hasat sonrası uygulamalarla engellemişlerdir. Yapılan çalışmalar, petal ve stamen gibi antagonistin kısa sürede olarak kolonize olabileceği bölgelerde, patojenden önce antagonistin o bölgeye ulaşmasının enfeksiyon oluşumunu engelleme açısından kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir (Tronsmo ve Raa 1977, Peng ve ark. 1992, Swadling ve Jeffries 1998, Lima ve ark. 1997, Helbig 2001, Guetsky ve ark. 2002).

Bu çalışmada, *B. cinerea*'nın çilekte oluşturduğu çürümelerin arazide ve hasat sonrasında önlenmesi amacıyla yönelik olarak kullanılmak üzere bakteriyel biyolojik savaşım elemanları çilek bitkilerinin çeşitli toprak üstü organlarından izole edilmiştir. Bu izolatlar *B. cinerea*'ya karşı etkilerinin belirlenmesi açısından hızlı bir ön elemenden geçirilerek fitopatogenisite ve tanı açısından uygun olan izolatlar arazide ve hasat sonrasında iki yıl süre ile denenmiştir. Bunlara ek olarak, arazide ve hasat sonrasında kullanılan bakteriyel antagonistlerin populasyon düzeyleri antibiyotik ile işaretleme ve RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA-Polimerase Chain Reaction, Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemleri kullanılarak izlenmiştir.

Çalışmanın kapsamında yürütülen denemeler tamamı Türkiye’de çilekte yürütülen ilk çalışmadır. Evrensel kayıtlar incelendiğinde çilekte bakteriyel antagonistlerin hasat öncesi uygulamalar ile hem hasat öncesi hemde hasat sonrası hastalıklara karşı kullanımı konusunda herhangi bir kayıt olmadığı görülmektedir. Ancak Türkiye’de antagonist mayalar kullanılarak çileğin hasat öncesi ve hasat sonrası hastalıklarını engellemeye yönelik bir çalışma bulunmaktadır (Karabulut ve ark.2004a). Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamız biyolojik savaşım elemanlarının eldesi, etkinliğinin denenmesi ve populasyonlarının iki farklı yöntem ile izlenmesi açısından bir bütünlük gösteren tek çalışmadır. Bu bilgiler ışığı altında orjinalliği açısından çalışmamızın ulusal ve evrensel düzeyde önemli veriler içerdiği söylenebilir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bu Bölümde tezin ana konusunu oluşturan biyolojik savaş elemanları ile hasat sonrası hastalıkları engellemeye yönelik olarak yürütülen ulusal ve uluslar arası çalışmalar özetlenmiştir.

Elmalarda *B. cinerea* ve *Penicillium expansum* Link (1809)'dan kaynaklanan çürümelerin önlenmesi için denenen farklı maya izolatları içinden 6 tanesi etkili olmuştur. Bunlardan 3 tanesinin *Candida sake* Diddens et Lodder, 1 tanesinin *Candida tenuis* (Saito et Ota) van Uden et Buckley ve 2 tanesinin de *Cryptococcus laurentii* (Kuf.) C.E. Skinner olduğu belirlenmiştir (Wilson ve ark. 1993).

Elmada *B. cinerea* ve *P. expansum*'dan kaynaklanan çürümelerin antagonist maya *Sporobolomyces roseus* Kluyver & Niel tarafından tamamen engellediği bildirilmiştir (Janisiewicz ve ark. 1994).

Elmalarda *B.cinerea*'dan kaynaklanan çürümeleri engellemek için *C. oleophila*, *A. pullulans*, *Erwinia* sp., antagonist maya ve bakteriler kullanılmıştır. *A. pullulans* kontrolde %57 olan çürümeyi %2'ye kadar düşürmüş, *C. oleophila* ile birlikte kullanıldığında ise patojeni tamamen engellemiştir. Yaralı bölgede maya popülasyonu birbiri üzerinde olumsuz bir etki yapmamış, aksine sinerjistik etki göstermiştir (Mercier ve Wilson 1994).

Petunya da *B. cinerea*'dan kaynaklanan yaprak yanıklığının önlenmesi amacı ile petunya bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden 172 bakteri izole edilmiştir. Bu izolatlarla petal diskler üzerinde hızlı bir ön eleme yapılmıştır. Yirmi dört bakteriyel izolat petal disklerdeki *B. cinerea* sporulasyonunu %100 engellemiştir. İzolatlar flouresant pseudomonaslar olarak tanımlanmıştır. *P. fluorescens* PB92B1OE izolatu *B. cinerea* inokulasyonunun yapıldığı bitkilerde hastalığın yayılışını %77 oranında engellemiştir. Petal diskler üzerinde yapılan denemenin, serada etkili antagonistlerin tespitinde kullanılabileceği bildirilmiştir (Ann ve ark. 1996).

Sofralık üzümde *B. cinerea*'dan kaynaklanan çürümeleri önlemek amacı ile meyve gelişiminin yeni başladığı dönemde yapılan bir *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 uygulamasını takiben 2 hafta sonra iprodione uygulaması yapılması çürümeleri önemli ölçüde azaltmıştır. Antagonist uygulamalarının etkisinin karboksilmetil selülaz

ve arap sakızı ile beraber kullanılması durumunda arttığı bildirilmiştir (Harman ve ark. 1996).

Limon ve portakalda *Pseudomonas syringae* van Hall ırk ESC-10 *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc.'dan kaynaklanan yeşil küfü, ırk ESC-11 ise *Penicillium italicum* Wehmer'dan kaynaklanan mavi küfü engellemiştir. ırk ESC-10'un engelleme seviyesinin ırk ESC-11'den daha yüksek olduğu görülmüştür. ırk ESC-10 EPA (U.S. Environmental Protection Agency) tarafından Bio-Save-10 adı ile ruhsat almış, kontrole göre mavi küfü limonda %87.9, portakalda %58.6 oranında azaltmıştır. Limon meyvesindeki yaralarda 2 hafta boyunca her iki ırkın da populasyon düzeyi benzer düzeyde bulunmuştur (Bull ve ark. 1997).

Elmalardaki hasat sonrası hastalıklarını engellemek için *A. pullulans*, *Rhohotorula glutinis* Fresen F.C. Harrison (1928), ve *Bacillus subtilis* (Ehreberg) Cohn hasat öncesi ve bir arada kullanılmıştır. Bir arada kullanılması sonucu *B.cinerea*, *P. expansum* ve *Pezicula malicorticis* (H.S. Jacks.) Nannf. (1932), 'den kaynaklanan çürümeler önemli ölçüde engellenmiştir. Hasat öncesi uygulanan bu mikroorganizmaların populasyonunun hasada kadar artış gösterdiği ve 0°C'deki soğuk hava deposunda da mikroorganizmaların canlılığının devam ettiği bildirilmiştir (Leibinger ve ark. 1997).

Çilekte, sofralık üzüm tanelerinde ve kivi'de maya benzeri fungus olan *A. pullulans* L47, mayalar *Candida vanderwaltii* L60 (Vidal-Leiria) S.A. Meyer & Yarrow ve *C. oleophila* L66, patojen *B. cinerea* ve *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr)'e karşı yüksek seviyede antagonistik etki göstermiştir. L47 ve L66 izolatları çilek yetiştirilen plastik tünellerde çiçeklenme ve meyve olgunlaşması sırasında kullanıldığında L47 izolatu *B. cinerea* ve *R. stolonifer*'e karşı çok etkili bulunmuştur. Her iki izolatu da çiçek döneminde uygulanması etkinliklerini arttırmış ve L47 izolatu vinclozolinden daha etkili bulunmuştur. Antagonist populasyonu düzenli bir şekilde çiçeklenme, meyve gelişimi ve çileklerin soğuk havada depolanması sırasında yüksek seviyede kalmıştır. L47 ve L66 izolatları fungusitlere karşı düşük düzeyde duyarlılık göstermişler ve soğuk havada depolama ile 33°C sıcaklıklar arasında gelişebilmişlerdir. Etki mekanizmalarının ise besin için yarışmaya dayalı olduğu gözlemlenmiştir (Lima ve ark. 1997).

Elma ve armut meyvelerinde hasat sonu çürümelerine sebep olan *B.cinerea* ve *Gloeosporium* sp.'a karşı *B. subtilis* AB-27 izolatından elde edilen kültür filtratının her iki patojeni de önemli seviyede engellediği ve benomyl uygulaması kadar başarılı sonuç verdiği bildirilmiştir. Kültür filtratının LD₅₀ değeri, elmada *B. cinerea* için 713 µl/ml, *Gloeosporium* sp. için 713.7 µl/ml, armutta ise *B. cinerea* için 964 µl/ml, *Gloeosporium* sp. için 859.7 µl/ml olarak belirlenmiştir (Basım ve ark. 1998).

Elmalarda *B. cinerea*'ya karşı etkili olduğu bilinen *Candida saitoana* Nakase et Suzuki'nın etki mekanizmasının araştırıldığı bir çalışmada, yaralı bölgedeki maya hücrelerine yakın olan patojen hifinde, hücre duvarında kalınlaşma ve protoplazmada dejenerasyon tespit edilmiştir. Ayrıca maya hücrelerinin konukçu bitkinin yapısal dayanıklılık mekanizmasını da uyardığı belirlenmiştir (El-Ghaouth ve ark. 1998).

Kivide *B.cinerea*'ya karşı *C. sake*, *Candida pulcherrima* (Linder) Windisch ve *Trichosporon pullulans* Behrend (1890) tek başlarına ve sıcak hava uygulaması ile beraber kullanılmışlardır. Mayalar tek başlarına kullanıldıklarında çürümeyi etkili şekilde önlemişlerdir. Meyvelerin 10°C'de 96 saat tutulması ve arkasından maya uygulamalarının yapılması sıcak hava ve maya uygulamalarının tek başına uygulamalarındaki etkinliklerine göre sinerjistik etki oluşturmuştur. Kısa süreli sıcaklık uygulamaları mayalar ile birlikte kullanıldığında bile çürümeyi engellememiştir (Cook ve ark. 1999).

İtalya'da yürütülen bir çalışmada, pek çok sebze ve meyve üzerinden 41 adet *Aureobasidium pullulans* (maya benzeri fungus) izolatı elde edilmiştir. İzolatların karakterize edilmesinde arbitrarily primed PCR (ap-PCR) kullanılmış ve tür içerisinde yüksek seviyede genetik farklılık görülmüştür. Tüm izolatların elmada hasat sonu hastalıklarından gri küfe karşı etkinliği tespit edilmiş ve üç izolatın greyfurtta *P. digitatum*'u, sofralık üzümde *B. cinerea*, *R. stolonifer* ve *Aspergillus niger* Descr.F.'i, domateste *B. cinerea* ve *R. stolonifer*'i engellediği belirlenmiştir. RAPD PCR tekniğininde uygulanan antagonistlerin yaşamını sürdürme oranlarının belirlenmesi ve tanımlanmalarında yararlı bir teknik olduğu bildirilmiştir (Scheda ve ark. 1999).

Elmada *P. expansum* ve *B. cinerea*'ya ve sofralık üzümde *P. expansum*, *B. cinerea*, *R. stolonifer* ve *A. niger*'e karşı antagonistik etkiye gösteren *A. pullulans*'ın etki mekanizması araştırılmıştır. Besin için rekabet ve *in vitro* ve *in vivo* koşullarda

ekzokitinaz ve β -1,3-glukanaz aktivitesinin etki mekanizmasında önemli rol oynadığı tespit edilmiştir. Ancak *B. cinerea*'ya karşı mayanın etki mekanizmasında antibiosis ve patojen hifi ile maya hücrelerinin doğrudan fiziksel bir interaksiyonun bulunmadığı belirlenmiştir (Castoria ve ark. 2001).

Elma ve turunçgillerde görülen hasat sonu hastalıklarının engellenmesi amacı ile glycolchitosan ve *C. saitoana*'nın beraber kullanım olanaklarının araştırıldığı bir çalışma yürütülmüştür. Maya ve glycolchitosan birlikte kullanıldığında, elmada *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı başarılı sonuçlar alınmıştır. Turunçgillerde ise *P. digitatum*'a karşı her ikisinin tek tek kullanıldığı durumlarda meyvede çürümelerin engellenmesi açısından başarılı sonuç elde edilmiştir. İki uygulamanın beraber kullanılması imazalil ile aynı etkiyi vermiştir (El-Ghaouth ve ark. 2000a).

Çilek meyvesinin epifitik florasından bakteri ve maya izolatları toplanmış ve meyvedeki yaralarda gelişen *B. cinerea*'ya karşı meyveyi koruma kabiliyetleri belirlenmiştir. Potansiyel antagonistler arasından seçilen *Candida reukaufii* (Grüss) Diddens & Lodder'nin üç ırkı (5L3, 10CL4 ve 10L2), *Candida pulcherrima* (Lindner) Windisch'nın bir ırkı (10L8) 10^3 cfu (koloni oluşturan bakteri sayısı)/yara miktarında uygulandığında patojene karşı yaralı meyveyi koruyarak lezyon çapı ve konidiofor gelişimini azaltmıştır. Aynı koşullarda, iki *Enterobacteriaceae* ırkı da (10B1 ve 5B4) patojen gelişimini önemli miktarda azaltmışlardır. Irk 5B4 10^2 cfu/yara miktarında uygulandığında dahi hastalığı engellemiştir (Guinebretiere ve ark. 2000).

Elmalarda *A. pullulans*'ın *B. cinerea* ve *P. expansum*'dan kaynaklanan çürümelerin azaltılması amacı ile kullanıldığı bir çalışmada, *P. expansum*'dan kaynaklanan çürümeler %67, *B. cinerea*'dan kaynaklanan çürümeler ise %89 düzeyinde engellenmiştir. Aynı zamanda mayaların meyvelerdeki biyokimyasal savunma reaksiyonları üzerindeki etkisi araştırılmış ve maya uygulaması yapıldıktan sonra 24 saat içinde meyvede β -1,3-glukanaz, kitinaz ve peroksidaz miktarının arttığı ve 48-96 saat sonra bu enzimlerin en üst düzeye çıktıkları bulunmuştur (Ippolito ve ark. 2000).

B. cinerea'ya karşı antagonistik aktiviteyi belirleyebilmek için İsrail'de bulunan sofralık ve şaraplık üzümlerden 129 adet epifitik mikroorganizma elde edilmiştir. İki izolatın üzümde çürümeye sebep olan *A. niger* ve *R. stolonifer*'i engellediği belirlenmiştir. Yaralı üzümlerde çürümeye sebep olan *B. cinerea*, *A. niger*, *R.*

stolonifer'i A42 izolatu sırası ile %8, %14 ve % 22 oranında, B11 izolatu ise sırası ile %16, %82 ve %60 oranında engellemiştir. Üç yıl süresince hem sofralık üzümde hem de şaraplık üzümde arazi çalışması yapılmış ve bağlara maya süspansiyonları 7-10 gün ara ile 2-5 kez püskürtülerek hem hasat öncesinde hem de hasat sonrasında hastalıkları engelleyici etki tespit edilmiştir. Özellikle A42 izolatu ile *B. cinerea*'nın zararının her iki üzüm çeşidinde, *A. niger*'in zararının ise şaraplık üzümde önemli derecede azaltıldığı tespit edilmiştir (Zahavi ve ark. 2000).

B. cinerea'ya karşı *P. polymyxa* izolat 1891'in antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir. İzolatın kültür süspansiyonu %1'lik çilek meyve suyuna karıştırıldığında *B. cinerea* konidilerinin çim tüpü uzunluğunu etkili şekilde engellerken, konidi çimlenmesini engelleyici etkisi olmamıştır. Bakteriyel antagonistin kültür süspansiyonunun ve yıkanmış hücrelerinin çilek yaprak diskleri üzerindeki konidiofor yoğunluğunu sırası ile %67 ve %84 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Üç yıl süren arazi denemelerinde *P. polymyxa*'nın *B. cinerea*'yı engelleyici etkisinin kontrole oranla %16-26 arasında olduğu tespit edilmiştir (Helbig 2001).

Siklemde gri küf hastalığını oluşturan *B. cinerea*'ya karşı *Serratia marcescens* (Bizio 1823) ırk B2'nin etkili bir biyolojik savaş elemanı olduğu ve *in vitro*'da *B. cinerea*'ya karşı kuvvetli antifungal etki gösterdiği bulunmuştur. Antagonistin kültür filtratlarında kitinolitik enzimlerden endokitinaz ve chitobiase'in bulunduğu, B2'nin ekstraselüler proteinlerinde 4 kitinolitik enzimin tesbit edildiği ve bunlardan ikisinin 58 k-Da endokitinaz ve 98 k-Da chitobiase olduğu bulunmuştur. Her iki enzimin de *B. cinerea*'nın spor çimlenmesini engellediği tespit edilmiştir (Someya ve ark. 2001).

Elma'da *B.cinerea* ve *P. expansum*'dan kaynaklanan hasat sonrası çürümelere önlemek amacı ile *P. syringae*'nin MA-4, MB-4, MD-3b, ve NSA-6 izolatları kullanılmıştır. İzolatlar 1×10^7 cfu/ml konsantrasyonunda iki patojene karşı ayrı ayrı uygulandığında mavi küf %78-94 arasında engellenmiştir. Aynı koşullarda *P. syringae*'nin MD-3b, NSA-6, and MA-4 izolatları kurşuni küf engellemişlerdir. Ancak, mavi küfe göre kurşuni küfün engellenmesi için *P. syringae*'nin MA-4 and NSA-6 izolatlarının daha yüksek konsantrasyonda kullanılması gerekmiştir. 'Empire' and 'Delicious' elmalarına spreyleme yapılarak mavi küf engellenmiştir. Aynı elma çeşitlerine *P. syringae*'nin MA-4 izolatının 1×10^8 cfu/ml konsantrasyonunun mavi küfe

karşı daldırma şeklinde uygulanması, ticari bir biyofungisit olarak satılan BioSave™ uygulamasından daha etkili olmuş ve etkili oldukları bilinen thiabendazole ve diphenylamine kombinasyonu ile aynı etkiyi sağlamıştır (Zhou ve ark. 2001).

Üzümde, PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-Bitki Gelişimini Teşvik Eden Rhizobakterler), *Pseudomonas* sp. strain PsJN'ın *B. cinerea*'ya karşı kullanıldığı bir çalışmada, *in vitro* koşullarda bakteri kültürü ve patojenin birlikte uygulanmasının fungusun yayılmasını durdurmadığı bulunmuştur. Ancak, bakterinin patojenden 2 gün önce uygulanması sonucu bakteri çevresindeki bölgede fungusun gelişmediği bir alan oluşmuştur. *In vitro* koşullarda asma yaprakçıklarına *B.cinerea* uygulanmasını takiben bakteri uygulaması yapılması sonucu tüplerde fungal gelişme durmuştur. Mikroskopla yapılan incelemede, PDA besiyeri bulunan petrilerdeki *B. cinerea* ve bakteri interaksiyonun olduğu bölgedeki fungal miselyum incelendiğinde, koagülasyon ve protoplazma akıntısı olduğu görülmüştür. Bakteri fungusun polygalaktronaz aktivitesi üzerinde etkili olmamıştır. Bakterinin fungus gelişmesini hücrenin membran yapısını bozarak engellediği bildirilmiştir (Barka ve ark. 2002).

Orta derecede *B. cinerea*'ya dayanıklı olan Perilla bitkisi çeşitlerinden Milyang üzerinde *B. cinerea*'nın oluşturduğu kurşuni küf hastalığına karşı biyolojik savaşım amacı ile perilla yaprak ve rizosferinden 250 bakteriyel izolat elde edilmiştir. Bu izolatlardan 6 tanesi *B.cinerea*'nın miseliyal gelişimini ve konidi çimlenmesini etkili düzeyde engellemiştir. Saksı denemelerinde ise kontrole göre N1 izolatu %95.3 ve N4 izolatu ise %90.8 oranında hastalığı baskı altına almıştır. Elektron mikroskop, Bergey's manuel ve API 20E ve 50 CHB testlerine göre izolatlardan N1'in *Bacillus licheniformis*, N4'ün ise *B. megaterium* olduğu belirlenmiştir (YeongJun ve ark. 2002).

Kiraz meyve etinden 51 adet endofitik *A. pullulans* elde edilmiş ve hasat sonrasında kiraz ve sofralık üzümdeki çürümelere karşı biyokontrol aktiviteleri belirlenmiştir. Üç farklı polimorfik DNA (RAPD) primeri kullanılarak yapılan ön izleme sonucu izolatların aralarında yüksek derecede genetik farklılık bulunduğu ve RAPD elektroforezi sonucunda genetik farklılık gösteren 35 izolatu kiraz ve üzüm meyvelerinde *B. cinerea* ve *Monilinia laxa* (Aderh. & Ruhland) Honey (1945)'dan kaynaklanan hastalıkları %10-100 arasında azalttığı bulunmuştur. Populasyon çalışmaları, arazi koşullarında 547 nolu izolatu hayatını sürdürdüğü ve soğuk havada

depolama döneminde popülasyonunu arttırdığını ve çiçeklenme sırasında uygulandığında da kiraz meyvesinin etine penetre olabildiğini göstermiştir (Scheda ve ark. 2003).

Hasat edilen çileklerde *B. cinerea*'ya karşı sıcak su, biyolojik savaş elemanı ve kontrollü atmosfer uygulamalarının tek başına veya beraber kullanımı ile sağlanan korumanın araştırıldığı bir çalışma yürütülmüştür. Meyveler yaralanarak *B. cinerea* ile inokule edilmiş ve daha sonra 63°C'deki sıcak suya 12 saniye süre ile daldırılmıştır. Daldırmadan sonra biyolojik savaş amacı ile kullanılan maya *Pichia guilliermondii* Wickerham ile inokule edilmiş ve/veya 5°C'de 15 kPa CO₂ şartlarındaki kontrollü atmosferde 5 ve 14 gün süre ile depolanmış ve 20°C'de 2 gün rafta bekletilmiştir. Sıcaklık uygulaması, biyolojik savaş elemanı ve kontrollü atmosfer'in beraber kullanımı sonucu uygulamalarının tek başlarına kullanıldıkları duruma göre hastalık daha etkili bir şekilde engellenmiştir (Wszelaki ve Mitcham 2003).

Elmada *B. cinerea*'ya karşı *B. subtilis* ırk GA1'in antagonistik etkisinin belirlendiği çalışmada, elma meyvesindeki yüzeysel yaralara önce antagonist ardından da patojenin inokulasyonu yapılarak 5 gün süre ile meyve hastalıktan tamamen korunmuştur. Sonraki 10 günde %80 oranında koruma sağlanmıştır. Antagonistin kültür ekstraktının sıvı kısmı ile yapılan uygulama sonucu hastalığa karşı etkili şekilde koruma sağlanmış ve bunun iturin, fengycin ve surfactin gurubu lipopeptit izomerlerinin antagonist tarafından bol miktarda üretilmesi ile ilgili olduğu belirlenmiştir (Touré ve ark. 2004).

B. subtilis ve *B. megaterium*'a ait bakteri ırklarının sıvı ortamda litik enzim aktivitelerinin belirlenmesi amacı ile karbon kaynağı olarak *B. cinerea*'ya ait ölü miselyum hücrelerinin kullanıldığı bir çalışma yürütülmüştür. Bakteriler tarafından kitinaz, beta-1,4 glukozidaz (endo-1,3(4)-beta-glucanase), beta-glukozidaz, proteaz (proteinase) ve lipaz (triacylglycerol lipase) enzimlerinin salgılandığı tespit edilmiştir. Litik aktivitenin pH 6.5'de ve % 4-5 ölü miselyumun ortamda bulunduğu durumda optimum olduğu tespit edilmiştir (Saad ve ark. 2005).

Elmada *P. fluorescens* strain 1100-6'in *Penicillium* spp.'a karşı biyokontrol aktivitesi ve patojen ile interaksyonunun incelendiği bir çalışma yürütülmüştür. Yaralı elmalara yeşil flouresant protein (GFP-Green Fluorescent Protein) ile etiketlenmiş

bakteri verilerek biyokontrol ajanının popülasyon seviyesi, *P. expansum* veya *Penicillium solitum* Westling (1911)'un bulunduğu ve bulunmadığı durumlarda belirlenmiştir. Yeşil fluorescent protein ile işaretli bakteriler fluorescent mikroskopi veya direkt fluorescent tarama (Storm (R) scanning system) teknikleri kullanılarak belirlenmişlerdir. Normal bakteri sayısı ile yeşil fluorescent işaretli bakteri sayısı arasında güçlü bir korelasyon tespit edilmiştir. Bu ilişki Gala elma çeşidinde patojen *Penicillium* spp.'ların bulunduğu ve bulunmadığı durumlarda devam etmiştir. Yeşil fluorescent protein ile işaretli bakterilerin uygulandığı elmalar 5°C'de 40 gün ve 20°C'de 9 gün olmak üzere iki farklı şekilde inkube edilmişlerdir. Her iki sıcaklıkta bekletilen elmalarda yeşil fluorescent protein ile işaretli bakterilerin sayısının patojenin bulunduğu ve bulunmadığı durumlarda arttığı belirlenmiştir. Fluoresant mikroskopi veya tarama ile yapılan incelemede, yara yerinden 1 cm uzaklıktaki dokuda bakteri bulunamamıştır (Etebarian ve Sholberg 2006).

Bacillus licheniformis (Weigmann 1898) Chester 1901 N1'in Biji ortamında geliştirilerek elde edilen fermante kültürünün değişik formülasyonlarının domateste *B.cinerea*'yı engelleme oranlarının araştırıldığı bir çalışma yürütülmüştür. Islanabilir toz (Wettable powder-WP) formülasyonun diğer formülasyonlara göre domates bitkisi ve çiçeğindeki enfeksiyonu, patojen inokulasyonunun yapıldığı ve doğal enfeksiyon koşullarında daha fazla azalttığı belirlenmiştir. Carbendazim ve diethofencarb (1:1) karışımının uygulaması ile bitkideki enfeksiyon %77, N1E uygulamasında ise %90.5 oranında azaltılmıştır. Bunun yanında normal yetiştiricilik koşullarında N1E uygulamasının bitkide meyve sayısını ve büyüklüğünü arttırdığı bulunmuştur (Lee ve ark. 2006).

Çilekte *B. cinerea*'ya karşı biyolojik savaşım ajanı olarak *B. licheniformis* N1E'in farklı formülasyonlarının kullanıldığı bir çalışmada yürütülmüştür. Islanabilir toz (Wettable powder-WP) formülasyonun saksıdaki çilek yaprak ve çiçeklerinde *B. cinerea*'yı engellediği tespit edilmiştir. Serada formülasyonun 100 kat seyreltilmesi ile *B. cinerea* enfeksiyonu engellenmiştir. Yüz kat seyreltilmiş N1E formülasyonunun *B. cinerea* inokulasyonundan önce uygulanması ile kopmuş yapraklardaki enfeksiyonun engellendiği, ancak *B. cinerea*'nın önce uygulanması durumunda başarı sağlanamadığı bulunmuştur. Çilek yaprak ve çiçeklerinde *B. cinerea* enfeksiyonu yapay inokulasyonlarda ve doğal koşullarda N1E uygulamaları sonucunda önemli ölçüde

engellenmiştir. Iprodione uygulaması ile yapraklardaki enfeksiyon %61.5, N1E uygulamasında ise %81 oranında azaltılmıştır (Hyung ve ark. 2007).

Elma ve armutta *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al.*'ya etkinliğinin yüksek olduğu bilinen biyolojik savaşım ajanı *P. fluorescens* strain EPS62e'in ticari preperat haline getirilmeden önce, tomurcuklarda, meyve ve yapraklardaki populasyon dinamiğinin belirlenebilmesi için bir çalışma yapılmıştır. Populasyon dinamiğinin izlenmesi amacı ile kolonilerin selektif ortamda sayımı ve SCAR markerlerin kullanıldığı Real-time PCR teknikleri kullanılmıştır. Serada çiçekler üzerinde biyokontrol ajanının populasyonu 10^7 cfu/tomurcuk'dan 10^8 cfu/tomurcuk'a çıkmıştır. İki ay süren arazi denemelerinde meyve oluşumu sonrasında biyokontrol elemanının en fazla olduğu yerin kaliks olduğu bulunmuştur. Çiçek tomurcuklarında yapılan denemelerde kolonilerin selektif ortamda sayımı ile SCAR markerlerin kullanıldığı Real-time PCR teknikleri arasında fark görülmemiştir. Ancak, serada yapraklar üzerinde yapılan denemelerde biyokontrol elemanının sayısının zaman içinde azaldığı ve her iki teknikle yapılan sayım sonuçlarının farklı olduğu görülmüştür. Yapraklardaki sayımlarda genellikle Real-time PCR verilerinin daha yüksek olduğu, bunun sebebinde EPS62e izolatının kültüre alınamayan parçalarından (VBNC-a viable but unculturable) ve DNA'ları degrade olmamış ölü hücrelerden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Arazide yapılan uygulamalarda her iki sayım tekniğinde de biyokontrol elemanının populasyon seviyesi sayım yapılabilir düzeyin altına düşmüştür. Sonuçta her iki sayım tekniğinin de konukçu türü, bitki organı ve hava koşullarına bağlı olmak üzere biyokontrol elemanının populasyon düzeyi açısından yararlı bilgiler verebileceği tespit edilmiştir (Pujol ve ark. 2007a).

Akdeniz iklimi koşullarında elma ve armut fidanlıklarında *P. fluorescens* EPS62e'in ateş yanıklığına karşı biyolojik etkinliği araştırılmıştır. Bakterinin populasyon dinamiği *in vitro* ortamda kolonilerin sayılması ve Real-time PCR tekniğinin kullanılması ile takip edilmiştir. Uygun hava koşullarında bakteri ile çiçeklere inokulasyon yapılması sonucu 10^8 cfu/çiçek düzeyindeki bakteri populasyonu her iki sayım tekniği ile test edilmiştir. Konukçu bitki türünün farklı olması bakteri kolonizasyonunu etkilememiş, tomurcuklara inokulasyon yapılan bakteri hücreleri mikrobiyal yükün çoğunluğunu oluşturmuştur. Yapraklara yapılan bakteri inokulasyonundan 30 gün sonra populasyon seviyesinin her iki sayım tekniğinde de

populasyonun tespit edilebilir sınırının altına indiği görülmüştür. Meyve bahçesinde EPS62e izolatının inokulasyonundan sonra, inokulasyon yapılan noktanın 15-35 metre uzağındaki ağaçlardaki çiçeklerde bakteri tespit edilmiştir (Pujol ve ark. 2007b).

Biyolojik savaşım ajanı *B. subtilis* 101 izolatını doğada bulunan diğer *B. subtilis* izolatlarından ayırmak için RAPD-PCR tekniğinin kullanıldığı bir çalışma yürütülmüştür. RAPD-PCR sonucu elde edilen bir fragment, SCAR (sequence-characterized amplified region) markeri olarak düzenlenerek, straine spesifik 4 farklı primer çifti dizayn edilmiştir. SCAR primerler çiftleri ile kalitatif PCR ve Southern blotting yapılmış ve bakteri ırkını belirleme limitinin 1×10^2 cfu/g kuru toprak olduğu belirlenmiştir. Serada ve arazide yapılan denemeler sonucu, tespit edilen belirleme seviyesinin *B. subtilis* izolatının izlenmesi için yeterli olduğu bildirilmiştir (Felici ve ark. 2008).

Elma meyvesi ve yaprağının yüzeyinden yarı seçici özellikte King-B ortamı kullanılarak 210 adet *Pseudomonas* spp. ın elde edildiği bir çalışmada, bakteriler *in vitro* ve *in vivo* koşullarda *Botrytis mali* Ruehle (1931)'ye karşı denenmişlerdir. İkiyüz on bakteri içinden 10 tanesinin kültür filtratı, bakteri hücreleri ile beraber kültür filtratı ve bakterilerin oluşturdukları gazların etkileri araştırılmıştır. 10 bakterinin *B. mali*'yi engelleme oranları kültür filtratında %75-99 düzeyinde, bakteri hücreleri ile beraber kültür filtratının kullanıldığı durumda ise %49-68 ve bakterilerin oluşturdukları gazların uygulanması sonucu %52-97 düzeyinde gerçekleştiği tespit edilmiştir. Yaraya antagonist bakterilerin $20 \mu\text{l}$ 1×10^{11} cfu/ml yoğunluğunda süspansiyonlarının verilmesinden 48 saat sonra da patojenin 1×10^8 spor/ml yoğunluğunda süspansiyonu verilerek 20°C 'de 20 gün ve 5°C 'de 25 gün olarak iki şekilde inkubasyona bırakılmışlardır. Tüm bakteriler hem 20°C , hem de 5°C 'de iyi bir antagonistik aktivite göstermiştir. Bu bakterilerin arasında *P. fluorescens* strain Pf1 en iyi antagonistik etkiyi göstermiş, 5°C inkubasyonda kontrolde patojen kaynaklı çürüme 14.5 cm^2 iken *P. fluorescens* strain Pf1'de 0.6 cm^2 olduğu bulunmuştur (Mikani ve ark. 2008).

Turuncgillerde ve taş çekirdeklilerde *Pantoea agglomerans*'ın CPA-2 ırkının populasyonunun izlenmesi amacı ile yarı seçici ortam ve moleküler marker'ların kullanıldığı bir araştırılma yapılmıştır. Bakteriyel kolonilerin eldesinde yarı seçici ortam olarak tetracycline hydroxychloride içeren Malonate Broth Agar kullanılmış ve yüksek

sıcaklıkta (maksimum 40°C) inkubasyon sonucu *P. agglomerans* (Ewing and Fife 1972) CPA-2 kolonileri elde edilmiştir. RAPD tekniği CPA-2'nin de içinde bulunduğu 13 adet *P. agglomerans*'a uygulanmıştır. Bu amaçla kullanılan 12 primer içinden, OPL-11 primeri CPA-2 ırkına spesifik 720 bp'lik bir bölgenin amplifikasyonunu sağlamıştır. Bu spesifik bölge üzerinden 2 adet SCAR marker'ın sentezi yapılmıştır. İlk SCAR marker'ı CPA-2 ırkına özel 720 bp'lik bölgeyi amplifiye etmekte, ikinci SCAR marker'ı ise CPA-2 ırkında içinde bulunduğu tüm *P. agglomerans*'ları tanılayan 270 bp'lik bir bölgeyi amplifiye etmiştir. Ticari boyutta yapılan denemede CPA-2 ırkı bakteriye ait formulasyonun çürümeyi etkili şekilde önlediği görülmüştür. Bu çalışma sırasında CPA-2 ırkının meyve yüzeyindeki populasyon dinamiği, klasik petri ortamında ve SCAR primerlerinin kullanılması ile moleküler olarak belirlemiştir. İki metod arasında farklılık görülmemiştir. CPA-2 uygulamasından bir gün sonra meyve üzerinde 4.37×10^6 cfu/yara ve deneme sonunda da 5.80×10^5 cfu/yara düzeyinde bakteriyel populasyon elde edilmiştir. SCAR primerleri ile kolonilerin %90-95'i *P. agglomerans* CPA-2 olarak tanımlanmıştır (Nunes ve ark. 2008).

Çilekte *B. cinerea*, çeltikte *R. solani* ve ayçiçeğinde *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (1884)'a karşı *Streptomyces platensis* Tresner and Backus 1956 F-1'in ürettiği gazlar biyolojik kontrol amacı ile kullanılmıştır. On altı adet gazın oluştuğu ve bunların alkol, ester, asit, alkan, keton and alken guruplarına ait oldukları belirlenmiştir. En fazla miktarda bulunan gazın geosmin olduğu, bunun yanında phenylethyl alcohol and (+)-epi-bicyclosesquiphellandrene olarak tanımlanan 2 tane antifungal bileşiğin bulunduğu belirlenmiştir. Sağlıklı görülen pirinç, ayçiçeği tohumu ve çilek meyvelerinin *S. platensis* F-1'in ürettiği gazlar ile fümige edildiğinde hastalıkların ortaya çıkışı ve yayılışını etkili şekilde engellenmiş ve miseliyal gelişimi baskılanmıştır. Sonuç olarak, *S. platensis* F-1'in ürettiği gazların etkili olduğu belirlenmiştir (Wan ve ark. 2008).

Seralarda yetiştirilen hıyar bitkilerinin rizosferinden antibiyotik etkili gaz üretme yeteneğinde 4 tane *Bacillus* straini izole edilmiştir. Bu bakterilerin ürettiği gazlar pek çok bitkideki patojenlere karşı denemiş ve etkili oldukları belirlenmiştir. Gazların fungus misellerinin morfolojik yapılarında anormalliklerin ortaya çıkmasına sebep oldukları görülmüştür. Petri kabında yapılan denemelerde *S. sclerotiorum*'a ait sklerotların sayısında azalma görülmüş, *B. cinerea* sporlarında çatlaklara ve

kahverengileşmelere sebep oldukları bulunmuştur. Toprakta bu mikrobiyal kaynaklı gazların yaygın olarak bulunduğu ve hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynadıkları belirtilmiştir. Bu 4 bakterinin 16SrDNA analizleri sonucu birinin *P. polymyxa* (BMP-11), diğerinin *B. subtilis* (BL02), diğer 2 türün ise *B. pumilus* (BSH-4 and ZB13) oldukları belirlenmiştir (Wei-wei ve ark. 2008).

Elmanın hasat sonu hastalıklarından *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı biyolojik savaşım ajanı *Rhodotorula glutinis*'in etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, maya hücrelerinin sayısı ile hastalığın ortaya çıkışı arasında negatif bir korelasyon bulunduğu belirlenmiştir. *R. glutinis*'in 1×10^8 cfu/ml yoğunluğundaki konsantrasyonunun yaraya verilmesinden sonra *B. cinerea*'nın 1×10^5 spor/ml yoğunluğundaki inokulum verilmesi veya *R. glutinis*'in 5×10^8 cfu/ml yoğunluğundaki konsantrasyonunun yaraya verilmesinden sonra *P. expansum*'un 5×10^4 spor/ml yoğunluğundaki inokulum verilmesi ve ardından 20°C'de 5 gün meyvelerin inkubasyonu sonucu, patojen kaynaklı enfeksiyonların tamamen engellendiği görülmüştür. Yaraya verilen maya konsantrasyonunun 4 gün sonra en üst seviyeye çıkarak 56.9 kat arttığı bulunmuştur. Maya uygulaması yapılan meyvelerin 4°C'de 30 gün bırakılması ve ardından 20°C'de 5 gün rafta bekletilmesi sonucunda, kontrolde %75, maya uygulaması yapılan meyvelerde %28.3 çürüme görülmüştür. Maya uygulaması yapılan meyvelerde kalite kriterleri açısından herhangi bir olumsuzluk görülmemiştir (Zhang ve ark. 2009).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Antagonist Adayı Bakteriyel İzolatlar

Denemede kullanılacak antagonist adayı bakterilerin elde edilmesi amacı ile Bursa İlindeki çilek bahçelerine 15 Mayıs-4 Ağustos 2004 tarihleri arasında 7-10 günlük aralıklar ile düzenli sürveyler yapılmıştır. Değişik bölgelerdeki farklı bahçelerden tesadüfen seçilen çilek yaprak, meyve ve çiçekleri üzerinden antagonist adayı bakteriler elde edilmişlerdir (Çizelge 3.1 ve Şekil 3.1)

Çizelge 3.1 Bakteriyel izolatların alındığı bölgeler, elde edildikleri bitki organları ve floresant pigment oluşumları

İzolat No:	M evki	Köy	İzole Edildiği Bitki Organı	Floresant Oluşumu	İzolat No:	Mevki	Köy	İzole Edildiği Bitki Organı	Floresant Oluşumu
1	Uludağ	Soğukpınar	Meyve	-	33	Keles	Baraklı	Çiçek	+
2	Uludağ	Soğukpınar	Meyve	-	34	Keles	Epçeler	Kırmızı Meyve	-
3	Keles	Epçeler	Yeşil meyve	+	35	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	+
4	Keles	Epçeler	Çiçek	-	36	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-
5	Keles	Epçeler	Yeşil meyve	-	37	Keles	Küçük Deliler	Yaprak	-
6	Keles	Baraklı	Meyve	+	38	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	-
7	Uludağ	Soğukpınar	Çiçek	-	39	Keles	Pınarcık	Yaprak	-
8	Keles	Baraklı	Yaprak	-	40	Keles	Pınarcık	Yeşil meyve	-
9	Keles	Baraklı	Yaprak	-	41	Keles	Pınarcık	Kırmızı Meyve	-
10	Keles	Küçük Deliler	Yaprak	-	42	Keles	Baraklı	Çiçek	-
11	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-	43	Keles	Pınarcık	Kırmızı Meyve	-
12	Keles	Küçük Deliler	Yeşil meyve	-	44	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-
13	Uludağ	Soğukpınar	Çiçek	-	45	Keles	Küçük Deliler	Yeşil meyve	+
14	Uludağ	Soğukpınar	Çiçek	+	46	Keles	Epçeler	Çiçek	+
15	Uludağ	Soğukpınar	Çiçek	+	47	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	-
16	Uludağ	Soğukpınar	Meyve	+	48	Keles	Pınarcık	Yaprak	+
17	Uludağ	Soğukpınar	Meyve	-	49	Keles	Çaybaşı	Yaprak	-
18	Uludağ	Soğukpınar	Meyve	-	50	Keles	Baraklı	Çiçek	+
19	Keles	Küçük Deliler	Meyve	+	51	Kestel	Sayfiye	Meyve	+
20	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-	52	Kestel	Babasultan	Meyve	-
21	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-	53	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-
22	Uludağ	Soğukpınar	Meyve	+	54	Kestel	Sayfiye	Çiçek	+
23	Keles	Baraklı	Çiçek	+	55	Kestel	Sayfiye	Çiçek	-
24	Keles	Baraklı	Meyve	-	56	Kestel	Sayfiye	Meyve	+
25	Keles	Küçük Deliler	Yaprak	-	57	Kestel	Sayfiye	Çiçek	-
26	Keles	Baraklı	Kırmızı Meyve	-	58	Kestel	Aksu	Meyve	-
27	Keles	Pınarcık	Çiçek	-	59	Kestel	Sayfiye	Meyve	-
28	Keles	Küçük Deliler	Yaprak	+	60	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	+
29	Keles	Baraklı	Meyve	+	61	Kestel	Sayfiye	Meyve	-
30	Keles	Baraklı	Meyve	-	62	Keles	Baraklı	Çiçek	+
31	Keles	Küçük Deliler	Yeşil meyve	-	63	Uludağ	Soğukpınar	Meyve	+
32	Keles	Küçük Deliler	Yeşil meyve	-	64	Kestel	Sayfiye	Çiçek	+

Çizelge 3.1 (devam) Bakteriyeel izolatların alındığı bölgeler, elde edildikleri bitki organları ve floresant pigment oluşumları

İzolat No:	Mevki	Köy	İzole Edildiği Bitki Organı	Floresant Oluşumu	İzolat No:	Mevki	Köy	İzole Edildiği Bitki Organı	Floresant Oluşumu
65	Kestel	Sayfiye	Meyve	+	111	Kestel	Sayfiye	Yaprak	+
66	Kestel	Sayfiye	Çiçek	-	112	Kestel	Baraklı	Yeşil meyve	+
67	Kestel	Sayfiye	Meyve	-	113	Keles	Baraklı	Kırmızı Meyve	-
68	Kestel	Sayfiye	Çiçek	+	114	Keles	Güneybayır	Yaprak	-
69	Kestel	Babasultan	Çiçek	+	115	Keles	Güneybayır	Yaprak	-
70	Kestel	Babasultan	Yaprak	-	116	Keles	Baraklı	Kırmızı Meyve	-
71	Kestel	Sayfiye	Yaprak	+	117	Keles	Baraklı	Kırmızı Meyve	-
72	Kestel	Aksu	Meyve	-	118	Keles	Güneybayır	Yaprak	-
73	Keles	Baraklı	Meyve	-	119	Keles	Güneybayır	Yaprak	-
74	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	+	120	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-
75	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	-	121	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-
76	Keles	Küçük Deliler	Meyve	+	122	Keles	Baraklı	Meyve	-
77	Uludağ	Soğukpınar	Yaprak	+	123	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	-
78	Keles	Küçük Deliler	Yaprak	+	124	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-
79	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	125	Keles	Güneybayır	Yaprak	-
80	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	126	Keles	Pınarcık	Yaprak	-
81	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-	127	Keles	Çaybaşı	Yaprak	+
82	Kestel	Sayfiye	Meyve	-	128A	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-
83	Kestel	Sayfiye	Meyve	-	129	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	-
84	Keles	Güneybayır	Yeşil meyve	+	130	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	-
85	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	+	131	Keles	Baraklı	Kırmızı Meyve	+
86	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	132	Keles	Küçük Deliler	Yaprak	-
87	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	133	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	-
88	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	134	Keles	Güneybayır	Yaprak	+
89	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	135	Keles	Pınarcık	Kırmızı Meyve	+
90	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	136	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	-
91	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	+	137	Keles	Pınarcık	Yaprak	-
92	Keles	Küçük Deliler	Yaprak	-	138	Kestel	Sayfiye	Meyve	+
93	Keles	Baraklı	Yeşil meyve	-	139	Kestel	Babasultan	Meyve	-
94	Kestel	Sayfiye	Yeşil meyve	-	140	Uludağ	Soğukpınar	Yeşil meyve	-
95	Kestel	Sayfiye	Yeşil meyve	+	141	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-
96	Keles	Baraklı	Yeşil meyve	-	142	Uludağ	Kirazlı	Meyve	-
97	Keles	Güneybayır	Kırmızı Meyve	+	143	Uludağ	Soğukpınar	Yeşil meyve	-
98	Kestel	Sayfiye	Kırmızı Meyve	-	144	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-
99	Keles	Pınarcık	Kırmızı Meyve	-	145	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-
100	Keles	Çaybaşı	Kırmızı Meyve	+	146	Uludağ	Soğukpınar	Yeşil meyve	+
101	Keles	Pınarcık	Kırmızı Meyve	+	147	Uludağ	Soğukpınar	Yeşil meyve	+
102	Keles	Güneybayır	Kırmızı Meyve	-	148	Uludağ	Bağlı	Kırmızı Meyve	-
103	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	149	Uludağ	Soğukpınar	Kırmızı Meyve	+
104	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	150	Keles	Baraklı	Ala Meyve	-
105	Keles	Pınarcık	Yaprak	-	151	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-
106	Keles	Güneybayır	Yaprak	-	152	Uludağ	Kirazlı	Meyve	+
107	Keles	Pınarcık	Yeşil meyve	-	153	Uludağ	Bağlı	Kırmızı Meyve	-
108	Kestel	Sayfiye	Yeşil meyve	+	154	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	+
109	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	155	Uludağ	Kirazlı	Meyve	+
110	Kestel	Sayfiye	Yaprak	-	156	Uludağ	Kirazlı	Meyve	+

Çizelge 3.1 (devam) Bakteriyeel izolatlarnn alındığı bölgeler, elde edildikleri bitki organları ve floresant pigment oluşumları

İzolat No:	Mevki	Köy	İzole Edildiği Bitki Organı	Floresant Oluşumu	İzolat No:	Mevki	Köy	İzole Edildiği Bitki Organı	Floresant Oluşumu
157	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	+	189	Uludağ	Soğukpınar	Yaprak	-
158	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-	190	Uludağ	Bağlı	Meyve	-
159	Keles	Baraklı	Yaprak	-	191	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-
160	Keles	Baraklı	Yaprak	-	192	Keles	Çaybaşı	Yeşil meyve	-
161	Uludağ	Soğukpınar	Yaprak	-	193	Uludağ	Bağlı	Yaprak	-
162	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	-	194	Uludağ	Kirazlı	Meyve	-
163	Uludağ	Soğukpınar	Yaprak	-	195	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-
164	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	-	196	Uludağ	Bağlı	Kırmızı Meyve	-
165	Keles	Baraklı	Ala Meyve	-	197	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	-
166	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	-	198	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	-
167	Keles	Pınarcık	Kırmızı Meyve	-	199	Uludağ	Soğukpınar	Kırmızı Meyve	-
168	Uludağ	Bağlı	Yaprak	-	200	Keles	Küçük Deliler	Ala Meyve	-
169	Uludağ	Soğukpınar	Yeşil meyve	-	201	Keles	Küçük Deliler	Ala Meyve	-
170	Uludağ	Bağlı	Meyve	+	202	Uludağ	Soğukpınar	Kırmızı Meyve	-
171	Kestel	Sayfiye	Meyve	-	203	Kestel	Babasultan	Meyve	-
172F	Uludağ	Soğukpınar	Kırmızı Meyve	+	204	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	-
173	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	-	205	Uludağ	Kirazlı	Kırmızı Meyve	-
174	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	-	206	Uludağ	Soğukpınar	Kırmızı Meyve	-
175	Uludağ	Bağlı	Yaprak	-	207	Keles	Küçük Deliler	Çiçek	+
176F	Uludağ	Soğukpınar	Yaprak	+	208	Keles	Baraklı	Kırmızı Meyve	-
177	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-	209	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	-
178	Uludağ	Bağlı	Meyve	-	210	Keles	Baraklı	Meyve	+
179	Uludağ	Kirazlı	Kırmızı Meyve	+	211	Keles	Baraklı	Ala Meyve	-
180	Uludağ	Soğukpınar	Yeşil meyve	-	212	Keles	Küçük Deliler	Kırmızı Meyve	-
181	Uludağ	Kirazlı	Yeşil meyve	+	213	Keles	Küçük Deliler	Meyve	+
182	Uludağ	Bağlı	Yaprak	+	214	Keles	Küçük Deliler	Meyve	+
183	Uludağ	Bağlı	Kırmızı Meyve	-	215	Keles	Küçük Deliler	Meyve	-
184	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	+	216	Uludağ	Kirazlı	Yaprak	+
185	Uludağ	Soğukpınar	Yeşil meyve	-	217	Uludağ	Kirazlı	Kırmızı Meyve	-
186	Keles	Baraklı	Kırmızı Meyve	-	218	Keles	Baraklı	Meyve	+
187	Keles	Pınarcık	Yeşil meyve	-	219	Uludağ	Bağlı	Meyve	-
188	Uludağ	Bağlı	Yaprak	-					



Şekil 3.1 Bursa İli içerisinde antagonist adayı bakteriyel izolatların alındığı bölgeler

3.1.2. Patojenin (*Botrytis cinerea*) Eldesi

Antagonist bakterilerin elde edilmesi sürecindeki sürveyler sırasında hastalık belirtisi (kurşuni küf) gösteren çilek meyvelerinde havai şekilde gelişen *B. cinerea*'nın miseliyal kitlesinden steril öze ile alınan parçalar PDA (Patates Dekstroz Agar – Difco, A.B.D) içeren petrilere geliştirilmiştir. Petrilere gelişen kolonilerden tek spor yöntemine göre saf izolatlar elde edilmiştir. İzolatların petrideki morfolojik yapılarına, spor şekil ve büyüklüklerine bakılarak *B. cinerea* olduklarından emin olunmuşlardır. İzolatlar meyvede 2 mm derinliğinde açılan yaralara verilerek patojenisiteleri belirlenmiştir. En yüksek patojenisiteyi gösteren izolat ön denemeler ve arazi çalışmalarında kullanılmak üzere içinde PDA bulunan yatık tüplere alınmış ve 4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

3.1.3. Ön Denemede Kullanılan Çilek Meyvelerinin Temini

Arazi çalışmalarında kullanılacak bakteriyel antagonistlerin seçimi için yürütülen ön denemelerde kullanılan çilek meyveleri Bursa İli çevresindeki çilek bahçelerinden sağlanmıştır. Bu çalışmalarda kullanılan çilek çeşidi Sweet Charlie'dir ve *B.cinerea*'ya karşı duyarlı bir çeşittir. Meyveler hasattan hemen sonra hızlı bir şekilde laboratuvara getirilmiş ve ön denemelerde kullanılmıştır.

3.1.4. Arazi Denemelerinin Yapıldığı Çilek Bahçesinin Oluşturulması

Arazi denemelerinde kullanılacak çilek bitkileri Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nde Sera bölgesinin yanında üstü açık bir alanda kurulan çilek bahçesinde yetiştirilmiştir. Çilek çeşidi olarak Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen ticari bir çeşit olan California no:3 frigo fideler kullanılmıştır. Çeşit ulusal ve uluslararası pazarın isteği doğrultusunda iri meyve oluşturmakta ve yüksek verim vermektedir. Denemede kullanılan fideler Yaltır A.Ş. tarafından Adana'da ticari olarak üretilmektedir.

Adana'dan getirilen fidelerin dikimi 22-07-2004 tarihinde yapılmıştır. Deneme bahçesinde fideler, sıra üzeri 25 cm, sıra arası 25 cm olacak şekilde 60-70 cm yükseklikteki yastıklara dikilmiştir. Antagonist bakterilerin biyolojik etkinliğinin deneneceği parsellerin her birinin uzunluğu 8 m (uzun parseller), antibiyotik işaretli antagonist bakterilerin popülasyonunun izleneceği parseller 4 m (kısa parseller) uzunluğunda olacak şekilde tesadüf blokları deneme desenine uygun olarak deneme parselleri tesis edilmiştir. Parseller arası bulaşmaların önlenmesi için parsellerin arası 1 m koruma boşluğu bırakılmıştır. Biyolojik etkinliğin deneneceği her bir parsel (uzun parseller) 50 bitki, antibiyotik işaretli antagonist popülasyonunun izleneceği parsellere (kısa parseller) ise 25 bitki dikilmiştir (Şekil 3.2). Biyolojik etkinliğin deneneceği parseller her uygulama için 5 tekerrürlü, antibiyotik işaretli antagonist popülasyonunun izleneceği parseller her uygulama için 3 tekerrürlü olarak dizayn edilmiştir. Her tekerrür 1 adet parselden oluşmaktadır.

Sulama damla sulama yöntemi ile yapılmıştır. Yabancıot mücadelesi çapa ve herbisit (herbisit sadece ilk yıl dar yapraklı yabancıotlar ile mücadele de etiket dozu olan 60 ml/da dozunda, yabancıotların 10 cm boyda olduklarında kullanılmıştır) kullanımı ile yapılmıştır. Herbisit olarak haloxyfob-r-methyl ester (108 g/l aktif madde, Super Gallant-Dow Agrosience) aktif maddeli herbisit kullanılmıştır. Bitkilerin

dikiminden önce toprağa taban gübresi olarak 50 kg/da kompoze gübre (15-15-15) verilmiştir. Her iki yılda da (2005 ve 2006) vejetasyon süresince Kasım ayına kadar 7.5 kg/da dozunda N:P:K (15:15:15) verilmiştir. Kasım ayından sonra Şubat ayına kadar havaların soğuması ve toprağın nemli olması sebebiyle sulama ve gübreleme yapılmamış, Şubat ayından sonra tekrar ayda bir kez aynı dozda gübrelemeye devam edilmiştir. Gübreleme damla sulama sistemi ile yapılmıştır. Şekil 3.2’de arazi denemesinin yürütüldüğü çilek bahçesinin genel şekli ile uygulamaların yerleri, Şekil 3.3’de ise çilek bahçesinden genel bir görünüş verilmiştir.

	1		2		3		4		5	
1	Kontrol		173 ¹ Doğal		122 ² Doğal		118 ³ Doğal		Fungisit	
2	118 ³ Doğal		Fungisit		Kontrol		173 ¹ Doğal		122 ² Doğal	
3	173 ¹ Doğal		122 ² Doğal		118 ³ Doğal		Fungisit		Kontrol	
4	118 ³ Doğal		Fungisit		Kontrol		173 ¹ Doğal		122 ² Doğal	
5	173 ¹ Doğal		122 ² Doğal		118 ³ Doğal		Fungisit		Kontrol	
1	Kontrol		173 ⁴ Antibiyotik işaretli		122 ⁵ Antibiyotik işaretli		118 ⁶ Antibiyotik işaretli			
2	118 ⁶ Antibiyotik işaretli		Kontrol		173 ⁴ Antibiyotik işaretli		122 ⁵ Antibiyotik işaretli			
3	173 ⁴ Antibiyotik işaretli		122 ⁵ Antibiyotik işaretli		118 ⁶ Antibiyotik işaretli		Kontrol			

Biyolojik kontrol çalışmalarının yapıldığı 8 metre uzunluğundaki büyük parseller

Populasyon dinamiğinin izlendiği antibiyotik işaretli bakterilerin bulunduğu 4 metre uzunluğundaki küçük parseller

¹*Bacillus megaterium*

²*Pseudomonas fluorescens*

³*Pseudomonas vesicularis*

⁴*Bacillus megaterium* Rifampicin^{50ppm} ile işaretli

⁵*Pseudomonas fluorescens* Streptomycin^{30ppm}+Rifampicin^{30ppm} ile işaretli

⁶*Pseudomonas vesicularis* Streptomycin^{30ppm} ile işaretli

Şekil 3.2 Çilek bahçesinin genel şekli ve uygulamaların yerleri



Şekil 3.3 Arazi denemelerinin yapıldığı çilek bahçesinden genel bir görünüş

3.2. Yöntem

3.2.1. Antagonist Adayı Bakterilerin İzolasyonu

Denemede kullanılacak antagonist bakterilerin elde edilmesi amacı ile Bursa ilindeki çilek bahçelerine 15 Mayıs-4 Ağustos 2004 tarihleri arasında 7-10 günlük aralıklar ile düzenli sürveyler yapılmış ve değişik bölgelerdeki farklı çilek bahçelerinden tesadüfen seçilen yaprak, meyve ve çiçeklerden oluşan toprak üstü bitki organları toplanmıştır. Toplanan örnekler steril erlenlere konularak buz ile soğutulmuş izole örnek toplama kabı içinde laboratuvara getirilmişlerdir. Araziden getirilen meyvelerden 10 adedi (yaklaşık 100g), çiçeklerden 20 adedi ve ortalama büyüklükteki yapraklardan 18 adedi 200 ml steril fizyolojik tuzlu su (%0,85 NaCl) içerisinde 15 dakika süre ile 150 rpm hızda çalışan dairesel sallayıcıda çalkalanmışlardır. Erlenlerdeki sıvı kısımdan 100 µl alınarak içinde 900 µl steril saf suyun bulunduğu eppendorf tüplere

konularak karıştırılmışlardır. Benzer şekilde 10 kat seri seyreltmelere devam edilerek 5. seyreltmeye kadar inilmiştir. Her bir eppendorf tüpten alınan 100 µl'lik örnekler, içinde fungal gelişmeyi engellemek amacı ile 200mg/lit cycloheximide (Actidion-Fluka-A.B.D) karıştırılmış olan King B (Pseudomonas agar F-MERCK-Almanya) besiyortamlı 9 cm çaplı petri kaplarının besiyeri yüzeyine yayılmıştır. İnkubasyon süresi sonunda (25°C'de 2 gün) uygun seyreltmede gelişen (öze ile izolatin alımında başka koloniler karışmayacak şekilde ancak mümkün oldukça fazla ve farklı koloninin bulunduğu seyreltmeler) bakteriyel koloniler arasından şekil, koloni rengi ve pigmentasyon açısından farklılık gösteren koloniler seçilerek daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere içinde NGA (Nutrient Broth Gliserol Agar- Nutrient Broth 8.0g, Gliserol 20.0g, Agar 20.0g, Distile Su 1000ml - Lelliott ve Stead 1987) besi ortamı bulunan yatık tüplere alınmış ve 4°C'de buzdolabında saklanmışlardır (Vicente ve ark. 2002).

3.2.2. Ön Denemeler ile Antagonist Adayı Bakterilerin Etkisinin Saptanması

B. cinerea'nın 24°C'de PDA'da geliştirilen 2 haftalık kültürlerine steril saf su eklenmiş ve steril öze ile kazınarak fungal kitlenin suya geçmesi sağlanmıştır. Fungal kitle 2 kat steril tülbentten geçirilerek miseliyal kitle ayrılmış ve hemisitometre ile 1×10^5 spor/ml yoğunlukta inokulum hazırlanmıştır (Karabulut ve ark. 2004b).

Çilek meyve, çiçek ve yapraklarından izole edilen antagonist adaylı bakteriler pH 7'ye ayarlı sıvı 25 ml'lik TSB (Tryptic Soy Broth-Bacto™-A.B.D.) ortamında 25°C'de dairesel çalkalayıcıda (125 rpm) 24 saat inkube edilmiştir. Daha sonra 7500rpm hızda 5 dakika 4°C'de santrifüj edilerek üst kısımda oluşan sıvı kısım atılmıştır. Dibe çöken bakteri hücrelerinin bulunduğu kısım steril fizyolojik su çözeltisi (%0,85 NaCl) içerisinde 1×10^8 cfu/ml'lik hücre yoğunluğuna ulaşmak amacı ile 600 nm absorbans değerinde kullanılan UV-VIS spektrofotometre (Heliosgama-Thermo Electron-A.B.D.) ile O.D.:0.1 değerinde ayarlanmıştır.

Antagonist adaylı bakterilerin deneneceği çilek meyveleri yüzey dezenfeksiyonu amacı ile %70'lik alkol içinde 30 saniye süre ile bekletilmiş ve 30 dakika süre ile meyveler kurumaya bırakılmışlardır. Sterilize edilen meyvelerin ekvatoryal yüzeyi üzerinde steril bir iğne ile 2 mm derinliğinde bir yara açılmıştır. Yara yeri kuruduktan

sonra 20 µl, 1×10^8 cfu/ml'lik bakteriyel süspansiyon mikropipet yardımı ile yara yerine verilmiştir. Kontrol meyvelerine aynı miktarda steril saf su uygulanmıştır. Bakteriyel süspansiyonun kurumması için meyveler 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra bakteriyel izolatların uygulandığı aynı yara yerlerine 1×10^5 spor/ml yoğunluğunda 20 µl *B. cinerea* spor süspansiyonu inokule edilmiştir. İnokulasyonu tamamlanan çilek meyveleri 15x10x3cm boyutlarındaki plastik kaplara, her bakteriyel antagonist uygulaması için bir tekerrürde 6 adet meyve olmak üzere 3 tekerrürlü olarak yerleştirilmiş ve yüksek nem sağlayabilmek için her kabın üzeri delikli polietilen film ile kaplanmıştır. Meyveler 20°C'de inkubasyona bırakılmış ve 2-4 gün arasında yaralı bölgedeki lezyon çapları cetvel ile ölçülmüştür. Kontrole göre en az lezyon çapı oluşturan antagonist adayı 10 bakteriyel izolat *in vitro* ve arazi denemeleri için seçilmişlerdir (Lima ve ark. 1997). Şekil 3.4'de ön denemelerde çilek meyvelerine antagonist adayı bakterilerin ve *B. cinerea*'nın spor süspansiyonunun verilışı gösterilmiştir.

Antagonist adayı bakterilerin seçimi amacı ile çilek meyvesi üzerinde farklı zamanlarda toplam 11 adet deneme yürütülmüştür. Her izolat en az iki farklı denemeye alınmış ve etkinliği tespit edilmiştir. Buna göre arazi denemesinde kullanılabilir 10 antagonist adayı bakteri seçilmiştir. İzolatların seçiminde hastalığı engelleme düzeylerinin her ön denemede %50'yi geçmesi ve tekrarlanan ön denemelerde tutarlı sonuçlar vermesi temel kriterleri oluşturmuştur.



Şekil 3.4 Ön denemeler sırasında çilek meyvelerine açılan yaralara antagonist adayı bakterilerin ve *Botrytis cinerea* spor süspansiyonunun verilışı

3.2.3. *In vitro* Denemeler

3.2.3.1. Ön Denemelerde Etkili Bulunan İzolatların Tür Teşhisi ve Arazi Denemesi İçin Seçimi

Ön denemelerde başarılı olup arazi çalışması için seçilecek antagonist adayı 10 bakteriyel izolatın saprofitik veya patojenik kimliklerini belirlemek ve tanılanmaları amacıyla Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda LOPAT, jelatinin sıvılaşması, KOH (potasyum hidroksit) testleri uygulanmıştır. Bu testleri 4 izolat geçmiştir. Eş zamanlı olarak izolatların bir kısmının tür teşhisleri Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda bulunan API tanı kitleri ile yapılmıştır. LOPAT testlerinden geçen 4 izolattan 2'sinin tanısı yapılarak elenmiştir. Tanılanamayan izolatlar ise daha sonra Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan BD BBL CRYSTAL Gram-positive ID system ve BD BBL CRYSTAL Enteric/Nonfermenter ID system'de türleri belirlenmiştir. Ancak tüm bu ön eleme, LOPAT ve tanılama işlemlerini floresant özellik gösteren hiçbir *Pseudomonas* türü geçememiştir. Floresant *Pseudomonas*'ların biyolojik savaşında çok kullanılan bakterilerden biri olması, insan ve hayvan sağlığı açısından güvenilirlikleri, çok hızlı kolonize olma yetenekleri ve başarılı biyolojik savaşım örneklerinin bulunması sebebi ile arazi denemesine alınacak izolatlardan birinin Floresant *Pseudomonas* spp.'den birisi olması gerektiği çalışma başlatıldığında hedeflenmiştir. Ancak, çilekten elde edilen Floresant *Pseudomonas* spp.'nin tamamının elenmesi sebebi ile Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü öğretim üyelerinden Prof.Dr.Hatice ÖZAKTAN'dan, aynı bölümde Dr. Erhan GÖRE tarafından doktora çalışmasında kullanılan 4 floresant pseudomonas izolatı temin edilmiştir. Bu izolatlar da aynen çilekten elde edilen izolatlarda yapıldığı gibi etkinliklerini test etmek için ön denemeden (11. ön deneme) geçirilmiştir. Alınan izolatlar içinde en etkili olan izolat bezelye bitkisinin sapından izole edilerek Bezelye'de *Ascochyta* hastalıklarına karşı kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Seçilen bu izolat ile bir Floresant *Pseudomonas* türü de çalışmaya dahil edilmiştir. Böylece çilekten izole edilerek BBL CRYTAL System'de türleri belirlenen 2 izolat ve Ege Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü'nden alınan bir floresant *pseudomonas* izolatı ile birlikte toplam 3 izolat arazi çalışmaları için seçilmiştir.

LOPAT, jelatinin sıvılaşması, KOH (potasyum hidroksit) testlerinde aşağıdaki yöntem ve ortamlar kullanılmıştır.

3.2.3.1.1. Levan Oluşumu

Test için içeren SNA (Sakkaroz Nutrient Agar-%5 Sakkaroz, %0,8 Nutrient Broth, %1,8 Agar, 1 lt destile su) besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri otoklavda steril edildikten sonra steril petrilere dökülmüştür. Ortam donduktan sonra taze bakteri kültürlerinden (24 saatlik) çizgi ekim yapılmış ve 24°C'de 48 saat süre ile inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrasında gelişen koloniler incelenmiş, levan (kubbe) oluşumu görülürse (+), görülmezse (-) olarak değerlendirilmiştir (Klement ve ark. 1990).

3.2.3.1.2. Oksidaz Testi

Bu test için API tanı kitleri ile birlikte gelen oksidaz reaksiyon tüplerindeki sıvıdan filtre kağıdı üzerine birkaç damla damlatılmış, daha sonra NGA ortamındaki 24 saatlik genç bakteri kültürlerinden bir öze dolusu alınarak, bu filtre kağıdı üzerine sürülmüştür. 60 saniye içinde mavi renge dönüşen izolatlar oksidaz (+), 60 saniyeden sonra maviye dönüşen veya mavi renge dönüşmeyen izolatlar oksidaz (-) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3.1.3. Patates Testi

Test için patatesler iyice yıkanmış, kabukları soyularak %70'lik alkole batırılıp alevden geçirilerek steril edilmişlerdir. Bu steril patateslerden, yine steril bir bıçakla 7-8 mm eninde dilimler kesilmiştir. Dilimlerin ortası çok hafif şekilde kesilerek çukurlaştırılmıştır. Bu dilimler içinde steril kurutma kağıdı bulunan steril 9 cm çapındaki petrilerin içine konulmuştur. Petri içine kurutma kağıtlarını ıslatacak miktarda steril saf su dökülmüştür. Patates dilimi üzerindeki hafif çukur bölgeye 24 saatlik genç bakteri kültürlerinden bir öze bulaştırılmıştır. Steril petri kabının kapağı örtülerek patates dilimleri 24°C'de 72 saat süre ile inkubasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda dilimler üzerindeki inokulasyon noktasında çürümenin görülmesi (+), görülmemesi (-) reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Dickey ve Kelman 1988).

3.2.3.1.4. Arginin Dihydrolase Testi

Testteki besi ortamının hazırlanmasında %0,1 peptone, %0,5 NaCl, %0,03 K₂HPO₄, %0,1 arginin, %0,001 phenol red ve %0,3 agar kullanılmıştır. Ortamın pH'sı 7,2'ye ayarlanmış ve her tüpe 4 ml konularak steril edilmiştir. 24 saatlik genç bakteri kültürleri öze ile tüplere bulaştırılmış, daha sonra tüplerin üzerine 2 ml parafin konulmuştur. Tüpler inkubatörde 7-14 gün süre ile 24°C'de muhafaza edilmişlerdir. Sonuç pempe-kırmızı ise (+), ten rengi ise (-) olarak değerlendirilmiştir (Thornley 1960).

3.2.3.1.5. Tütün Testi

Tütün (*Nicotiana tabacum* cv Samsun N) bitkisi yaprağının alt yüzeyinin damar aralarına, bakteriyel izolatların 24 saatlik genç kültürleri 1x10⁸ hücre/ml yoğunluğunda bir enjektör yardımı ile infiltre edilmiştir. 24-48 saat sonra inokule edilen alanlarda oluşan nekrotik görünüm (+) olarak kabul edilmiştir (Klement ve Goodman 1967).

3.2.3.1.6. Jelatinin Sıvılaşması

%0.5 peptone, %0,3 yeast extract ve %12 nutrient-jelatin'den oluşan ortam pH=7'ye ayarlanarak tüplere konulmuş ve steril edilmiştir. Daha sonra öze ile 24 saatlik genç bakteri kültürleri tüplere ekilmiş ve 24°C'de 7 gün inkube edilmişlerdir. Daha sonra tüpler +4°C'deki buzdolabında 30 dakika tutulmuşlardır. Tüpteki jelatinin akıcı halde olması (+) reaksiyon, katı halde olması ise (-) reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Lelliott ve Stead 1987).

3.2.3.1.7. Potasyum Hidroksit (KOH) Testi

Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra bakteriyel izolatların 48 saatlik kültüründen öze ile alınan bakteri kültürü, solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında viskoz, yapışkanimsi bir sünmenin oluşması gram (-) olarak değerlendirilmiştir (Sands 1990).

3.2.3.2. Arazi Denemesi İçin Seçilen Bakteriyel Antagonistlerin *In vitro*'da *B. cinerea*'nın Miseliyal Gelişimine Etkisi, Antibiosis ve Siderofor Etkinin Belirlenmesi

Bakteriyel antagonistlerin *B. cinerea*'nın hem miseliyal gelişimine, hem de antibiosis etkilerinin belirlenmesi amacı ile her biri 6mm çapındaki dört adet steril filtre kağıtları, içinde King-B ortamı bulunan 9 cm çapındaki petrilerin kenarlarına doğru, birbirlerine karşılıklı gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Bakteriyel izolatlardan hazırlanan farklı konstrasyonlardaki (1×10^9 , 1×10^8 , 1×10^7 ve 1×10^6 cfu/ml) süspansiyonlardan 20 µl bu filtre kağıtlarına emdirilmiş ve 25°C'de 1 gün inkube edilmişlerdir. Kontrol uygulamasında steril saf su kullanılmıştır. Daha sonra petrinin merkezine *B. cinerea*'nın 14 günlük kültürünün uç kısımlarından alınan 6 mm çapında miseliyal disk yerleştirilmiştir. Petriler 25°C'de 7 gün inkubasyona bırakılmış ve bakteriyel izolat ile gelişen fungal koloninin uç kısmı arasındaki mesafe cetvel ile ölçülerek oluşan inhibisyon bölgesinin büyüklüğü tespit edilmiştir. Deneme her izolat için 3 petri kabı 1 tekerrür kabul edilerek 4 tekerrürlü olarak kurulmuş ve 2 kez tekrar edilmiştir (Someya ve ark. 2000, Jetiyanon ve Kloepper 2002).

Antagonizmin siderofor kökenli olup olmadığının belirlenmesi amacı ile litrede 80 µMFe⁺³ içeren King B besiyerinin bulunduğu petri kabına bakteriyel izolatlar iğne uçlu öze ile ekilmişlerdir. Kırk sekiz saat 25°C'de gelişen bakteri kolonilerinin üzerine *B. cinerea*'nın 1ml, 1×10^5 spor/ml'lik süspansiyonu 9cm çaplı petri kabına 30 cm uzaklıktan püskürtülmüştür. Antagonizm siderofor kökenli olduğunda, Fe⁺³ iyonlarının bulunduğu ortamda bu etkinin ortadan kalkacağı gerçeğinden hareketle, 7 günlük inkubasyon sonunda patojen kolonilerinin oluştuğunun görülmesi durumunda antagonistik engellemenin siderofor etkiye dayandığı, ancak patojen kolonizasyonu görülmez ise antagonistik etkinin siderofor etkiden kaynaklanmadığı sonucuna varılmıştır (Bora ve Özaktan 1998). Her bir petri bir tekerrür olarak kabul edilmiş ve deneme 5 tekerrürlü olarak kurulmuş ve 2 kez tekrar edilmiştir.

3.2.3.3. Arazi Denemesi İçin Seçilen Bakteriyel Antagonistlerin Antibiyotik İle İşaretlenmesi

Arazi denemesi için seçilen bakteriyel antagonistler bir antibiyotik (streptomycin veya rifampicin)'in 3, 10, 30 ppm ve üzeri dozlarının bulunduğu petrilere sırası ile tekrarlamalı olarak geliştirilmiş ve bakteri kolonilerinin gelişebildikleri en yüksek antibiyotik dozunun bulunduğu ortamdaki koloniler antibiyotik ile işaretli kabul edilmişlerdir. İşaretli bakteriler gelişebildikleri en yüksek antibiyotik dozunu içeren NGA besi ortamı tüplerde 4°C'de sonraki denemelerde kullanılmak üzere muhafaza edilmişlerdir. Ayrıca bakterilerin antibiyotik ile işaretlenmeden doğal olarak antibiyotiklere direnç gösterdikleri (spontan) dozların tesbiti için 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 50 ve 100 ppm dozlarının bulunduğu petrilere ekim yapılmıştır. Bakterilerin gelişebildikleri en yüksek doz belirlenmiştir (Özaktan ve ark. 2002).

Çalışmanın bundan sonraki bölümlerinde herhangi bir antibiyotikle işaretleme yapılmamış bakterilere, 'doğal' veya 'orjinal bakteri' türü denilmekte, antibiyotik işaretli bakteriler ise 'antibiyotik ile işaretli' olarak isimlendirilmektedir.

3.2.3.4. Arazi Denemelerine Alınan Bakteriyel Antagonistlerden DNA İzolasyonu ve RAPD-PCR Tekniğinin Uygulanması

Arazi denemeleri için seçilen üç bakteriyel antagonistin genetik karakterizasyonu RAPD-PCR tekniği uygulanarak belirlenmiştir. Bazı RAPD primerleri ile bakterilere özgü spesifik bantların belirlenmesi amacı ile öncelikle bakteriyel izolatların genomik DNA'ları, ticari bir genomik DNA izolasyon kiti (Genomic DNA Isolation Kit–Biobasic-Kanada) kullanılarak üreticinin belirttiği aşağıdaki işlemler doğrultusunda bir takım küçük modifikasyonlar (173 nolu gram (+) bakteri için) yapılarak elde edilmiştir. Genomik DNA izolasyon kitinin içeriği Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Genomik DNA İzolasyon Kiti'nin İçeriği.

Kimyasalın/Malzemenin İsmi	Miktarı	İşlevi
Digestion solution	40 ml	Hücre duvarının parçalanması
Wash solution	24 ml	Yıkama solüsyonu (kullanımdan önce %100'lük ethanolden 96 ml ilave edilmelidir.)
Elution buffer	10 ml	Kolondan DNA'nın süzülerek alınması
Proteinaz K	4 mg	Proteinlerin parçalanması
EZ-10 Column	100 adet	Kolon, DNA'yı tutan özel bir membranın bulunduğu tüpler
Collection tube (2ml)	100 adet	EZ-10 kolonun içine konulduğu toplama tüpleri

Bakterilerden Genomik DNA eldesinde uygulanan protokol üretici firma tarafından tavsiye edilmiştir.

Bakteri hücre süspansiyonu spektrofotometre ile 1×10^8 cfu/ml konsantrasyonuna ayarlanarak, steril eppendorf tüpler içinde 1 ml bakteriyel süspansiyon 8.000 rpm hızında 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı kısım atılmış ve 200µl soğuk TE (tris-edta) eklenmiştir. Üretici firmanın verilerine göre bakteri süspansiyonu 10^6 - 10^7 cfu/ml yoğunluğa ayarlandığında jelde DNA bantları görülmemiş, bu sebeple 1×10^8 cfu/ml'lik bakteri süspansiyonu kullanılmıştır. Ayrıca gram (+) bakterilerden (173 nolu bakteri-*Bacillus megaterium*) bu protokol uygulandığında hücre duvarı parçalanmadığından DNA elde edilememiştir. Bu sebeple 173 nolu gram (+) bakteriden DNA izolasyonunda 200µl TE çözeltisinin içine Lizozim (5 mg/ml) eklenerek, 37°C'de 30 dakika inkube edilmiş ve sonraki adımlar gram (-) bakterilerde olduğu gibi aşağıda anlatılan aşamalar takip edilerek gerçekleştirilmiştir.

- 1 200µl'lik süspansiyonun üzerine 400µl parçalayıcı solüsyon (digestion solution) eklenmiş ve iyi karıştırılmıştır. Bu karışıma Proteinaz K (2mg/150µl) eklenerek 55°C'de 5 dakika inkube edilmiştir.
- 2- %100 Ethanolden 260µl eklenerek iyice karıştırılmıştır. Bu karışım 2ml'lik toplama tüplerine (collection tube) konulmuş ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.

- 3- Toplama tüpünün alt kısmına geçen sıvı kısım atılmış ve 500µl yıkama solüsyonu (wash solution) eklenmiş ve 8000 rpm'de 1 dakika santrifüj edilmiştir.
- 4- 3. adım aynen tekrar edilmiştir.
- 5- Toplama tüpünde kalan yıkama solüsyonunun tamamen uzaklaştırılması için 1000 rpm'de 1 dakika ilave santrifüj yapılmıştır.
- 6- 1,5 ml'lik temiz bir eppendorf tüpün içine EZ-10 kolon eklenmiş ve kolonun ortasında bulunan membrana 30-50 µl Elution buffer eklenerek 37°C inkube edilmiştir. İnkubasyonun yapılması elde edilen DNA miktarını arttırmaktadır.
- 7- Eppendorf tüpler inkubasyondan sonra 10.000 rpm hızda 1 dakika santrifüj edilmiş ve membranda tutunan DNA'lar eppendorf tüpün dibine elution buffer ile beraber yıkanarak süzülüp alınmıştır.

İzole edilen DNA'lar %1 agaroze jelde, 10X TBE tampon çözeltinin (1 Litre 10X TBE tampon çözeltisi: Tris 108g, Borikasit 55g, EDTA (0.5 M, pH:8.0) 40 ml) seyreltilmesi ile elde edilen 0.5X TBE tampon içinde 100Volt, 1 saat 30 dakika boyunca elektroforez işlemine tabi tutulmuş ve DNA bantlarının görülüp görülmediği UV ışık altında jel görüntüleme sisteminde kontrol edilmiştir. Turuncu renkli bant görülen izolatların DNA'larının izole edildiği anlaşılmış ve bazılarının fotoğrafları jel görüntüleme sisteminde çekilmiştir. Elde edilen DNA büyüklükleri 50kb'dan büyük olmuştur. Elde edilen DNA'ların saflığı (fenol, protein ve RNA kontaminasyonu) UV/Vis spektrofotometre ile 260/280 nm'deki O.D. değerlerinin oranı ile belirlenmiş ve 1,8 değeri yakalanmaya çalışılmıştır. İzole edilen DNA miktarı ise aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Temizkan ve Arda, 1999).

$$\text{DNA miktarı } (\mu\text{g/ml}) = 260 \text{ nm'deki O.D. değeri} \times \text{Sulandırma oranı} \times \text{Katsayı (50)}$$

İzole edilen genomic DNA'ların her biri rastgele sentez ettirilmiş 10 adet RAPD-PCR primer seti (S30, S31, S32, S33, S34, S35, S36, S37, S38, S39- Biobasic-Kanada) ile thermalcycler cihazında RAPD-PCR protokolüne tabi tutulmuşlardır. Çizelge 3.3'de RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlerin dizileri, Tm dereceleri ve % GC oranları, Çizelge 3.4'de RAPD-PCR protokolünde kullanılan reaksiyon çözeltisi ve Çizelge 3.5'de RAPD-PCR döngüsü gösterilmiştir.

Çizelge 3.3 RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılan primerlerin dizileri, Tm dereceleri ve % GC oranları.

No	Primer Adı	Primer sekansları (5→ 3)	Tm (1M Na+)	%GC
1 ¹	S30	GTG ATC GCA G	38.6 °C	60
2 ²	S31	CAA TCG CCG T	38.6 °C	60
3 ¹	S32	TCG GCG ATA G	38.6 °C	60
4 ²	S33	CAG CAC CCA C	42.7 °C	70
5	S34	TCT GTG CTG G	38.6 °C	60
6	S35	TTC CGA ACC C	38.6 °C	60
7 ³	S36	AGC CAG CGA A	38.6 °C	60
8 ³	S37	GAC CGC TTG T	38.6 °C	60
9	S38	AGG TGA CCG T	38.6 °C	60
10	S39	CAA ACG TCG G	38.6 °C	60

¹S30 ve S32 nolu primerler 173 nolu bakteri (*B. megaterium*) ile yapılan RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılmıştır.

²S31 ve S33 nolu primerler 122 nolu bakteri (*P. fluorescens*) ile yapılan RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılmıştır.

³S36 ve S37 nolu primerler 118 nolu bakteri (*P. vesicularis*) ile yapılan RAPD-PCR reaksiyonlarında kullanılmıştır.

Çizelge 3.4 RAPD-PCR İşleminde Kullanılan 25µl Reaksiyon Tüpü İçin Gerekli Reaksiyon Çözeltisi

Kimyasal	Miktarı
Su	11µl
10xX reaksiyon buffer	2,5µl
MgSO ₄	2,5µl (2mM)
dNTP	2,5µl (2nM)
Primer	1,25µl (10µM)
DNA	1,25µl (40ng/µl)
Tag Polimeraz	4µl (2U)

Çizelge 3.5 RAPD-PCR döngüsü

İşlem	Sıcaklık	Süre
Ön denatürasyon	94°C	2 dakika
Denatürasyon	94°C	1 dakika
Bağlanma	35°C	1 dakika
Uzama	72°C	2 dakika
Son uzama	72°C	10 dakika

} 35 Döngü

Elde edilen PCR ürünleri elektroforez işlemine tabi tutulmuşlardır. Elektroforez işlemi %1,5 Agarose Jel'de, 100V da, 1 saat 15 dakika sürdürülmüş ve 0,5X TBE tampon çözeltisi olarak kullanılmıştır. Elektroforez işlemi sonucu elde edilen DNA bantları daha sonra değerlendirilmek üzere jel görüntüleme sistemi ile fotoğraflandırılmıştır. Elde edilen görüntülerden amplifikasyonu yapılmış DNA parçalarının büyüklüklerinin belirlenmesinde ise Infinity-Capt software (version 12.8) programı kullanılmıştır.

DNA çoğaltılmasında TC-Y thermalcycler (Creacon, Hollanda) cihazı, elektroforez işleminde Thermo Scientific Midi-Yatay Primo Jel Electroforez Sistemi (Thermo Electron-Hollanda), elektroforez ürünlerinin fotoğraf çekiminde Vilber Lourmat Jel Görüntüleme Sistemi, (Infinity 08, France), kullanılmıştır.

Orjinal bakterilerin uygulandığı parsellerde RAPD-PCR tekniği ile arazide ve hasat sonunda bakterileri popülasyonlarının izlenmesine ait yöntem bölüm 3.2.5.2.'de verilmiştir.

3.2.4. Arazi Denemeleri

Ön denemelerde etkili bulunan ve *in vitro* çalışmalardan olumlu sonuç alınarak tür teşhisleri yapılan bakteriyel antagonistlerden 3 izolat daha önce açıklanan yöntem kullanılarak arazi denemeleri için seçilmiştir.

3.2.4.1. Arazide Bakteriyel Antagonistlerin Etkinliklerinin Belirlenmesi

Çileklerin çiçeklenme döneminden başlayarak 2005 ve 2006 yıllarında 1'er hafta aralıklarla üretim dönemi boyunca Şekil 3.2'de gösterilen parsellere bakteriyel antagonistler 1×10^8 cfu/ml yoğunlukta püskürtülmüştür. Gerekli bakteriyel antagonistlerin üretimi 3.2.2 bölümünde açıklandığı şekilde yapılmış, yalnız arazi uygulaması için ön denemelerdeki bakteriyel antagonist miktarına göre çok daha fazla bakteriyel inokulum gerektiğinden her bir izolat için 2,5 lt TSA, antibiyotik işaretli her bir izolat için ise 1,5 lt TSA içeren besiyerlerinde izolatlar çoğaltılmışlardır. Arazide kontrol parsellerine su püskürtülmüştür. Referans fungusit olarak kullanılan ve çilekte ruhsatlı olan fenhexamid 500g/l (Teldor-Bayer Cropscience-Türkiye) benzer şekilde ilgili parsellere 100ml/100lt su etiket dozunda uygulanmıştır. Tüm uygulamalara %0.01

oranında Tween 20 karıştırılmıştır. Uygulamalarda 2 litre sıvı alabilen el pulverizatörlerinden faydalanılmıştır Her iki yılda da uygulamaların spreyleneceği parsellerde ilk çiçekler görüldüğünde başlanmıştır. Biyolojik etkinliğin belirlendiği büyük parsellere (8 metre-50 bitki) 1 litre, antibiyotik işaretli bakteriler ile antagonist popülasyonunun izlendiği küçük parsellere (4 metre-25 bitki) ise 0,5 litre olmak üzere antagonist süspansiyonu, fungusit ve su (kontrol) pulverize edilmiştir. Pulverizasyonda kullanılacak sıvı miktarının belirlenmesinde uygulama yapılan parseldeki tüm bitkilerin yaprak uçlarında su damlalarının oluşması dikkate alınmıştır. Uygulamaların hasat öncesi dönemde *B. cinerea* ve diğer patojenlerden kaynaklanan çürümeleri engellemedeki etkisinin belirlenmesinde, her parselde ilk hasadın yapıldığı haftadan başlayarak yetiştirme döneminin sonuna kadar birer haftalık aralıklarla çürük meyve sayısı belirlenmiştir. 2005 ve 2006 yıllarında arazideki uygulamalara ait deneme deseni Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Çürük meyve sayısı kontrol grubu ile aşağıdaki formüle göre oranlanarak hasat öncesi yüzde etki belirlenmiştir (Guetsky ve ark. 2002).

$$\% \text{ etki} = 100 - \left(\frac{\text{Uygulama yapılan parseldeki çürük meyve sayısı}}{\text{Kontrol parselindeki çürük meyve sayısı}} \right) \times 100$$

Şekil 3.5’de arazi denemelerinde kullanılmak üzere geliştirilen bakteriyel izolatların 7000 rpm hızda, 4°C’de, 15 dakika santrifüj edilmesi sonucu oluşan bakteriyel hücre çökeltileri gösterilmiştir.



Şekil 3.5 Arazi denemelerinde kullanılmak üzere geliştirilen bakteriyel izolatların 7000 rpm hızda, 4°C’de, 15 dakika santrifüj edilmesi sonucu oluşan bakteriyel hücre çökeltileri

Çizelge 3.6 arazide 2005 ve 2006 yıllarında yapılan uygulama ve hasat tarihleri görülmektedir.

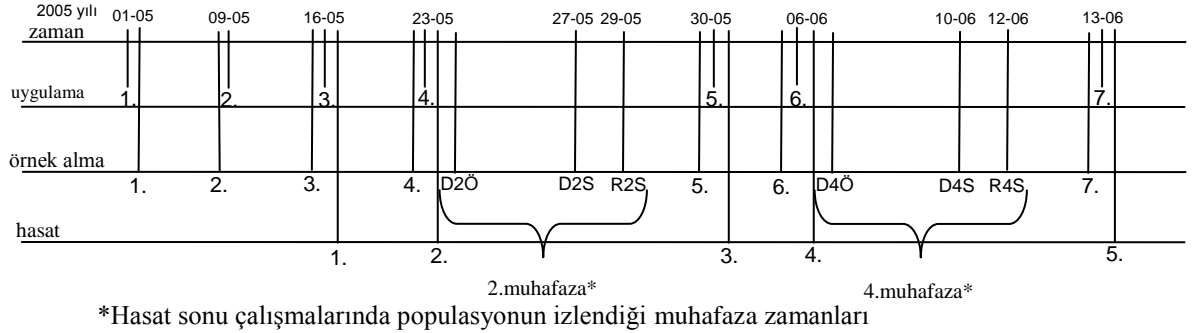
Çizelge 3.6 2005 ve 2006 Yıllarında Arazide Yapılan Uygulama ve Hasat Tarihleri

Uygulama Tarihi			Hasat Tarihi		
	2005 yılı	2006 yılı		2005 yılı	2006 yılı
1.uygulama	01-05-2005	22-04-2006	1.hasat	16-05-2005	19-05-2006
2.uygulama	09-05-2005	29-04-2006	2.hasat	23-05-2005	26-05-2006
3.uygulama	16-05-2005	05-05-2006	3.hasat	30-05-2005	02-06-2006
4.uygulama	23-05-2005	12-05-2006	4.hasat	06-06-2005	10-06-2006
5.uygulama	30-05-2005	19-05-2006	5.hasat	13-06-2005	-
6.uygulama	06-06-2005	26-05-2006	-	-	-
7.uygulama	13-06-2005	02-06-2006	-	-	-
8.uygulama	-	10-06-2006	-	-	-

Çizelge 3.6'da 2005 yılında arazide 7 kez uygulama ve 5 kez hasat, 2006 yılında ise 8 kez uygulama ve 4 kez hasat yapıldığı görülmektedir.

2005 yılında deneme parsellerine uygulamaların spreyleneşine 01-05-2005 tarihinde başlanmıştır. Tesis edilen çilek bahçesinde ilk kez çilek yetiştirilmesi nedeni ile patojen inokulumunun varlığından emin olabilmek için 02-05-2005 ve 15-5-05 tarihlerinde tüm bahçeye her seferinde 10lt su içinde olmak üzere birincisinde 1×10^4 spor/ml, ikincisinde 1×10^3 spor/ml yoğunlukta *B. cinerea* konidileri pulverize edilmiştir.

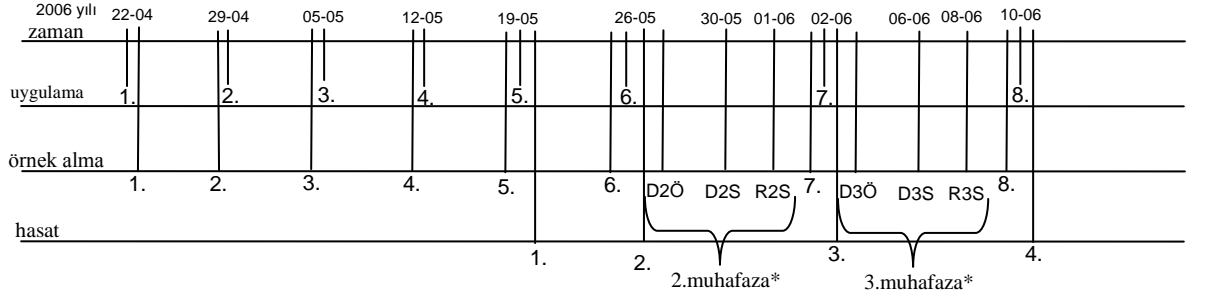
Şekil 3.6'da 2005 yılında arazideki uygulama, örnek alma, hasat ve muhafaza başlangıç tarihleri ile muhafaza ve raf ömründeki örnek alma zamanları verilmiştir.



Şekil 3.6 2005 yılında arazide uygulama, arazi ve soğuk hava deposunda muhafaza sırasında, antagonist bakterilerin popülasyon dinamiklerinin takibi için örnek alınma zamanları ile arazide meyvelerin hasat tarihleri. D2Ö: 2. muhafazadan hemen önce alınan meyve örneği, D2S: Soğuk hava deposunda 2. muhafaza sonunda (4 gün-1°C) alınan meyve örneği, R2S: Soğuk hava deposunda 2. muhafaza ardından 2 günlük raf ömrü sonunda alınan meyve örneği, D4Ö: 4. muhafazadan hemen önce alınan meyve örneği, D4S: Soğuk hava deposunda 4. muhafaza sonunda (4 gün-1°C) alınan meyve örneği, R4S: Soğuk hava deposunda 4. muhafaza ardından 2 günlük raf ömrü sonunda alınan meyve örneği.

Şekil 3.6'da görüldüğü gibi 2005 yılında arazide 7 kez uygulama yapılmış, 7 kez arazide antagonist bakteri popülasyonunun izlenmesi için örnek alınmış, 5 kez hasat yapılmıştır. Her hasat sonrasında meyveler soğuk hava deposunda muhafaza edilmişlerdir. Ayrıca 2. ve 4. hasattan sonra soğuk hava deposunda meyvelerin muhafazasının hemen öncesinde, muhafaza sonunda ve raf ömrü sonunda olmak üzere antagonist bakterilerin popülasyon düzeylerinin izlenmesi amacı ile meyve örnekleri alınmıştır.

Şekil 3.7'de 2006 yılında arazideki uygulama, örnek alma, hasat ve muhafaza başlangıç tarihleri ile muhafaza ve raf ömründeki örnek alma zamanlarını verilmiştir.



*Hasat sonu çalışmalarında populasyonun izlendiği muhafaza zamanları

Şekil 3.7 2006 yılında arazide uygulama, arazi ve soğuk hava deposunda muhafaza sırasında, antagonist bakterilerin populasyon dinamiklerinin takibi için örnek alınma zamanları ile arazide meyvelerin hasat tarihleri. D2Ö: 2. muhafazadan hemen önce alınan meyve örneği, D2S: Soğuk hava deposunda 2. muhafaza sonunda (4 gün-1°C) alınan meyve örneği, R2S: Soğuk hava deposunda 2. muhafaza ardından 2 günlük raf ömrü sonunda alınan meyve örneği, D3Ö: 3. muhafazadan hemen önce alınan meyve örneği, D3S: Soğuk hava deposunda 3. muhafaza sonunda (4 gün-1°C) alınan meyve örneği, R3S: Soğuk hava deposunda 3.muhafaza ardından 2 günlük raf ömrü sonunda alınan meyve örneği .

Şekil 3.7’de görüldüğü gibi 2006 yılında arazide 8 kez uygulama yapılmış, 8 kez arazide antagonist bakteri populasyonunun izlenmesi için örnek alınmış ve 4 kez hasat yapılmıştır. Her hasat sonrasında meyveler soğuk hava deposunda muhafaza edilmişlerdir. Ayrıca 2. ve 3. hasattan sonra soğuk hava deposunda meyvelerin muhafazasının hemen öncesinde, muhafaza sonunda ve raf ömrü sonunda olmak üzere antagonist bakterilerin populasyon düzeylerinin izlenmesi amacı ile meyve örnekleri alınmıştır.

Şekil 3.8’de arazide çilek bitkileri üzerine uygulamaların spreyleneşine ait genel görünüş görülmektedir.



Şekil 3.8 Arazide çilek bitkileri üzerine uygulamaların spreyleneşine ait genel görünüş

3.2.4.2. Arazide Uygulanan Bakteriyel Antagonistlerin Hasat Sonu Hastalıklarına Karşı Etkinliklerinin Belirlenmesi

2005 ve 2006 yıllarında arazi denemelerinin yürütüldüğü bahçede ilk hasat haftasından başlayarak uygulamalardan yaklaşık 1 saat sonra parsellerden hasat edilen meyveler zedelenmeden 25x15x5 cm boyutlarındaki plastik kaplara 500g gelecek şekilde konulmuştur. İçinde meyve bulunan kaplar 1°C sıcaklıktaki depoda 4 gün muhafaza edilmiş ve ardından 2 gün 20°C'de raf ömrüne bırakılmışlardır. Meyvelerdeki çürüme yüzdesi raf ömrü sonunda belirlenmiştir (Wszelaki ve Mitcham 2003). 2005 yılında 5 kez, 2006 yılında ise 4 kez hasat yapılmıştır (Çizelge 3.6).

Her hasat döneminde iklim verilerine ve bitki fenolojisine bağı olarak farklı miktarda meyve hasat edilmiştir. 2005 yılında doğal bakterilerin uygulandığı parsellerden 776 g ile 22.651 g arasında, 2006 yılında ise 2.552 g ile 47.830 g arasında çilek hasat edilmiştir (Çizelge 4.7). İlgili hasat döneminde her uygulamadan hasat edilen meyve miktarı üçe bölünmüş ve her bir plastik kaba 500'er gram çilek meyvesi

konularak deneme üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her denemedeki bir tekerrür farklı sayılardaki 500'er gramlık plastik kaplardan oluşmuştur.

3.2.5 Bakteriyel Antagonistlerin Arazide ve Hasat Sonunda Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi

Bakteriyel antagonistlerin arazide populasyon dinamiklerinin izlenmesinde iki yöntem kullanılmıştır;

- a) Antibiyotik işaretli bakteriyel antagonistlerin kullanılması,
- b) RAPD-PCR tekniğinden faydalanılması.

3.2.5.1. Antibiyotik İşaretli Bakteriyel Antagonistlerin Arazide ve Hasat Sonunda Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi

Bakteriyel populasyondaki değişim 2005 ve 2006 yıllarında antibiyotik işaretli antagonist bakterilerin populasyonlarının izlenmesi için tesis edilen parsellerdeki (küçük parseller-4 metre-25 bitki) çiçeklerde ve çilek meyvelerinde incelenmiştir. İlk antibiyotik işaretli bakteri uygulamasının hemen ardından, çiçekler kuruduktan sonra her parselden ayrı ayrı olmak üzere 10'ar çiçek steril erlenlerin içine toplanarak soğuk zincir içinde laboratuvara getirilmiştir. Çiçeklerin üzerine 200 ml steril fizyolojik su (%0,85 NaCl) eklenerek 200 rpm hızında 30 dk. süre ile dairesel sallayıcı ile çalkalanmış ve seri seyreltmeler yapılarak (10^{-5} 'e kadar) her seyreltmeden 100µl örnek alınarak içinde 200 mg/l cycloheximide (maya ve fungal gelişimi inhibe etmek için) ve bakteriyel antagonistin etiketlendiği dozda antibiyotik bulunan King-B besiyerli petrilere yayılmışlardır. İnkubasyon dönemi sonunda (2-4 gün 25°C) gelişen kolonilerin sayısına göre yapılan seyreltme dikkate alınarak çiçek başına düşen koloni oluşturan bakteri sayısı (cfu/çiçek) hesaplanmıştır. Daha sonraki örneklerin alınması uygulamalardan hemen önce yapılmıştır. Böylece 1 hafta önce uygulanan antagonist bakterinin 1 hafta sonraki çiçek veya meyvedeki kolonizasyonu saptanmıştır. 2005 yılında 2. uygulamadan, 2006 yılında 3. uygulamadan sonra çiçeklerin yanı sıra yeni oluşmuş fındık büyüklüğündeki veya daha büyük meyve örnekleri de toplanmaya başlanmıştır. Sonraki uygulamalarda ise kırmızı renkteki meyveler populasyonun izlenmesi amacı ile toplanmışlardır. Çiçekte kullanılan yöntemin aynısı kullanılarak (her parselden 10 meyve, 200 ml steril fizyolojik su) meyve başına düşen koloni

oluşturan bakteri sayısı (cfu/meyve) hesaplanmıştır. Meyve örnekleri 2. uygulamadan sonra toplanmaya başladığı için popülasyonun başlangıç değerinin belirlenebilmesi için 2. uygulamadan hemen sonra meyveler kuruyunca meyve örnekleri toplanarak antibiyotik ile işaretli antagonist mikroorganizma sayısı belirlenmiştir.

2005 yılında 2. ve 4. hasattan sonra, 2006 yılın da 2. ve 3. hasattan sonra yapılan muhafazalarda, meyvelerdeki antibiyotik işaretli antagonist bakteri popülasyonu izlenmiştir (Şekil 3.5 ve Şekil 3.6). Arazide uygulamaların yapıldığı meyveler 1°C'deki soğuk hava deposunda muhafaza edilmiştir. Meyvelerden örneklemeler soğuk hava deposuna girişten hemen önce (uygulamadan sonra), soğuk hava deposundan çıkışta ve raf ömrü sonunda olmak üzere 3 farklı zamanda yapılmıştır. Popülasyon düzeyinin belirlenmesi amacı ile örnek alınırken her parselden gelen meyvelerden tesadüfî olarak seçim yapılmış ve yukarıda açıklanan yöntemle göre bakteriyel antagonistlerin popülasyon düzeyleri belirlenmiştir.

3.2.5.2. RAPD-PCR Tekniği İle Bakteriyel Antagonistlerin Arazide ve Hasat Sonunda Popülasyon Dinamiklerinin İzlenmesi

Arazide biyolojik etkinliğin test edildiği parsellerden (50 bitki bulunan 8 metrelik büyük parseller) alınan meyve ve çiçek örnekleri aynı antibiyotik işaretli bakterilerin popülasyonunun izlendiği şekilde örneklenmiş ve meyvelerin üzerindeki bakterilerin izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla, inkubasyon yapılan petri kablardaki besiyerine sadece cycloheximide (maya ve fungal gelişimi inhibe etmek için) eklenmiş, ancak antibiyotik kullanılmamıştır. İnkubasyon sonucunda petri kaplarında bakteriyel koloniler gelişmiştir. Petrilerden (30-50 kadar koloninin geliştiği seyreltmelerdeki petriler), morfolojik olarak ilgili uygulamaya ait orjinal bakteriye pigmentasyon, renk, koloni şekli vb. morfolojik özelliklerine bakılarak benzeyen koloniler arasından %10'u rastgele seçilmiştir. Bu bakteriyel koloniler eğik NGA ortamına alınarak 25°C'deki inkubatorlerde 24-48 saat süre ile tutularak kolonizasyonları sağlanmış ve DNA izolasyonunda kullanılacakları zamana kadar +4 °C'de muhafaza edilmişlerdir.

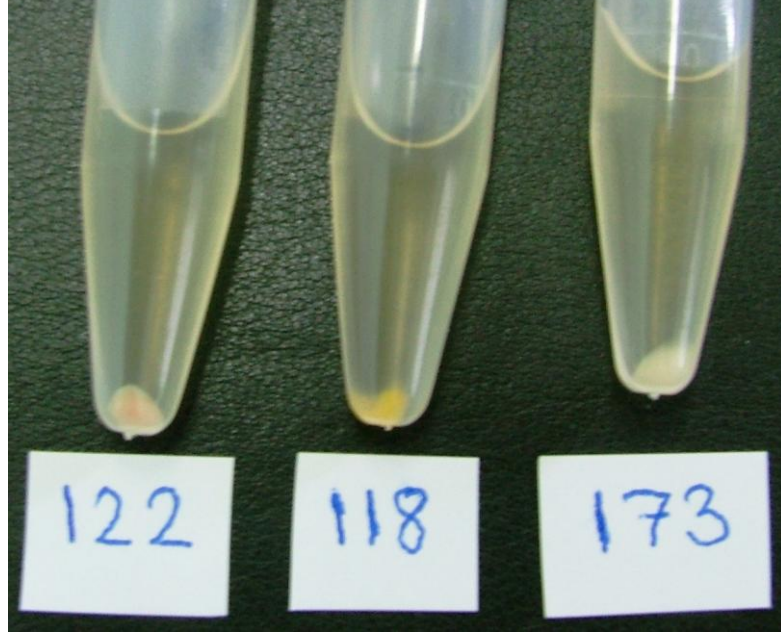
Eş zamanlı olarak orjinal bakteriyel izolatlarımız olan 173 nolu *B.megaterium*, 118 nolu *P. vesicularis* ve 122 nolu *P. fluorescens* bakterilerinin DNA'ları izole edilmiş ve S30-S39 dizisindeki tüm primerler ile RAPD-PCR reaksiyonuna tabi tutulmuşlardır.

Böylece arazide uyguladığımız doğal izolatlarımızın hangi primerler ile reaksiyon verip vermedikleri tespit edilmiştir. Primer seçiminde parlak ve belirgin bant veren iki primer seçilmiştir. Bu primerler, arazideki bakteri uygulamaları sonrasında ve hasat sonu çalışmalarında ilgili parsellerden seçilen bakteriler ile RAPD-PCR protokolünde kullanılmıştır.

DNA izolasyonunda kullanılacak bakteri kültürleri içinde TSA (Tryptic Soy Agar-Bacto™-A.B.D) besiyeri bulunan petrilere ekilmişler ve 25°C'deki inkubatörlerde 24-48 saat süre ile tutularak tekrar kolonizasyonları sağlanmıştır. Buradan alınan taze bakteriyel kültürler, içinde dd H₂O (di destile su) bulunan eppendorf tüplere steril öze ile konularak DNA izolasyonu için gerekli bakteriyel konsantrasyonları spektrofotometre ile ayarlanmıştır. DNA izolasyonunun ilk basamağında içinde bakteriyel inokulum bulunan tüpler santrifüj edilmişlerdir. Bu santrifüj işlemi sonunda eppendorf tüpün dip kısmına çöken bakteri hücrelerinin rengide morfolojik ayrımın yapılmasında rol oynamıştır. Buna göre orjinal izolatlarımızdan 173 (*B. megaterium*) beyaz renkli bir hücre çökeltisi, 122 (*P. fluorescens*) pembemsi renkte bir hücre çökeltisi, 118 (*P. vesicularis*) ise sarı renkte bir hücre çökeltisi oluşturmaktadır (Şekil 3.9). Çalışmanın kalan kısmına ilgili bakterilere benzer renkte hücre çökeltisi oluşturan izolatlar ile devam edilmiştir. Bu izolatların genomik DNA izolasyonu yapılarak, RAPD-PCR protokolü uygulanmış ve elektroforez işlemi sonucu uygulanan bakteriyel antagonistlere ait DNA bantları tespit edilmiştir. İzole edilen bakteriyel izolatların aynı primerler ile muamele edildiğinde orjinal bakteriye benzer bantları oluşturup oluşturumama ve orjinal izolatla benzerlik derecesinin belirlenmesi amacı ile her bir elektroforez işlemi sonucunda elde edilen bantların bulunması durumunda (1), bulunmaması durumunda (0) değerleri verilerek orjinal izolat ve izole edilen her bakteriye ait (0) ve (1) sayılarından oluşan bant matrisleri oluşturulmuştur. Bakterilerin benzerlik oranları Populasyon Genetik Analiz Programı, PopGen (version 1.31) (Yeh ve ark. 2000) ile Nei (1972)'ye göre yapılmıştır. Toplam bakteriyel populasyon içerisinde uyguladığımız bakteriyel antagonistin populasyonunun yoğunluğu tespit edilmiştir.

Meyvelerdeki antagonist populasyonu hasat sonu muhafaza periyodunda da RAPD-PCR yöntemi ile izlenmiştir. Meyve örnekleri aynı antibiyotik işaretli bakterilerin hasat sonu periyodunda izlendiği zaman ve şekilde alınmıştır. Bakterilerin

elde edilme şekli arazide RAPD-PCR yöntemi ile bakteriyel antagonist popülasyonunun izlenmesinde kullanılan yöntem ile aynı olmuştur.



Şekil 3.9 Bakterilerin DNA izolasyonu amacı ile santrifüjlenmesi sonucu oluşturdukları hücre çökeltileri

3.2.6. İklim Verileri

2005 ve 2006 yıllarında ait denemelerin yapıldığı dönemlere ait iklim verileri (günlük olarak ortalama sıcaklık, yağış miktarı, yaprak ıslaklığı ve ortalama nem) Bursa Tarım İl Müdürlüğü tarafından erken uyarı amacıyla fakültemize ait, kampüs içindeki Araştırma ve Uygulama Bahçesine kurulmuş erken uyarı istasyonundan (Görükle istasyonu) sağlanmıştır.

3.2.7. İstatik Analiz

2005 ve 2006 yıllarında arazide yapılan ve hasat sonu tüm uygulamaların sonuçları istatistik analize tabi tutularak uygulamaların etkileri her hasat öncesi ve hasat sonu dönemde birbirinden bağımsız olarak değerlendirilmiştir (Düzgüneş ve ark. 1983). Uygulamalar arasındaki farklılığın belirlenmesinde Minitab istatistik programı kullanılmış ve tüm kontroller $P < 0.05$ olasılık düzeyinde Duncan's Multiple Range

Test'ine göre yapılmıştır (Anonim 2005). *In vitro* denemelerin sonuçları da aynı istatistik yöntemi ile değerlendirilmiştir.

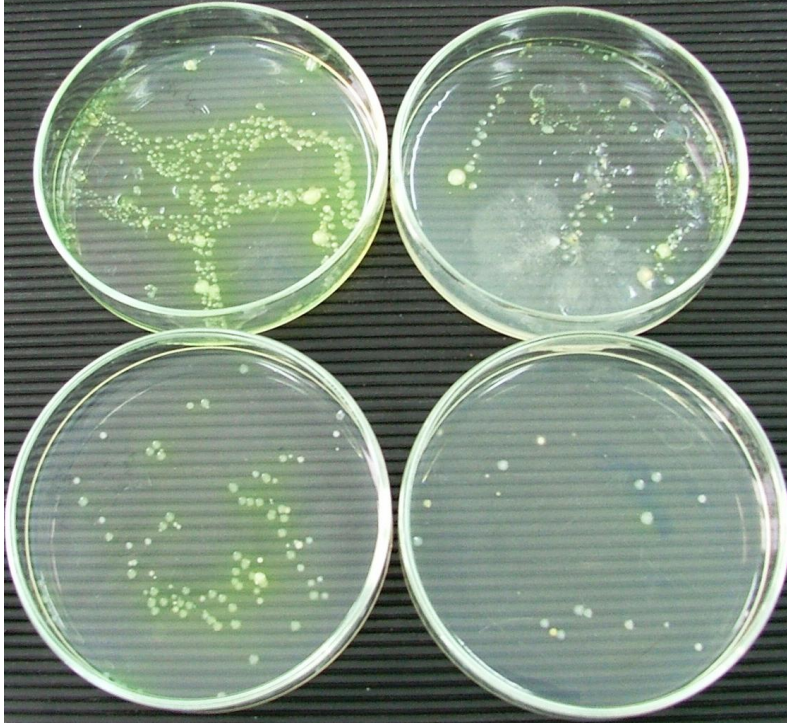
Yine 2005 ve 2006 yıllarında arazide yapılan ve hasat sonu tüm uygulamaların populasyon dinamiğinin izlenmesinde kullanılan antibiyotik işaretli bakteri ve RAPD-PCR tekniğinde uygulamalar arası farklılıklara ait veriler ise grafik şeklinde standart sapma değerlerinin verilmesi ile gösterilmişlerdir.

4. SONUÇLAR

4.1. Elde Edilen Antagonist Adayı Bakterilerin Özellikleri

Denemede kullanılacak antagonist bakterilerin elde edilmesi amacı ile Bursa İlindeki çilek bahçelerine 15 Mayıs-4 Ağustos 2004 tarihleri arasında 7-10 günlük aralıklar ile yapılan düzenli sürveyler sonucunda yaprak, meyve ve çiçeklerden 219 adet antagonist adayı bakteri izolatu toplanmıştır. Elde edilen izolatlar ile ilgili bilgiler Materyal bölümünde Çizelge 3.1’de verildiğinden bu bölümde tekrar verilmemektedir.

Çizelge 3.1 incelendiğinde çilek meyvelerinin hem generatif hem de vegetatif bitki parçalarından elde edilen 219 adet bakterinin, 130 tanesi (%59.36) meyveden, 27 tanesi çiçekten (%12.32) ve 64 tanesi de (%29.22) yapraktan elde edilmişlerdir. Toplanan örnekler Bursa ilindeki ana çilek yetiştirilen Merkez, Kestel, Keles ve Uludağ bölgelerinden alınmış olup, çilek yetiştiriciliğinde en önemli yöreleri temsil etmektedirler. Ayrıca elde edilen bakteriyel antagonistlerin King-B besiyerinde fluorescent pigment oluşturma yeteneklerine de incelenmiş ve bu izolatlardan 67 adedinin (%30,59) fluorescent pigment oluşturma yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir. Fluoresant pigment oluşturan izolatların 40 adedi (%18,26) meyveden, 15 adedi (%6,84) çiçekten, 12 adedi de (%5,47) yapraktan izole edilmişlerdir. İzole edilen toplam 219 bakteriyel izolat değerlendirildiğinde, meyveden elde edilen izolatlar içinden % 30,76’sı, çiçekten elde edilen izolatlar içinde % 55,55’i, yapraktan elde edilen izolatlar içinde ise % 18,75’i fluorescent pigment oluşturmuşlardır. Şekil 4.1’de sürveyler sırasında toplanan çilek bitkilerinin değişik organlarından izole edilen antagonist adayı bakterilerin petrideki görünüşleri verilmiştir.



Şekil 4.1 Arazideki çilek bitkilerinin değişik organlarından izole edilen antagonist adayı bakterilerin seri seyreltmeler yapılan petri kabındaki görünüşleri

4.2. Ön denemelerde Etkili Olarak Belirlenen Bakteriyel Antagonistler ve Arazi Denemeleri İçin Bakteriyel Antagonistlerin Seçimi

Çizelge 3.1’de belirtilen bölgelerden toplanan bakteriyel antagonist adayı izolatlar çilek meyvelerinde hızlı şekilde ön elemeye tabi tutulmuşlardır. Bu amaçla, çilek meyvesinde toplam 11 adet *in vivo* deneme yürütülerek arazi denemesinde kullanılabilir 10 antagonist bakteri seçilmiştir. Çizelge 4.1’de arazi denemeleri için kullanılmak üzere seçilen izolatların tekrarlanan ön denemelerdeki sonuçları görülmektedir.

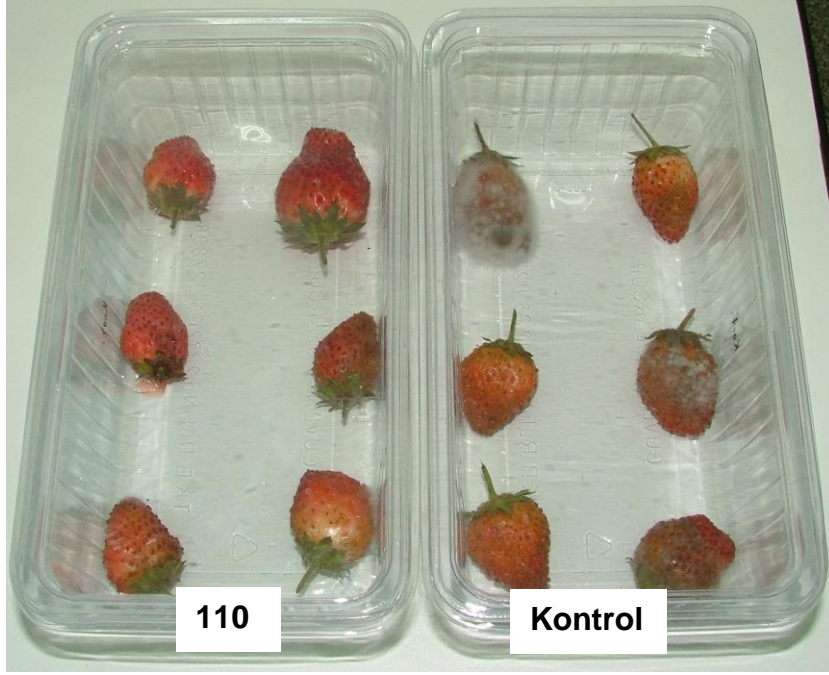
Çizelge 4.1 Arazi denemeleri için kullanılabilir en etkili izolatların ön deneme sonuçları

Bakteriler	Ön denemeler (engelleme yüzdesi)										
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
118 ^a	-	-	-	-	57.81	-	-	67.00	-	-	-
173 ^a	-	-	-	-	51.74	-	-	-	52.08	-	-
122 ^{ab}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	51.00
97	-	-	79.22	-	-	-	-	-	75.00	-	-
216	-	-	-	-	60.13	-	-	71.00	-	-	-
128A	-	-	-	-	58.16	-	-	55.03	-	-	-
176F	-	-	-	55.76	-	-	-	-	-	51.43	-
172F	-	-	-	58.10	-	-	-	-	-	62.33	-
110	-	-	-	-	59.57	-	-	-	-	50.50	-
3	51.60	50.48	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^aArazi denemesine alınan izolatlar

^bBezelyede *Ascochyta* hastalığına karşı denenmiş olan fluorescent pseudomonas

Çizelge 4.1'deki sonuçlarda antagonist adayı 10 izolatın yürütülen her bir ön denemede hastalığı engelleme düzeylerinin %50'yi geçtiği görülmektedir. Fluoresant pseudomonas izolat eldesi için Prof.Dr.Hatice ÖZAKTAN tarafından gönderilen 4 izolatta denenmiş ve bunların içinden hastalığı en yüksek engelleme oranına 122 nolu izolat ulaşmıştır. 122 nolu izolat bu özelliği nedeni ile arazi denemeleri için seçilmiştir. Şekil 4.2'de ön denemelerin yapıldığı plastik kaptaki enfekteli ve sağlam meyveler gösterilmiştir.



Şekil 4.2 110 nolu *Serratia fonticola* izolatının inokule edildiği çilek meyvelerinin kontrolde bulunan çilek meyveleri ile karşılaştırmalı olarak görüntüsü

Şekil 4.3'de ön denemeler sonucu etkili bulunan bir izolatın etkinliği gösterilmiştir.



Şekil 4.3 173 nolu *Bacillus megaterium*'un ön deneme sonunda kontrole göre etkinliği

4.3. *In vitro* Denemeler

4.3.1. Ön Denemelerde Etkili Bulunan İzolatların Tür Teşhisi ve Arazi Denemesi İçin Seçimi

Arazi çalışması için seçilen antagonist aday bakteriye izolatların tür teşhisleri ve patojenik karakterleri LOPAT testleri, API tanı kitleri ve BD BBL CRYTAL System ile belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

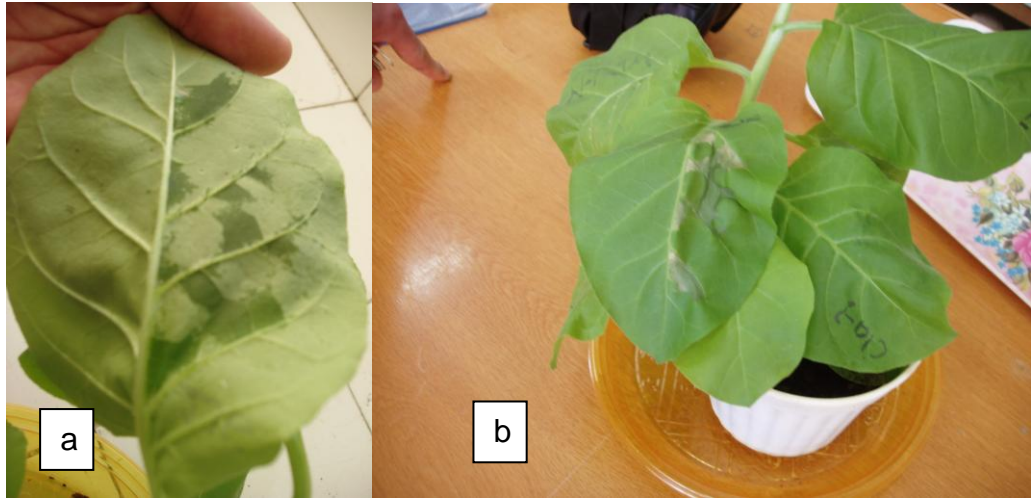
Çizelge 4.2 Ön Denemeler Sonucu Etkili Bulunan İzolatların Lopat ve Tanı Test Sonuçları.

Bakteriler	Gram Reaksiyonu	King B'de pigment	Levan	Oxidase	Patates Pektolitik aktivite	Arginin	Tütün HR	Jelatinin sıvılaşması	Tanı sonucu
118*	-	Sarı	-	-	-	-	-	-	<i>Pseudomonas vesicularis</i> (BD BBL CRYSTAL Enteric/Nonfermenter ID system)
173*	+	Beyaz	-	-	-	-	-	-	<i>Bacillus megaterium</i> (BD BBL CRYSTAL Gram-positive ID system)
97	-	Floresant (Mavi-yeşil)	+	+	+	+	-	+	<i>Burkholderia cepacia</i> (API GN32)
216	-	Floresant (Mavi-yeşil)	+	-	-	-	+	+	<i>Pseudomonas syringae</i> pathovarı
128A	-	Turuncu	-	-	-	-	-	-	<i>Moraxella lacunata</i> (API GN32)
176F	-	Yeşil floresant		+	+	+	--	+	<i>P. fluorescens</i> bv.II
172F	-	Mavi floresant		-	--	--	+	+	<i>P. syringae</i> pathovarı
110	-	Non floresant		-	--	+	--	--	<i>Serratia fonticola</i> (API GN32)
3	-	Yeşil floresant		+	+	+	+ zayıf	+	<i>P.marginalis</i>

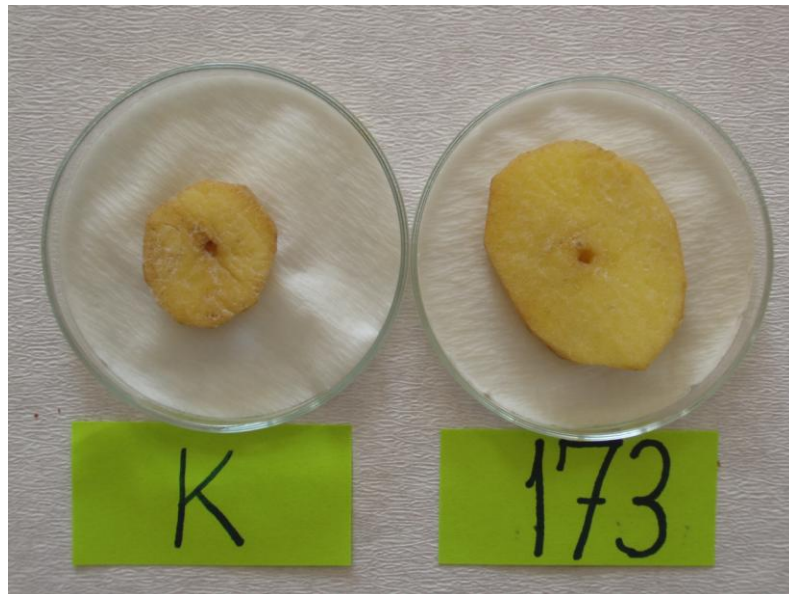
*Arazi denemesine alınan izolatlar

Labaratuvar çalışmaları sonucu 97, 3 ve 176F nolu izolatların patates pektolizasyonu (+) olması, 216, 172F ve yine 3 nolu izolatların Tütün HR (+) olması sebebi ile çilekte olmasa bile başka bitkilerde patojen olma ihtimalleri, 128A ve 110 nolu izolatların ise insanda patojen olma ihtimali sebebi ile tez kapsamında

ıkarılmıştır. Ayrıca etkili bulunan floresant izolatlar bitki patojeni olma ihtimali nedeni ile elenmişlerdir. 118 nolu izolatın *Pseudomonas vesicularis*, 173 nolu izolatların ise *Bacillus megaterium* olarak kesin teşhisi yapılmış ve bu teşhis sonucu kayıtlı insan ve bitki patojenleri arasında olmadığı bulunmuştur. Şekil 4.4’de tütünde aşırı duyarlılık testi pozitif olan bir izolatın yapraklara inokulasyondan hemen sonra ve inokulasyondan 2 gün sonra tütün yaprağındaki aşırı duyarlılık reaksiyonu, Şekil 4.5’de 173 nolu *B. megaterium*’a ait patates testindeki negatif sonuç gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Tütün HR testi (+) olan 216 nolu bakterinin (*Pseudomonas syringae*) a) Tütün bitkisine inokulasyondan hemen sonraki görüntüsü, b) aynı yaprak üzerinde 2 gün sonra görülen fitotoksisite



Şekil 4.5 173 nolu bakterinin (*Bacillus megaterium*) patates testi sonucundaki negatif test sonucunun görünüşü.



Şekil 4.6 118 nolu antagonist bakterinin (*Pseudomonas vesicularis*) TSA ortamındaki gelişimi

4.3.2. Arazi Denemesinde Kullanılan İzolatların Antibiyotikle Etiketlenmeleri

Çizelge 4.3’de bakterilerin Rifampicin ve Streptomycin’e spontan olarak dayanıklılıkları ve yapılan çalışmalar ile etiketlendikleri antibiyotikler ve dozları belirtilmiştir.

Çizelge 4.3 Arazi Denemesinde Kullanılacak Bakterilerin Rifampicin ve Streptomycin’e Spontan Dayanıklılıkları ve Antibiyotik İle Etiketli Dozları

Antibiyotikler/İzolatlar	118 (<i>P. vesicularis</i>)		173 (<i>B. megaterium</i>)		122 (<i>P. fluorescens</i>)	
	Spontan doz	Etiketli Doz	Spontan doz	Etiketli Doz	Spontan doz	Etiketli Doz
Streptomycin	10 ppm	30 ppm	3 ppm	- ^b	30 ppm	- ^d
Rifampicin	- ^a	- ^c	- ^a	50 ppm	10 ppm	- ^d
Streptomycin + Rifampicin	0.3 ppm	- ^c	3ppm	- ^b	10 ppm + 10 ppm	30 ppm + 30 ppm

^a1 ppm dozunda gelişme görülmemiştir.

^b10 ppm ve üstü dozlarda streptomycinin tek başına veya rifampicin ile karışık olduğu durumlarda gelişme görülmemiştir.

^c0.3 ppm rifampicin dozunun üzerinde gelişme görülmediğinden etiketleme yapılmamıştır.

^dStreptomycin 30 ppm + Rifampicin 30 ppm karışım dozunda etiketleme yapıldığından antibiyotikler tek başlarına oldukları durumda etiketleme yapılmamıştır.

Çizelge 4.3’de görüldüğü gibi arazi denemesinde kullanılacak olan 173, 118 ve 122 nolu izolatların Rifampicin ve Streptomycin ile etiketlenme denemeleri sonucu 173 nolu izolat (*B. megaterium*) 50 ppm Rifampicin, 118 nolu izolat (*P. vesicularis*) 30 ppm Streptomycin ve 122 nolu izolat (*P. fluorescens*) 30ppm Rifampicin+30 ppm Streptomycin dozlarında etiketlenmişlerdir.

4.3.3. Antibiosis ve Siderofor Etkinin Belirlenmesi

Bakterilerin fungusun miseliyal gelişimi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacı *in vitro* ortamda test yapılmıştır. Çizelge 4.4’de bu testin sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.4 *In vitro* Ortamda Bakteriyel Antagonitlerin, *Botrytis cinerea*’ya Karşı Oluşturdukları İnhibasyon Bölgelerinin Büyüklükleri.

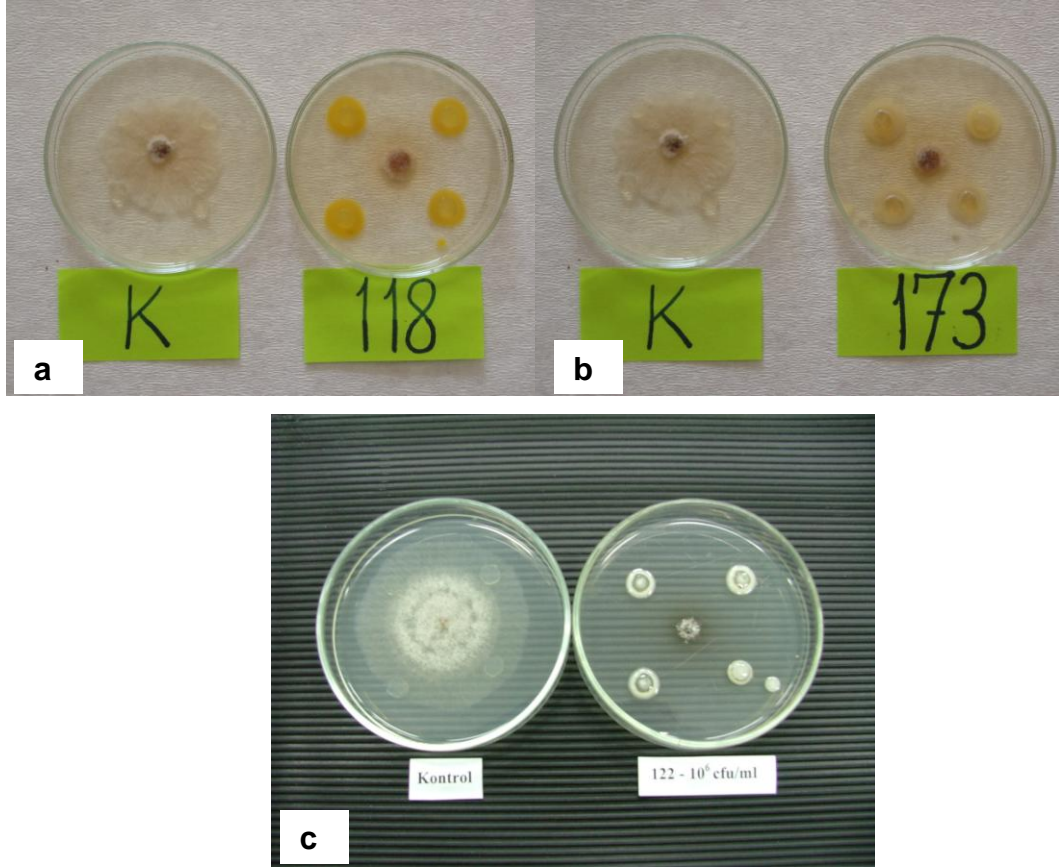
Uygulamalar	Bakteri konsantrasyonu (cfu/ml)	Ortalama İnhibasyon zonu (mm)
Kontrol	-	0.88±0.14 f [†]
173 (<i>Bacillus megaterium</i>)	1x10 ⁶ ^x	17.31±0.43 e
	1x10 ⁷	17.88±0.32 d
	1x10 ⁸	18.56±0.43 bc
	1x10 ⁹	19.44±0.24 a
122 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	1x10 ⁶	17.69±0.52 de
	1x10 ⁷	18.94±0.13 b
	1x10 ⁸	19.38±0.14 a
	1x10 ⁹	19.75±0.35 a
118 (<i>Pseudomonas vesicularis</i>)	1x10 ⁶	18.31±0.13 c
	1x10 ⁷	18.63±0.14 bc
	1x10 ⁸	19.44±0.24 a
	1x10 ⁹	19.50±0.20 a

^xDuncan’s Multiple Range Test (p<0.05)

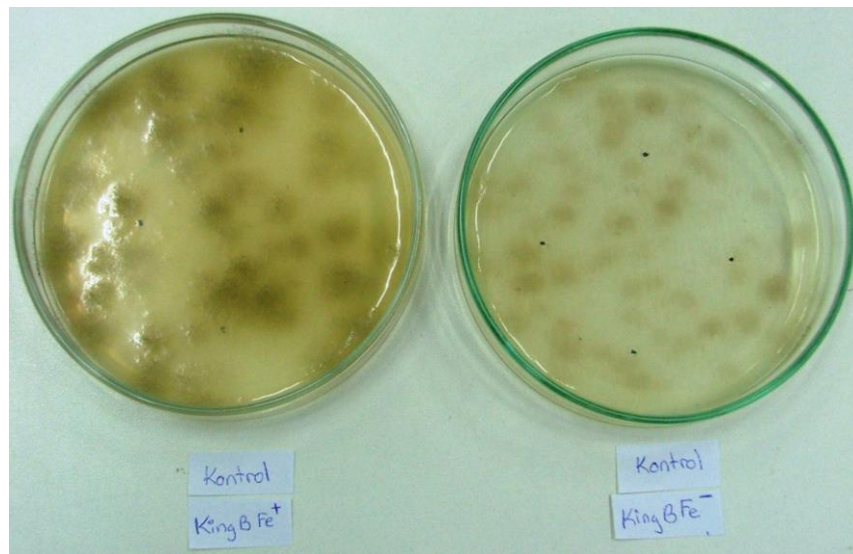
[†]İstatistik analizde p<0.05 önemlilik seviyesinde aynı harfler arasında istatistik anlamda fark bulunmamaktadır.

Çizelge 4.4'deki sonuçlar tüm bakterilerin bütün konsantrasyonlarında oluşan inhibasyon bölgesinin büyüklüğünün kontrolden istatistik olarak farklı olduğunu göstermektedir. 118 (*P. vesicularis*) ve 122 (*P. fluorescens*) nolu bakterilerin 1×10^8 ve 1×10^9 hücre/ml'lik konsantrasyonları ile 173 nolu (*B. megaterium*) bakterinin 1×10^9 hücre/ml'lik konsantrasyonu en büyük inhibasyon zonunu oluşturmuş ve diğer tüm bakteri konsantrasyonlarına göre etkili olmuşlardır. En düşük inhibasyon zonlarını ise bakterilerin 1×10^6 hücre/ml'lik konsantrasyonları oluşturmuşlardır. Şekil 4.7'de arazi denemesi için seçilen antagonist bakterilerin *in vitro* ortamda *B. cinerea*'nın miselyum gelişimi üzerindeki etkileri gösterilmiştir.

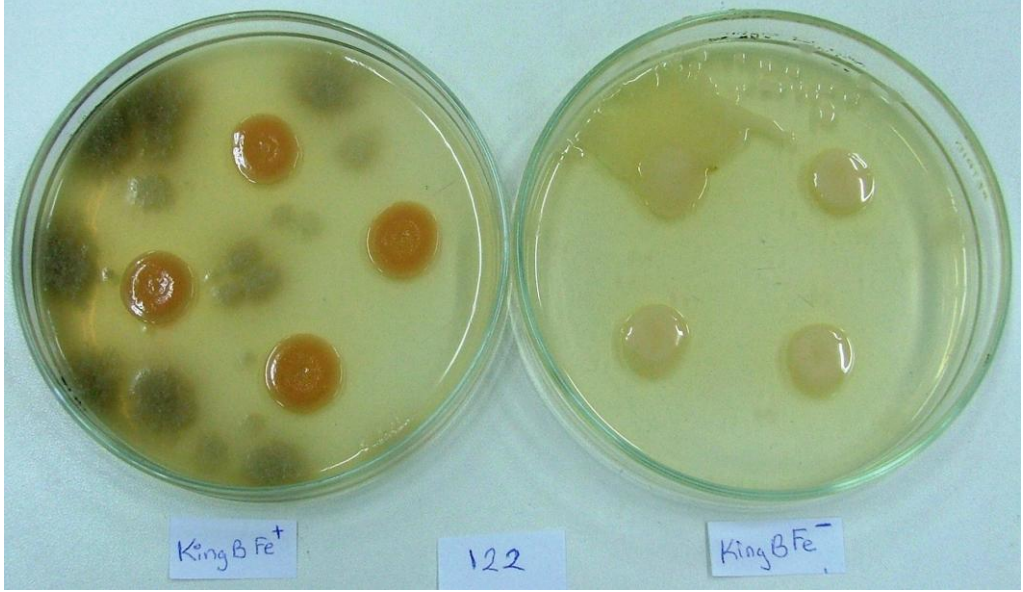
Antagonizmin siderofor kökenli olup olmadığının belirlenmesi amacı ile Fe^{+3} içeren besiyerinde antagonist bakterilerin ve patojenin koloni gelişimleri incelenmiştir. 122 nolu (*P. fluorescens*) bakterinin Fe^{+3} içeren besiyerinde *B. cinerea*'ya ait miseliyal kitlelerin Fe^{+3} içermeyen besiyerindeki miseliyal kitlelerden fazla olduğu ve siderefora dayalı bir antagonizmin olduğu belirlenmiştir. 173 nolu (*B. megaterium*) bakterinin de Fe^{+3} içeren besiyerinde *B. cinerea*'ya ait miseliyal kitlelerin Fe^{+3} içermeyen besiyerindeki miseliyal kitlelerinden fazla olduğu ve siderefora dayalı bir antagonizmin söz konusu olduğu belirlenmiştir. 118 (*P. vesicularis*) nolu bakteride ise Fe^{+3} içeren ve Fe^{+3} içermeyen besiyerindeki *B. cinerea*'ya miseliyal gelişimin olmadığı ve siderefora dayalı bir antagonizmin bulunmadığı belirlenmiştir. Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de *B. cinerea* spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe^{+3} bulunan ve bulunmayan King-B besiyerinde bakteriyel izolatların ve *B. cinerea*'nın gelişimi gösterilmiştir.



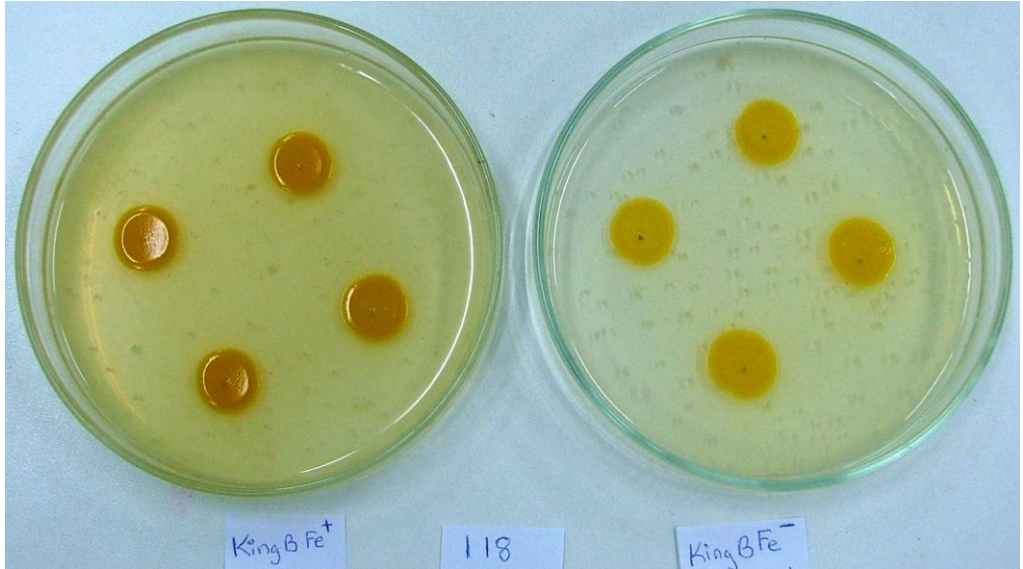
Şekil 4.7 Antagonist bakteriler tarafından TSA ortamında *Botrytis cinerea*'ya ait miselyum gelişiminin engellemesi. a) 118 nolu bakterinin 1×10^8 cfu/ml yoğunluğunda (*Pseudomonas vesicularis*) oluşturduğu antibiosis, b) 173 nolu bakterinin 1×10^8 cfu/ml yoğunluğunda (*Bacillus megaterium*) oluşturduğu antibiosis, c) 122 nolu bakterinin 1×10^6 cfu/ml yoğunluğunda (*Pseudomonas fluorescens*) oluşturduğu antibiosis.



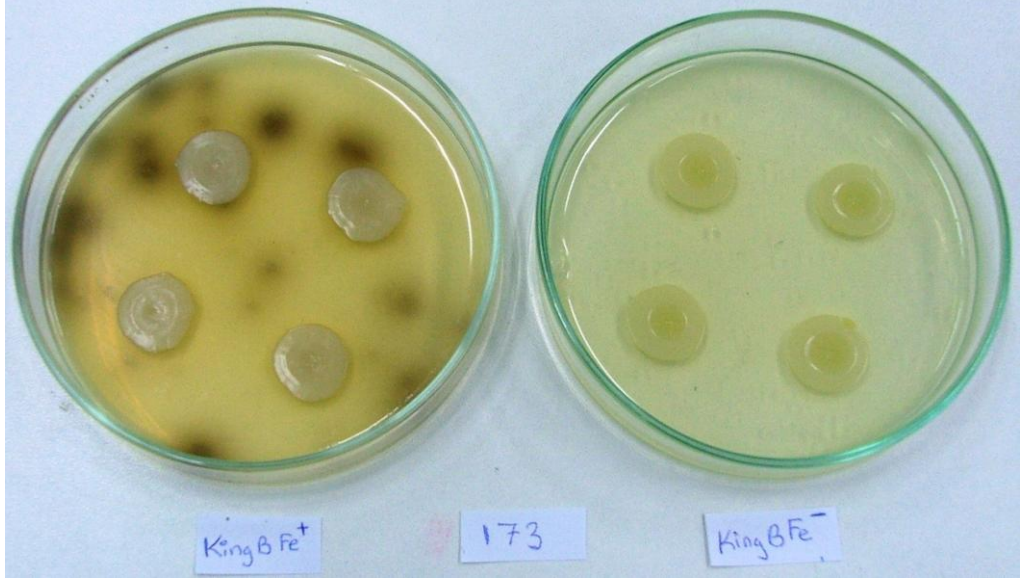
Şekil 4.8 *Botrytis cinerea* spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe⁺³ bulunan ve bulunmayan King-B besi ortamında *B. cinerea*'nın gelişimi



Şekil 4.9 *Botrytis cinerea* spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe^{+3} bulunan ve bulunmayan King-B besiortamında 122 nolu *Pseudomonas fluorescens* bakterisinin ve *B. cinerea*'nin gelişimi



Şekil 4.10 *Botrytis cinerea* spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe^{+3} bulunan ve bulunmayan King-B besiortamında 118 nolu *Pseudomonas vesicularis* bakterisinin ve *Botrytis cinerea*'nin gelişimi



Şekil 4.11 *Botrytis cinerea* spor süspansiyonu pulverize edilmiş, Fe^{+3} bulunan ve bulunmayan King-B besi ortamında 173 nolu *Bacillus megaterium* bakterisinin ve *Botrytis cinerea*'nın gelişimi

4.4. Arazi Denemeleri

2005 ve 2006 yıllarında bakteriyel antagonist izolatların arazide ve hasat sonunda biyolojik etkinlikleri değerlendirilmiştir. Çizelge 4.5, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13'de 2005 ve 2006 yıllarında doğal bakterilerin biyolojik etkinliğinin denendiği 8 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan *B. cinerea* ile enfekte olmuş meyve sayısı ve uygulamaların etkisi görülmektedir. Arazide sayılan çürük meyvelerin tamamının *B. cinerea* ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5 2005 ve 2006 Yıllarında Çilek Bahçesinde Doğal Bakterilerin Uygulandığı 8 Metrelik Çilek Parsellerinden Her Hasat Döneminde Görülen *Botrytis cinerea* İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı (adet).

2005 Yılı								
Uygulamalar	1.hasat ortalaması 16-05-05*	2.hasat ortalaması 23-05-05	3.hasat ortalaması 30-05-05	4.hasat ortalaması 06-06-05	5.hasat ortalaması 13-06-05	Tüm hasatların ortalaması	% Etki	Enfekteli Meyve Toplamı
Kontrol	0.20 ^x a [†]	9.00 a	298.40 a	84.60 a	44.80 a	87.40 a	0.00 a	2.185 a
173 <i>Bacillus megaterium</i>	0.60 a	8.40 a	217.40 ab	52.00 a	17.20 b	59.12 b	32.35 b	1.478 b
122 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.40 a	12.20 a	206.60 ab	53.20 a	26.00 ab	59.68 b	31.71 b	1.492 b
118 <i>Pseudomonas vesicularis</i>	0.00 a	6.80 a	201.60 ab	51.80 a	33.40 ab	58.72 b	32.81 b	1.468 b
Fungisit (Fenhexamid)	0.00 a	4.00 a	181.40 b	79.80 a	26.00 ab	58.40 b	33.18 b	1460 b
2006 Yılı								
Uygulamalar	1.hasat ortalaması 19-05-06	2.hasat ortalaması 26-05-06	3.hasat ortalaması 02-06-06	4.hasat ortalaması 10-06-06		Tüm hasatların ortalaması	% Etki	Enfekteli Meyve Toplamı
Kontrol	47.00 a	94.00 a	379.00 a	1.002.00 a	-	380.00 a	0.00 a	7.607 a
173 <i>Bacillus megaterium</i>	32.00 b	53.00 b	80.00 c	636.00 b	-	200.00 c	47.36 c	4.008 c
122 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	33.00 b	58.00 b	64.00 c	956.00 a	-	278.00 b	26.84 b	5.552 b
118 <i>Pseudomonas vesicularis</i>	36.00 ab	47.00 b	135.00 c	784.00 ab	-	250.00 b	34.21 b	5.006 b
Fungisit (Fenhexamid)	10.00 c	59.00 b	295.00 b	692.00 b	-	264.00 b	30.52 b	5.277 b

^xDuncan's Multiple Range Test (p<0.05)

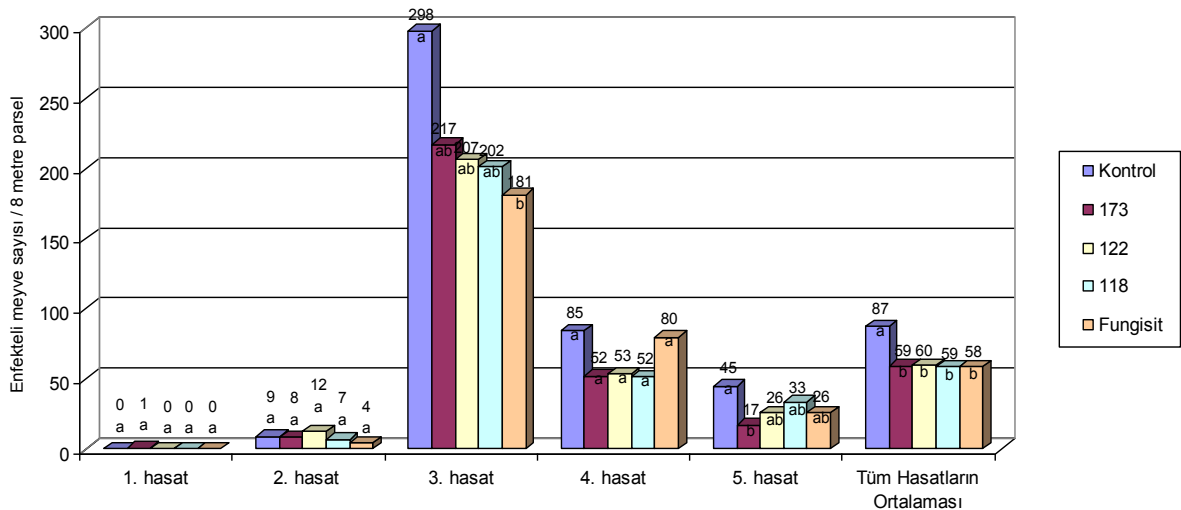
[†]İstatistik analizde p<0.05 önemlilik seviyesinde aynı harfler arasında istatistik anlamda fark bulunmamaktadır.

*İstatistik analizde her bir sütun kendi arasında değerlendirilmiştir.

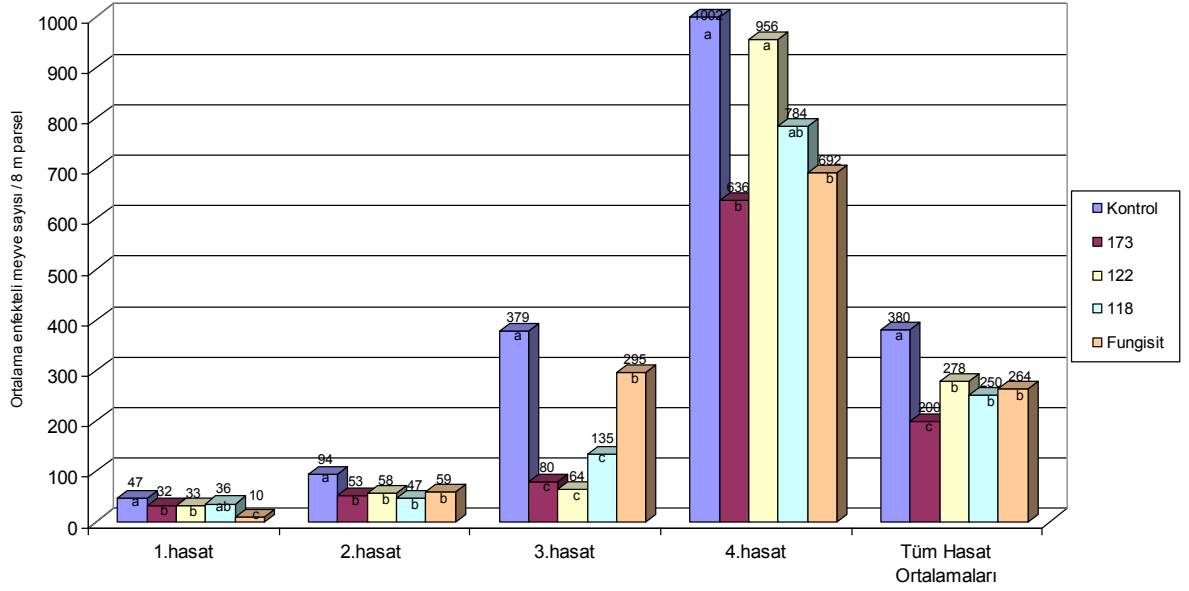
Çizelge 4.5 ve Şekil 4.12'de 2005 yılında 5 hafta süresince parsellerden toplanan *B. cinerea* ile enfekteli meyve sayıları incelendiğinde, uygulanan üç antagonist bakterinin hastalığı engellemede gösterdikleri etkinin birbirleri ile istatistik olarak aynı düzeyde olduğu görülmektedir. Önemli sonuçlardan biri de antagonist bakterilerin etkilerinin fungusit ile aynı düzeyde olmasıdır. Her hasat dönemine ait sonuçlar incelendiğinde ise antagonist bakterilerin bazı haftalarda etkisiz olduğu görülmektedir. Özellikle hasat edilen meyve sayısının yoğunlaştığı 3. haftada üç antagonist bakterinin de kontrol uygulamasına oranla istatistik olarak etkisiz olduğu bulunmuştur. Aynı

haftada fungusit uygulaması hastalığı engellemede etkili bulunmuştur. Dördüncü hasat döneminde tüm bakteriler ve fungusit uygulaması hastalığı engellemede başarısız olurken beşinci hasat döneminde ise sadece 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri uygulaması kontrolden istatistik olarak farklılık göstermiştir.

Çizelge 4.5 ve Şekil 4.13’de 2006 yılında 4 hafta süresince parsellerden toplanan *B. cinerea* ile enfekteli meyve sayıları incelendiğinde, uygulanan üç antagonist bakteriden 173 nolu (*B. megaterium*) bakterinin hastalığı engellemede gösterdiği etkinin diğer bakteriyel antagonist ve fungusit uygulamalarından istatistik olarak daha yüksek olduğu görülmüştür. Diğer iki bakteriyel antagonist ve fungusit uygulamalarının ise kontrole göre istatistik olarak daha etkili olduğu ancak kendi aralarındaki etki düzeyleri arasında farklılık olmadığı bulunmuştur. Bakteriyel antagonistlerden tümünün etkilerinin fungusit ile aynı düzeyde ve hatta birinin fungusitten daha etkili olarak tespit edilmesi özellikle arazi çalışmalarında önemli bir sonuç olarak görülmektedir. İlk üç hasat dönemine ait sonuçlar incelendiğinde ise antagonist bakteri ve fungusit uygulamalarının kontrol uygulamasına oranla etkili olduğu bulunmuştur. Özellikle çürük meyve sayısının en fazla görüldüğü son hasat döneminde sadece 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri ve fungusit uygulamasının istatistik olarak kontrolden farklı olduğu, diğer iki bakteriyel antagonistin ise kontrol ile aynı grupta bulunduğu belirlenmiştir.

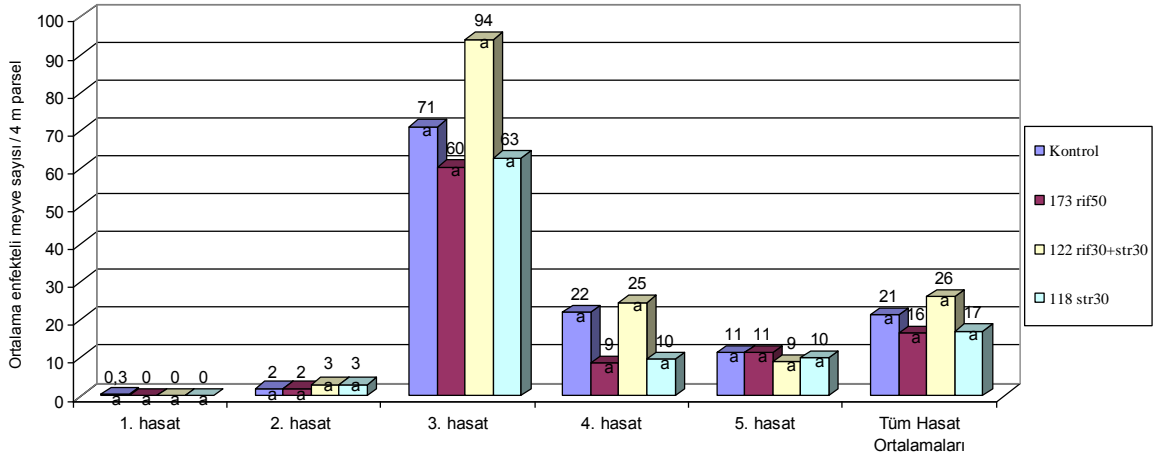


Şekil 4.12 2005 yılında arazide doğal bakterilerin uygulandığı 8 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan *Botrytis cinerea* ile enfekte olmuş meyve sayısı



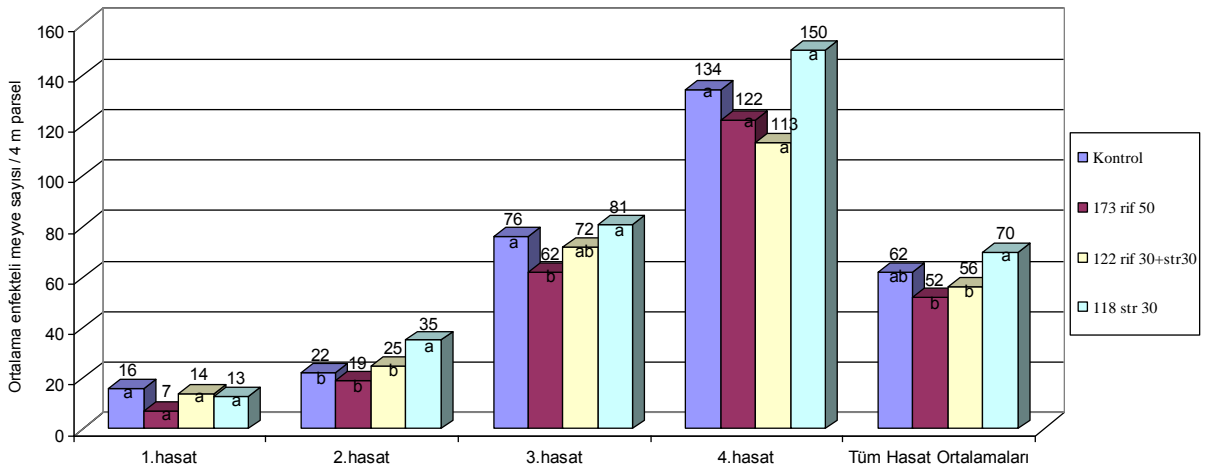
Şekil 4.13 2006 yılında arazide doğal bakterilerin uygulandığı 8 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan *Botrytis cinerea* ile enfekte olmuş meyve sayısı

Şekil 4.14 ve Şekil 4.15’de 2005 ve 2006 yıllarında antibiyotik işaretli bakterilerin uygulandığı 4 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan *B. cinerea* ile enfekte olmuş meyve sayısını göstermektedir.



rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat
 rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat
 str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.14 2005 yılında arazide antibiyotikle işaretli bakterilerin uygulandığı 4 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan *Botrytis cinerea* ile enfekte olmuş meyve sayısı



rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat
 rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat
 str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.15 2006 yılında arazide antibiyotikle işaretli bakterilerin uygulandığı 4 metrelik çilek parsellerinden her hasat döneminde çıkan *Botrytis cinerea* ile enfekte olmuş meyve sayısı

Şekil 4.14'deki sonuçlar incelendiğinde 2005 yılında uygulanan üç antibiyotik işaretli antagonist bakterinin hastalığı engellemede gösterdikleri etkinin birbirleri ve kontrol uygulaması ile istatistik olarak aynı düzeyde olduğu görülmektedir. Bu durumun hasat yapılan tüm haftalar boyunca değişmediği tespit edilmiştir. Şekil 4.15'deki sonuçlar incelendiğinde ise 2006 yılında üç antibiyotik işaretli antagonist bakteride istatistik olarak kontrol ile aynı grupta yer almıştır. 118 nolu *P. vesicularis*'in hastalığı engellemede diğer iki bakteriyel antagonist uygulamasına göre istatistik olarak daha etkisiz olmuştur. Birinci ve dördüncü hasatta tüm antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulamalarının etkisiz olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.6, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17'de 2005 ve 2006 yıllarında antagonist bakterilerin hasat sonrası muhafaza ve raf ömrü sonundaki etkileri verilmiştir. Hasat sonu dönemde çürüyen meyvelerin tamamının *B.cinerea* ile enfekteli olduğu tespit edilmiştir.

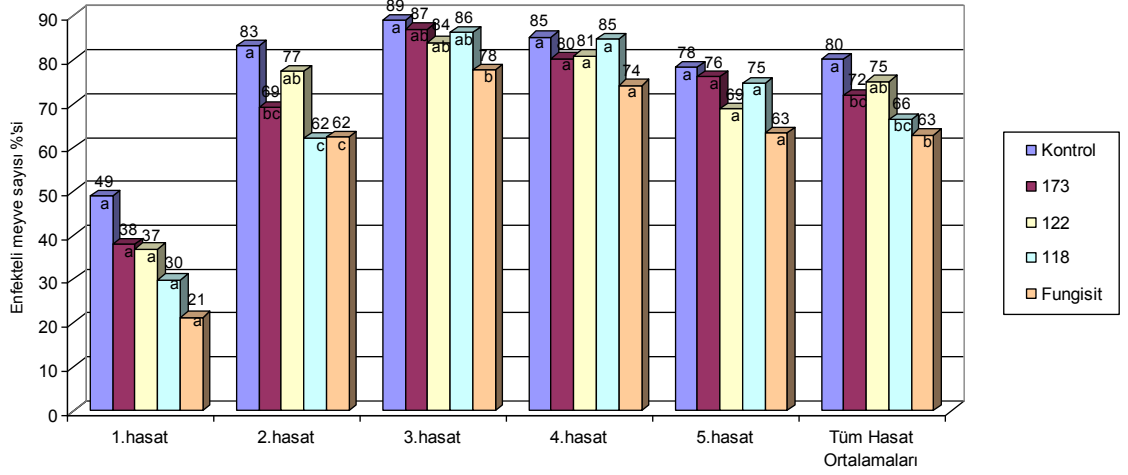
Çizelge 4.6 2005 ve 2006 Yıllarında Doğal Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası Muhafazası Sırasında *Botrytis cinerea* İle Enfekte Olmuş Meyve Sayıları (adet)

2005 Yılı																								
Uygulamalar	1.hasat 16-05-05				2.hasat 23-05-05				3.hasat 30-05-05				4.hasat 06-06-05				5.hasat 13-06-05				Tüm hasatların toplamı			
	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si*	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)
Kontrol	110 ^x	115	48,89 a	3.741 a [†]	637	128	83,27 a	15.636 b	303	37	89,12 a	6.084 a	295	51	85,26 a	3.441 a	54	15	78,26 a	896 ab	1399	346	80,17 a	29.798 a
173 Bacillus megaterium	73	119	38,02 a	3.433 a	658	294	69,12 bc	22.302 a	378	56	87,10 ab	8.391 a	221	54	80,36 a	3.134 a	51	16	76,12 a	1.340 a	1381	539	71,93 bc	38.600 a
122 Pseudomonas fluorescens	72	123	36,92 a	3.439 a	707	206	77,44 ab	18.292 ab	362	69	83,99 ab	8.431 a	260	61	81,00 a	3.500 a	31	14	68,89 a	776 b	1432	473	75,17 ab	34.438 a
118 Pseudomonas vesicularis	81	190	29,89 a	4.332 a	648	394	62,19 c	22.651 a	349	55	86,39 ab	8.116 a	251	45	84,80 a	3.309 a	59	20	74,68 a	1.239 ab	1388	704	66,35 bc	39.647 a
Fungisit	64	237	21,26 a	4.629 a	653	394	62,37 c	19.895 ab	484	138	77,81 b	10.891 a	256	89	74,20 a	3.383 a	45	26	63,38 a	918 ab	1502	884	62,95 c	39.716 a
2006 Yılı																								
Uygulamalar	1.hasat 19-05-06				2.hasat 26-05-06				3.hasat 02-06-06				4.hasat 10-06-06				Tüm hasatların toplamı							
	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)
Kontrol	118	100	54,13 a	4.647 b	855	400	68,13 a	18.284 b	6.194	228	96,45 a	44.742 ab	114	38	75,00 a	2.552 a	-	-	-	-	7.167	728	90,78 a	67.673 a
173 Bacillus megaterium	130	98	57,02 a	4.365 b	837	1.593	34,44 c	29.574 a	3.078	2.026	60,31 c	47.830 a	82	120	40,59 c	3.130 a	-	-	-	-	4.045	3.717	52,11 d	81.769 a
122 Pseudomonas fluorescens	81	60	57,45 a	3.340 b	1.208	1.693	41,64 b	23.779 ab	3.207	1.680	65,62 c	47.486 a	91	69	56,88 b	2.873 a	-	-	-	-	4.496	3.433	56,70 cd	74.605 a
118 Pseudomonas vesicularis	82	69	54,30 a	3.701 b	786	1.146	40,68 b	24.284 ab	3.659	786	82,32 b	41.168 ab	117	78	60,00 b	3.058 a	-	-	-	-	4.527	2.001	69,35 b	69.153 a
Fungisit	104	121	46,22 a	10.011 a	762	1.053	41,98 b	26.197 ab	2.819	1.378	67,17 c	37.554 b	116	108	51,79 b	3.158 a	-	-	-	-	3.685	2.552	59,08 c	73.762 a

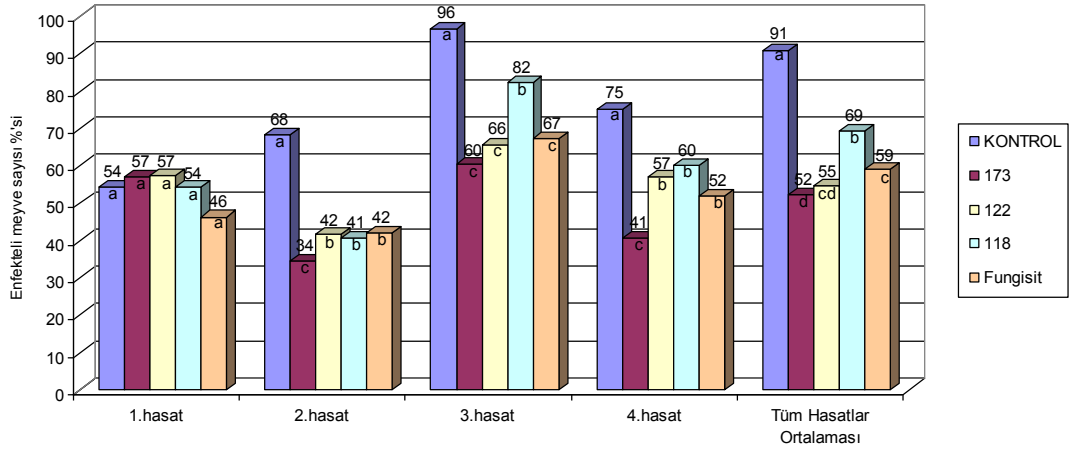
^xDuncan's Multiple Range Test (p<0.05)

[†]İstatistik analizde p<0.05 önemlilik seviyesinde aynı harfler arasında istatistik anlamda fark bulunmamaktadır.

^{*}İstatistik analizde hasat dönemlerine ait ilgili her bir sütun kendi arasında değerlendirilmiştir.



Şekil 4.16 2005 yılında Doğal Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Depolama Sonrası *Botrytis cinerea* İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı



Şekil 4.17 2006 yılında Doğal Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Depolama Sonrası *Botrytis cinerea* İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı

Çizelge 4.6 ve Şekil 4.16'da 2005 yılında yapılan 5 hasat dönemine ait tüm hasatların toplamındaki enfekteli meyve yüzdeleri incelendiğinde 118 nolu (*P. vesicularis*) ve 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri uygulamalarının kontrol uygulamasına oranla hasat sonrası çürümelere önemli düzeyde engellediği görülmektedir. 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteri uygulaması da benzer şekilde hasat sonrası hastalıkları azaltsa da kontrol uygulamasına oranla azalış istatistik olarak önemsiz olmuştur. 118 nolu (*P. vesicularis*) ve 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri uygulamalarının hastalığı engelleme oranları fungusit uygulaması ile istatistik olarak aynı düzeyde gerçekleşmiştir.

Ancak, haftalık veriler incelendiğinde hasat öncesi dönemde elde edilen sonuçlara benzer bir şekilde antagonist bakteri ve fungusit uygulamalarının bazı haftalarda hasat sonrası hastalıkları engellemede etkisiz olduğu görülmektedir. Birinci hafta hasat edilen meyvelerin nuhafazası sonucu ortaya çıkan çürük meyve yüzdeleri tüm uygulamalarda kontrol uygulaması ile aynı seviyede bulunmuştur. Fungisit uygulaması birinci hafta dışındaki tüm dönemlerde hastalığı önemli düzeyde engellerken, 118 nolu (*P. vesicularis*) ve 173 nolu (*B. megaterium*) bakteriler bunu sadece en fazla hasadın yapıldığı ikinci haftada başarabilmişlerdir.

Uygulama yapılan parsellerden hasat edilen toplam meyve miktarı incelendiğinde kontrol ile tüm uygulamaların arasında istatistik anlamda bir fark görülmemiştir. Ancak kontrol uygulamasından parsel başına yaklaşık 29 kg meyve hasadı yapılırken 118 nolu (*P. vesicularis*) ve 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri uygulamalarının yapıldığı parsellerden sırası ile yaklaşık 39 ve 38 kg meyve hasat edilmiştir. Aynı bakteriyel uygulamalara ait haftalık veriler incelendiğinde, en fazla meyvenin hasat edildiği 2. hasat döneminde de istatistik olarak kontrol uygulamasından daha fazla meyve hasat edildiği görülmektedir. Diğer hasat dönemlerinde ise uygulamalar ile kontrol parsellerinden hasat edilen meyve miktarları arasında istatistik farklılık görülmemiştir. Sadece 5 hasat döneminde 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteri uygulamasının yapıldığı parsellerden istatistik olarak kontrol uygulamasına göre daha az meyve hasat edilmiştir. Şekil 4.18'de antagonist bakteri uygulaması yapılan çilek meyvelerinin soğuk hava deposundan çıkışındaki görünüşü gösterilmiştir.



Şekil 4.18 122 nolu *Pseudomonas fluorescens* uygulaması yapılarak 1°C’de 4 gün muhafaza edildikten sonra çilek meyvelerinin görünüşleri.

Çizelge 4.6 ve Şekil 4.17’de 2006 yılında yapılan 4 hasat dönemine ait toplam değerler incelendiğinde, 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri uygulaması hasat sonrası çürümleri fungusit ve 118 nolu (*P. vesicularis*) bakteri uygulamalarına göre istatistik olarak daha yüksek düzeyde engellediği görülmektedir. 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteri uygulamasının etki seviyesi de istatistik olarak 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri uygulaması ile aynı düzeyde bulunmuştur.

Ancak, haftalık veriler incelendiğinde 2005 yılındaki hasat sonrası sonuçlara benzer bir şekilde antagonist bakteri ve fungusit uygulamalarının bazı haftalarda hasat sonrası hastalıkları engellemede yetersiz olduğu görülmektedir. Birinci hafta hasat edilen meyvelerin muhafazası sonucu ortaya çıkan çürük meyve yüzdeleri tüm

uygulamalarda aynı seviyede bulunmuştur. Birinci hafta dışındaki tüm hasat dönemlerindeki bakteriyel antagonist ve fungusit uygulamaları *B. cinerea*'dan kaynaklanan çürümeyi istatistik olarak etkili şekilde önlemişlerdir. Özellikle en fazla meyve hasadının yapıldığı üçüncü haftada 173 nolu (*B. megaterium*) ve 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteriyel uygulamalar ve fungusit uygulaması istatistik olarak aynı etki düzeyinde bulunmuştur.

Uygulama yapılan parsellerden hasat edilen toplam meyve miktarı incelendiğinde, 2005 yılındaki hasat sonrası sonuçlara benzer bir şekilde antagonist bakteri, fungusit ve kontrol uygulamaları arasında istatistik anlamda bir fark görülmemiştir. Ancak kontrol uygulamasının bulunduğu parsellerden ortalama 67 kg meyve hasadı yapılırken 173 nolu (*B. megaterium*) ve 122 nolu (*P. fluorescens*) bakterilerin uygulandığı parsellerden sırası ile yaklaşık 81 ve 74 kg meyve hasat edilmiştir. Haftalık veriler incelendiğinde, en fazla meyvenin hasat edildiği 3. hasat döneminde kontrol ve bakteri uygulamaları arasında istatistik anlamda farklılık görülmemesine rağmen, fungusit uygulamasından kontrole göre istatistik anlamda daha az meyve hasat edilmiştir. İkinci hasat döneminde ise 173 nolu (*B. megaterium*) bakteri uygulaması kontrole göre farklı bir grupta yer almış ve daha fazla meyve hasat edilmiştir.

Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de raf ömrü sonunda kontrol ve bakteriyel antagonist uygulamaları yapılmış çilek meyveleri görülmektedir.

Çizelge 4.7, Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de 2005 ve 2006 yıllarında antibiyotik işaretli antagonist bakterilerin hasat sonrası muhafaza ve raf ömrü sonundaki etkileri verilmiştir.



Şekil 4.19 4 gün 1°C muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda kontrol parsellerinden toplanan çilekler üzerindeki *Botrytis cinerea* enfeksiyonu



Şekil 4.20 4 gün 1°C muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda 173 nolu *Bacillus megaterium* uygulanan parsellerden toplanan çilekler üzerindeki *Botrytis cinerea* enfeksiyonu

Çizelge 4.7 2005 ve 2006 Yıllarında Antibiyotik İle İşaretli Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası Muhafası Sırasında *Botrytis cinerea* İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı (adet)

2005 Yılı																								
Uygulamalar	1.hasat 16-05-05				2.hasat 23-05-05				3.hasat 30-05-05				4.hasat 06-06-05				5.hasat 13-06-05				Tüm hasatların toplamı			
	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si*	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)
Kontrol	44.00 ^x	44.00	50.00 a	1.447 a [†]	166.00	58.00	74.11 a	4.303 a	111.00	19.00	85.38 ab	2.526 a	74.00	14.00	84.09 a	941 a	29.00	4.00	87.88 a	500 a	424.00	139.00	75.31 a	9.717 a
173 <i>Bacillus megaterium</i> ^{rif 50}	12.00	28.00	30.00 a	532 a	97.00	71.00	57.74 a	2.922 a	86.00	20.00	81.13 ab	2.109 a	53.00	28.00	65.43 a	865 a	10.00	1.00	90.91 ab	177 ab	258.00	148.00	63.55 a	6.605 a
122 <i>Pseudomonas fluorescens</i> ^{rif 30+str 30}	31.00	31.00	50.00 a	1.144 a	153.00	34.00	81.82 a	3.930 a	95.00	8.00	92.23 a	2.011 a	57.00	24.00	70.37 a	657 a	8.00	0.00	100.00 ab	231 ab	344.00	97.00	78.00 a	7.973 a
118 <i>Pseudomonas vesicularis</i> ^{str 30}	16.00	34.00	32.00 a	895 a	144.00	81.00	64.00 a	3.233 a	95.00	30.00	76.00 b	2.161 a	34.00	17.00	66.67 a	553 a	2.00	2.00	50.00 b	74 b	291.00	164.00	63.96 a	6.916 a
2006 Yılı																								
Uygulamalar	1.hasat 19-05-06				2.hasat 26-05-06				3.hasat 02-06-06				4.hasat 10-06-06				Tüm hasatların toplamı							
	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)	-	-	-	-	Enfekteli Meyve Sayısı (adet)	Sağlam Meyve Sayısı (adet)	Enfekteli meyve %'si	Hasat edilen meyve miktarı (g)
Kontrol	33	22	60.00 a	1.012 a	217	339	39.03 a	5.064 a	832	83	90.93 a	8.661 a	33	22	60.00 a	758 a	-	-	-	-	1115	466	70.52 a	15.495 a
173 <i>Bacillus megaterium</i> ^{rif 50}	18	22	45.00 a	862 a	378	330	53.39 a	6.242 a	651	93	87.50 a	6.118 ab	18	22	45.00 a	578 a	-	-	-	-	1065	467	69.52 a	13.800 a
122 <i>Pseudomonas fluorescens</i> ^{rif 30+str 30}	15	28	34.88 a	847 a	549	403	57.67 a	8.342 a	506	73	87.39 a	4.288 ab	15	28	34.88 a	477 a	-	-	-	-	1085	532	67.10 a	13.954 a
118 <i>Pseudomonas vesicularis</i> ^{str 30}	39	38	50.65 a	1.281 a	493	306	61.70 a	7.144 a	351	64	84.58 a	3.684 b	39	38	50.65 a	1.099 a	-	-	-	-	922	446	67.40 a	13.208 a

^xDuncan's Multiple Range Test (p<0.05)

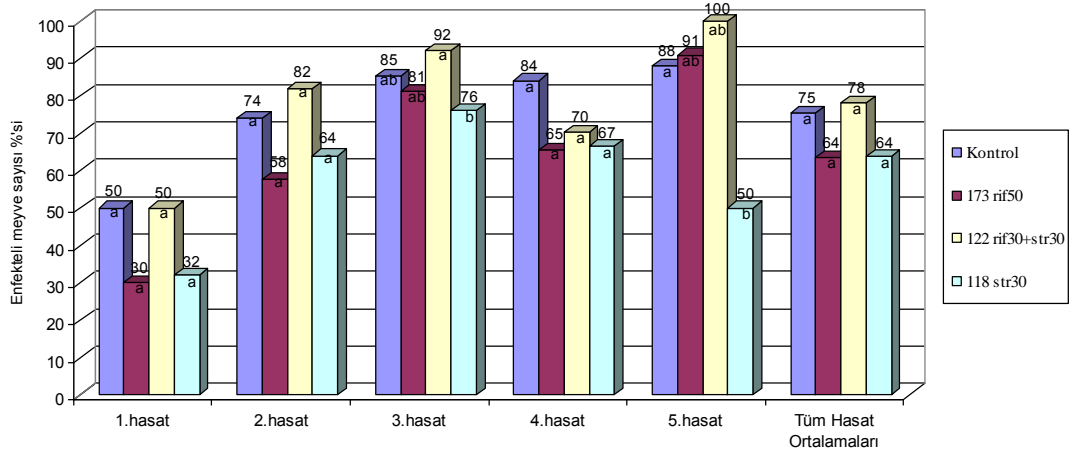
[†]İstatistik analizde p<0.05 önemlilik seviyesinde aynı harfler arasında istatistik anlamda fark bulunmamaktadır.

*İstatistik analizde hasat dönemlerine ait ilgili her bir sütun kendi arasında değerlendirilmiştir.

rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

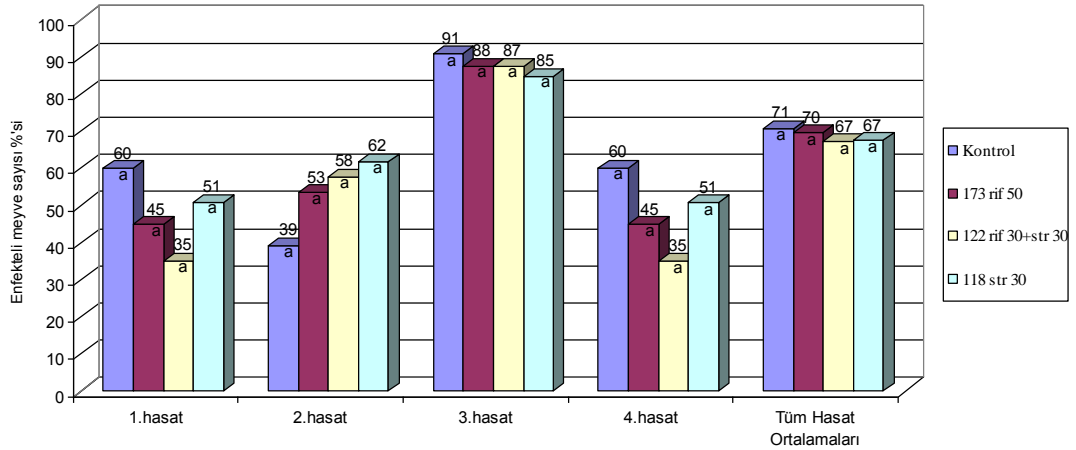
rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat

str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat



rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat
 rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat
 str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.21 2005 yılında Antibiyotik İle İşaretli Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası Muhafazası Sırasında *Botrytis cinerea* İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı



rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat
 rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat
 str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.22 2006 Yılında Antibiyotik İle İşaretli Bakterilerin Uygulandığı Çilek Parsellerinden Alınan Meyvelerin Hasat Sonrası *Botrytis cinerea* İle Enfekte Olmuş Meyve Sayısı

Çizelge 4.7 ve Şekil 4.21’de 2005 yılında antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulamaları yapılan 5 hasat dönemine ait toplam değerler incelendiğinde tüm antibiyotik işaretli bakteri uygulamaları ile kontrol uygulaması arasında hasat sonrası çürümelerin önlenmesi açısından istatistik anlamda bir farklılık görülmemektedir.

Haftalık veriler incelendiğinde beşinci hasat dönemi dışında antibiyotik işaretli bakteri uygulamaları ile kontrol uygulaması arasında hasat sonrası çürümelerin önlenmesi açısından bir farklılık bulunmamaktadır. Beşinci hasat döneminde 118 nolu (*P. vesicularis*) bakterinin antibiyotik işaretli olan uygulamasının istatistik anlamda hasat sonrası çürümelerin önlenmesi açısından daha etkili olduğu görülmektedir.

Uygulama yapılan parsellerden hasat edilen toplam meyve miktarı ve hasat yapılan haftalardaki hasat edilen meyve miktarları incelendiğinde, kontrol ile uygulamalar arasında istatistik anlamda bir fark görülmemiştir.

Çizelge 4.7 ve Şekil 4.22’de 2006 yılında antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulamaları yapılan 4 hasat dönemine ait toplam değerler ve her hasat dönemine ait veriler incelendiğinde, 2005 yılına benzer şekilde tüm antibiyotik işaretli bakteri uygulamaları ile kontrol uygulaması arasında hasat sonrası çürümelerin önlenmesi açısından istatistik olarak bir farklılık görülmemektedir.

Uygulama yapılan parsellerden hasat edilen toplam meyve ve her hasat döneminde toplanan meyve miktarlarına ait veriler incelendiğinde, üçüncü hasat dönemi haricinde, antagonist bakteri ve kontrol uygulamaları arasında istatistik anlamda bir fark görülmemiştir. Üçüncü hasat döneminde antibiyotik işaretli 118 nolu (*P. vesicularis*) bakteri uygulamasından istatistik olarak kontrole göre daha az miktarda meyve hasat edilmiştir.

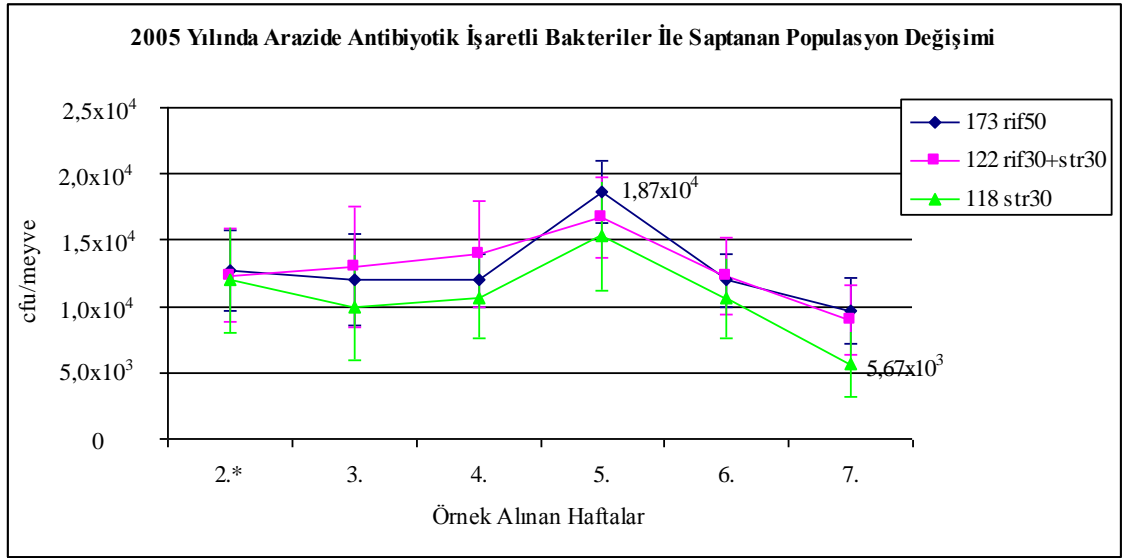
4.5. Antagonistlerin Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi

4.5.1. Antibiyotik İşaretli Bakteriler İle Populasyon Dinamiklerinin İzlenmesi

2005 ve 2006 yıllarında antibiyotik ile işaretli parsellerden alınan çiçek ve meyve örnekleri üzerindeki antagonist bakteri populasyonu hasat öncesi ve sonrasındaki dönemde izlenmiştir. Arazide ilk uygulama yapıldıktan hemen sonra (çiçekler kuruyunca) ilk çiçek örnekleri alınmış ve populasyon düzeyi belirlenmiştir. İkinci hafta uygulama yapılmadan hemen önce 2. çiçek örnekleri alınmış ancak antibiyotikli petrilere her üç bakteriye ait

populasyon tespit edilememiştir. Benzer şekilde 2. uygulama yapıldıktan 1 hafta sonra, diğer bir ifade ile 3. uygulamadan hemen önce tekrar çiçek örnekleri alınmış ve ancak bakteriyel antagonistler yine tespit edilememiştir. Parsellerde yapılan incelemede 1 hafta önce antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulanan çiçeklerin meyve tutumuna geçtiği ve dolayısı ile toplanan çiçeklerin 1 hafta önceki uygulamadan sonra açmış, ancak antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulaması görmemiş oldukları belirlenmiştir. Bu nedenle çiçek örneği 3. uygulamadan sonra alınmamıştır. İkinci uygulamadan itibaren meyve örnekleri alınmaya başlanmıştır. İkinci uygulamadan hemen önce alınan meyve örneği (diğer uygulamadanlardan hemen önce alınan meyve örneklerinde olduğu gibi) bir hafta önce yapılan 1. uygulamadan itibaren, bir hafta sonra bakteriyel antagonistlerin meyve üzerindeki kolonizasyon düzeylerini göstermektedir. İkinci uygulamadan hemen sonra alınan meyve örneğindeki populasyon seviyesi de başlangıçtaki bakteriyel populasyon düzeyi olarak kabul edilmiştir. İkinci uygulamadan sonraki haftalarda da uygulamadan hemen önce meyvelerden örneklerin alınması sürdürülmüştür. 2006 yılında 2. uygulamadan sonra meyve tutumları çok yeni olduğundan örnek alımları 3. uygulamadan hemen önce ve hemen sonrasında yapılmıştır. Şekil 4.23 ve Şekil 4.24’de, 2005 ve 2006 yıllarında arazide antibiyotik işaretli bakteriler ile saptanan populasyon değişimi verilmiştir.

2005 yılında arazide ilk uygulamadan hemen sonra çiçek başına 173 nolu (*B. megaterium*) bakteriyel antagonist uygulamasında 6×10^5 cfu/çiçek, 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteriyel antagonist uygulamasında 5.2×10^5 cfu/çiçek, 118 nolu (*P. vesicularis*) bakteriyel antagonist uygulamasında 4.6×10^5 cfu/çiçek olarak populasyon düzeyleri saptanmıştır. Şekil 4.23’e göre 2. uygulamadan hemen önce alınan çiçek örneklerinden herhangi bir bakteriyel populasyon elde edilememiştir. Tüm haftalardaki uygulamalardan hemen önce alınan meyve örneklerinden $5.67 \times 10^3 - 1.87 \times 10^4$ cfu/meyve aralığında bakteri populasyonları elde edilmiştir. Ancak bakteri türleri arasında uygulamalarda farklılık görülmemiştir. Beşinci örnek alımında tüm bakterilerin en yüksek kolonizasyon seviyelerinde oldukları görülmüş, 6. ve 7. örnek alımlarında tüm bakterilerin populasyon seviyelerinin düştüğü tespit edilmiştir.



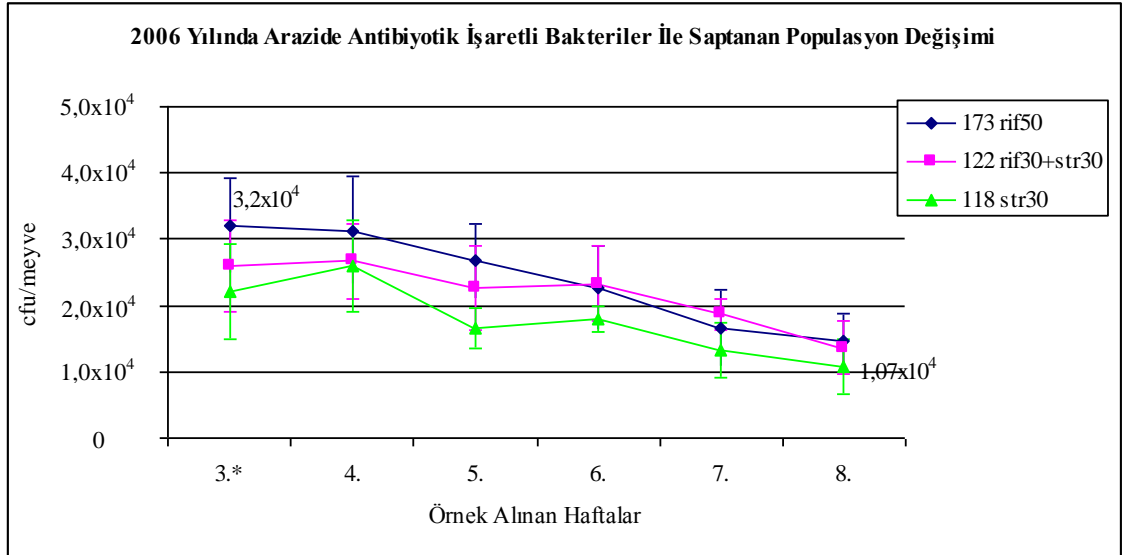
*Arazide 2. uygulamadan hemen sonra antagonist bakteri populasyonları 173 nolu (*Bacillus megaterium*) antibiotik işaretli bakteri 5.45×10^5 ($\pm 1.21 \times 10^4$) cfu/meyve, 122 nolu (*Pseudomonas fluorescens*) antibiotik işaretli bakteri 5.02×10^5 ($\pm 2.07 \times 10^4$) cfu/meyve ve 118 nolu (*Pseudomonas vesicularis*) antibiotik işaretli bakteri 5.10×10^5 ($\pm 4.20 \times 10^4$) cfu/meyve olarak bulunmuştur.

rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat

str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.23 2005 Yılında Arazide Antibiyotik İşaretli Bakteriler İle Saptanan Populasyon Değişimi



*Arazide 3. uygulamadan hemen sonra antagonist bakteri populasyonları 173 nolu (*Bacillus megaterium*) antibiotik işaretli bakteri 5.85×10^5 ($\pm 2.48 \times 10^4$) cfu/meyve, 122 nolu (*Pseudomonas fluorescens*) antibiotik işaretli bakteri 5.55×10^5 ($\pm 1.50 \times 10^4$) cfu/meyve ve 118 nolu (*Pseudomonas vesicularis*) antibiotik işaretli bakteri 5.20×10^5 ($\pm 2.8 \times 10^4$) cfu/meyve olarak bulunmuştur.

rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat

str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.24 2006 Yılında Arazide Antibiyotik İşaretli Bakteriler İle Saptanan Populasyon Değişimi

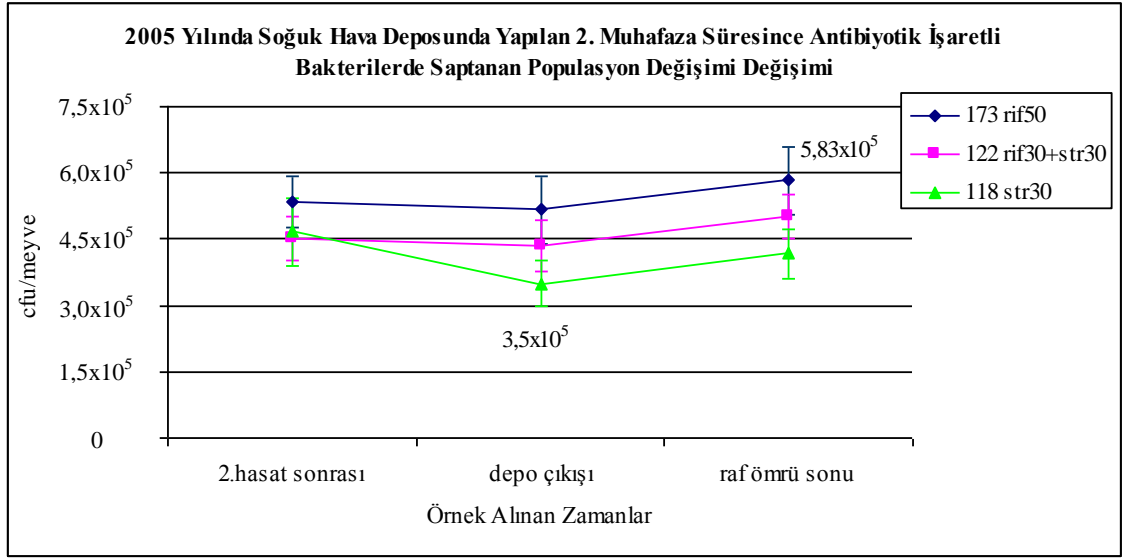
2006 yılında da arazide ilk uygulamadan hemen sonra çiçek başına 173 nolu (*B. megaterium*) bakteriyel antagonist uygulamasında 2.8×10^5 cfu/çiçek, 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteriyel antagonist uygulamasında 2.2×10^5 cfu/çiçek, 118 nolu (*P. vesicularis*) bakteriyel antagonist uygulamasında 1.6×10^5 cfu/çiçek olarak populasyon düzeyleri saptanmıştır. Şekil 4.24'e göre 2. ve 3. uygulamadan hemen önce alınan çiçek örneklerinden herhangi bir bakteriyel populasyon elde edilememiş ve meyve örnekleri ile çalışmaya devam edilmiştir. Üç ve altıncı haftalar arasındaki uygulamalardan hemen önce alınan meyve örneklerinden 1.07×10^4 - 3.2×10^4 cfu/meyve aralığında bakteri populasyonları elde edilmiştir. Ancak bakteri türleri arasında uygulamalarda farklılık görülmemiştir. Bakterilerin canlılığı sezon sonuna kadar azalarak devam etmiştir.

Bakteriyel populasyonun soğuk hava deposundaki muhafaza sonrasında ve raf ömrü sonundaki değişimi, 2005 yılı içinde arazide 4. ve 6. uygulamalardan sonra alınan meyve örneklerinde belirlenmiştir. Bu dönemler o yıl içinde yapılan 2. ve 4. hasadı ifade etmektedir. 2006 yılında da benzer şekilde 2. ve 3. hasadı ifade etmektedir.

Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da 2005 yılında soğuk hava deposunda yapılan 2. ve 4. muhafazalar süresince antibiyotik işaretli bakterilerde saptanan populasyon değişimi, Şekil 4.27 ve Şekil 4.28'de 2006 yılında soğuk hava deposunda yapılan 2. ve 3. muhafazalar süresince antibiyotik işaretli bakterilerde saptanan populasyon değişimi gösterilmiştir.

2005 yılında, Şekil 4.25'e göre soğuk hava deposunda yapılan 2. muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda 3.50×10^5 - 5.83×10^5 cfu/meyve aralığında, Şekil 4.26'ya göre 4. muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda 2.67×10^5 - 4.50×10^5 cfu/meyve aralığında antibiyotik işaretli bakteri populasyonunun değiştiği görülmektedir. Her iki muhafazada da bakteri uygulamaları arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir. Bakteri populasyonlarının soğuk hava deposunda bir miktar azaldığı, ancak raf ömrü sonunda soğuk hava deposuna girdikleri seviyenin üstüne çıktıkları tespit edilmiştir.

2006 yılında, Şekil 4.27'ye göre soğuk hava deposunda yapılan 2. muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda 5.50×10^5 - 9.0×10^5 cfu/meyve aralığında, Şekil 4.28'e göre 3. muhafaza ve 2 günlük raf ömrü sonunda 3.50×10^5 - 5.0×10^5 cfu/meyve aralığında antibiyotik işaretli bakteri populasyonunun değiştiği görülmektedir. Her iki muhafaza döneminde de bakteri uygulamaları arasında 2005 yılına benzer biçimde önemli bir fark tespit edilmemiştir. Bakteri populasyonlarının soğuk hava deposunda bir miktar azaldığı, ancak raf ömrü sonunda soğuk hava deposuna girdikleri seviyenin üstüne çıktıkları tespit edilmiştir.

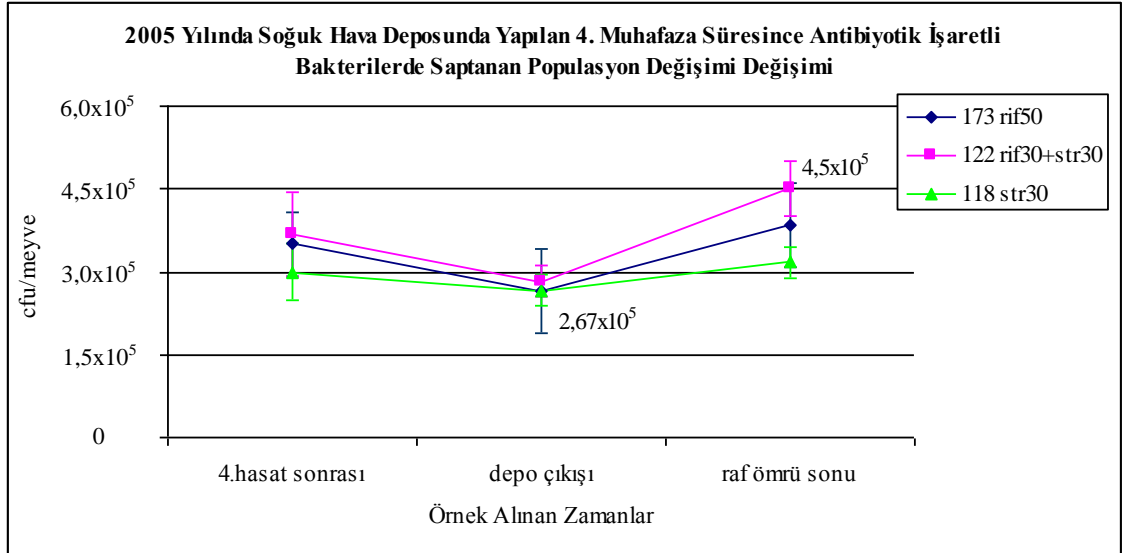


rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat

str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.25 2005 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi

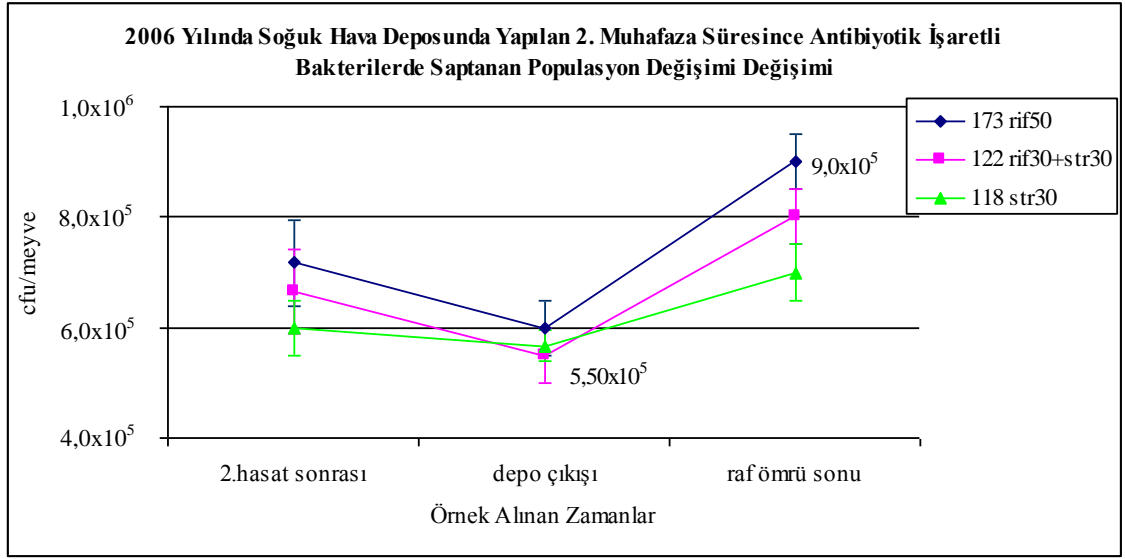


rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat

str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.26 2005 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 4. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi

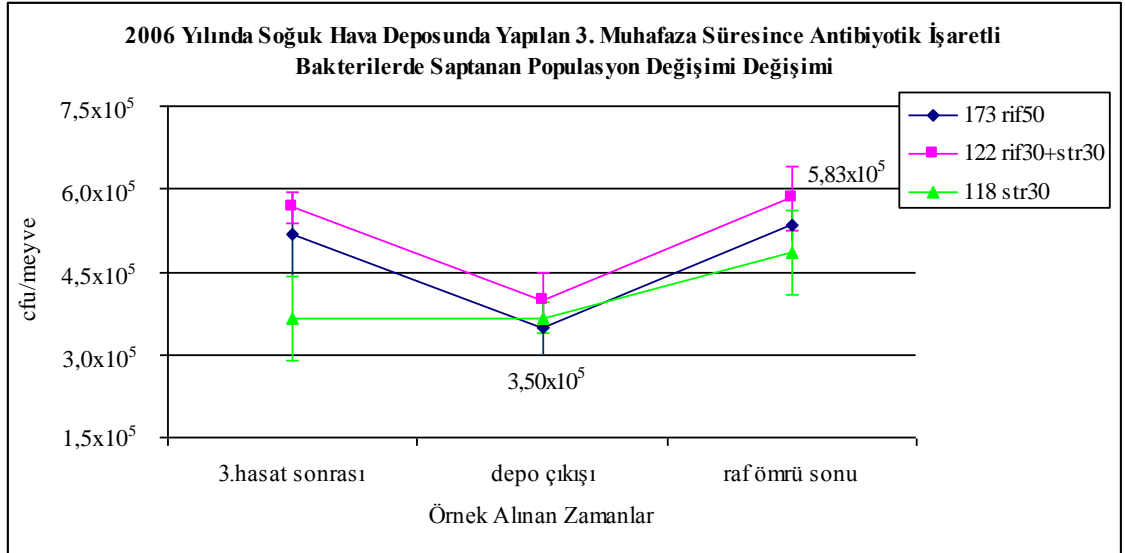


rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat

str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.27 2006 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi



rif 50: Rifampicinin 50 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

rif 30+str 30: Rifampicinin 30 ppm, streptomycinin 30 ppm dozlarının karışımı ile etiketlenmiş izolat

str 30: Streptomycinin 30 ppm dozu ile etiketlenmiş izolat

Şekil 4.28 2006 Yılında Soğuk Hava Deposunda Yapılan 3. Muhafaza Süresince Antibiyotik İşaretli Bakterilerde Saptanan Populasyon Değişimi

4.5.2. RAPD-PCR Tekniği İle Populasyon Dinamiğinin İzlenmesi

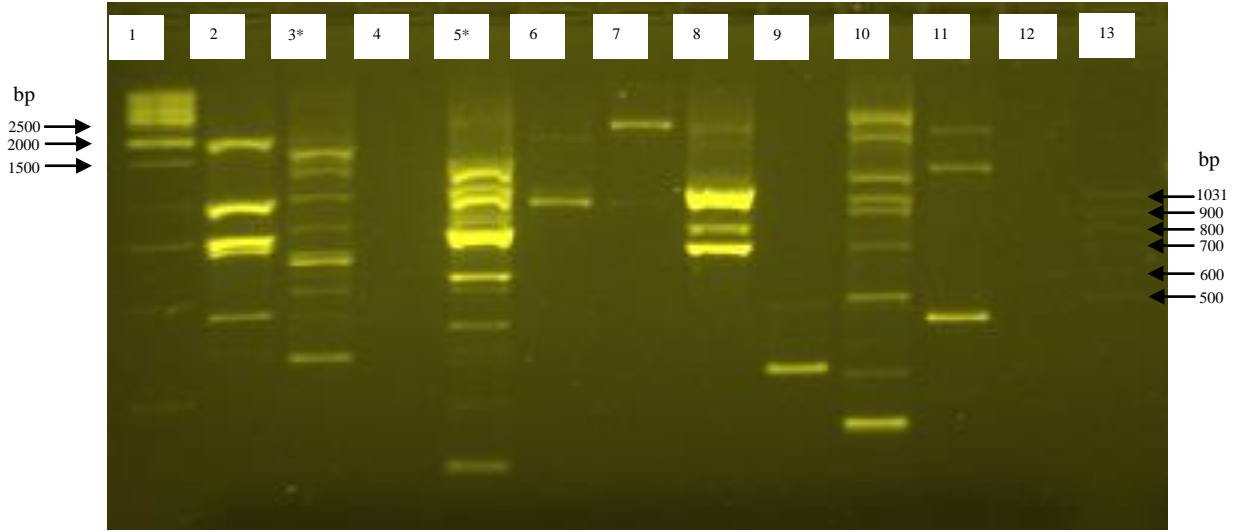
2005 ve 2006 yıllarında arazide doğal bakteriyel antagonist uygulamalarının yapıldığı parsellerden toplanarak, ilgili antagonist bakteriye morfolojik açıdan benzeyen izolatların DNA izolasyonları yapılmıştır.

2005 yılında arazi ve muhafaza sırasında orjinal doğal izolata morfolojik açıdan benzediği için 173 nolu (*B. megaterium*) bakteriye ait 58 izolat, 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteriye ait 65 izolat, 118 nolu (*P. vesicularis*) bakteriye ait 48 izolat elde edilmiştir. Bunlardan DNA izolasyonu için santrifüj yapılması sonucu, 173 nolu (*B. megaterium*) bakterinin uygulandığı parsellerden alınan izolatlarda 8'inin, 122 nolu (*P. fluorescens*) bakterinin uygulandığı parsellerden alınan izolatlardan 3'ünün ve 118 nolu (*P. vesicularis*) bakterilerinin uygulandığı parsellerden alınan izolatlardan 9'unun hücre çökeltilerinin, orjinal izolatların hücre çökeltilerinden farklı bir renk vermeleri sebebi ile elenmelerine karar verilmiştir.

2006 yılında arazi ve muhafaza sırasında orjinal doğal izolata morfolojik açıdan benzediği için 173 nolu (*B. megaterium*) bakterinin uygulandığı parsellerden 60 izolat, 122 nolu (*P. fluorescens*) bakterinin uygulandığı parsellerden 68 izolat, 118 nolu (*P. vesicularis*) bakterilerinin uygulandığı parsellerden 55 izolat seçilmiştir. Bunlardan DNA izolasyonu yapılması amacı ile santrifüj yapılması sonucu, 173 nolu (*B. megaterium*) bakterinin uygulandığı parsellerden alınan izolatlardan 6'sının, 122 nolu (*P. fluorescens*) bakterinin uygulandığı parsellerden alınan izolatlardan 8'inin ve 118 nolu (*P. vesicularis*) bakterilerinin uygulandığı parsellerden alınan izolatlardan 7'sinin hücre çökeltilerinin, orjinal izolatların hücre çökeltilerinden farklı bir renk vermeleri sebebi ile elenmelerine karar verilmiştir.

Orjinal izolatların (173, 122, 118 nolu bakteriler) DNA'ları izole edilerek her biri S30-39 primer dizisi ile RAPD-PCR protokolüne tabi tutulmuşlar ve her bir izolat için uygun iki primer seçilmiştir (Şekil 4.29, Şekil 4.30 ve Şekil 4.31).

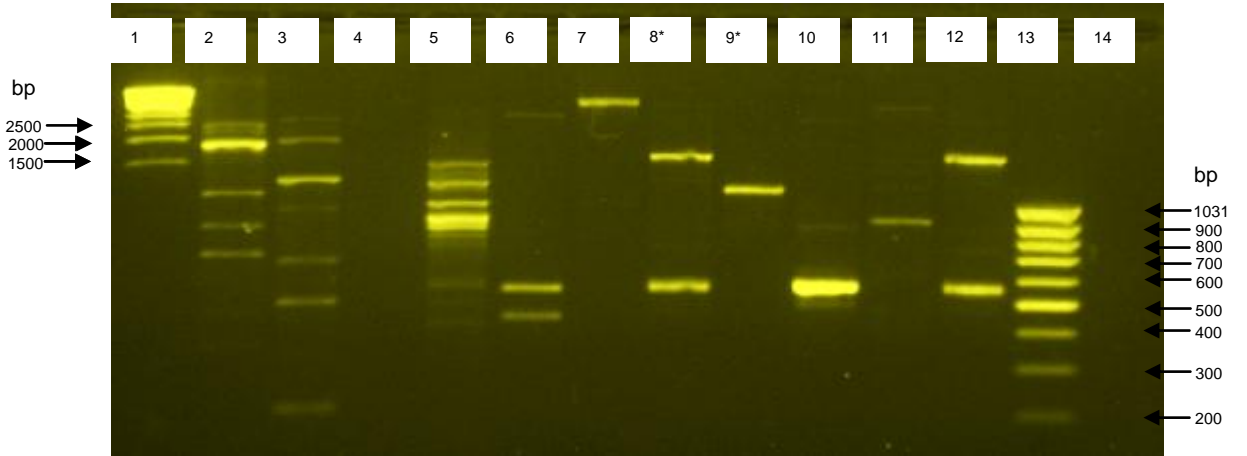
Şekil 4.32, Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'de doğal bakteriler ile yapılan arazi uygulamalarından sonra orjinal izolata morfolojik benzerliklerinden dolayı seçilen bakteriyel izolatlar ile orjinal izolatların her birine ait RAPD-PCR protokolü sonucu elde edilen jel fotoğrafları gösterilmiştir.



Şekil 4.29 122 nolu *Pseudomonas fluorescens*'in S30-S39 dizisindeki RAPD primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar.

1-Marker high range, 2-S30 primeri, 3-S31 primeri, 4-S32 primeri, 5-S33 primeri, 6-S34 primeri, 7-S35 primeri, 8-S36 primeri, 9-S37 primeri, 10-S38 primeri, 11-S39 primeri, 12-Kontrol, 13-Marker low range

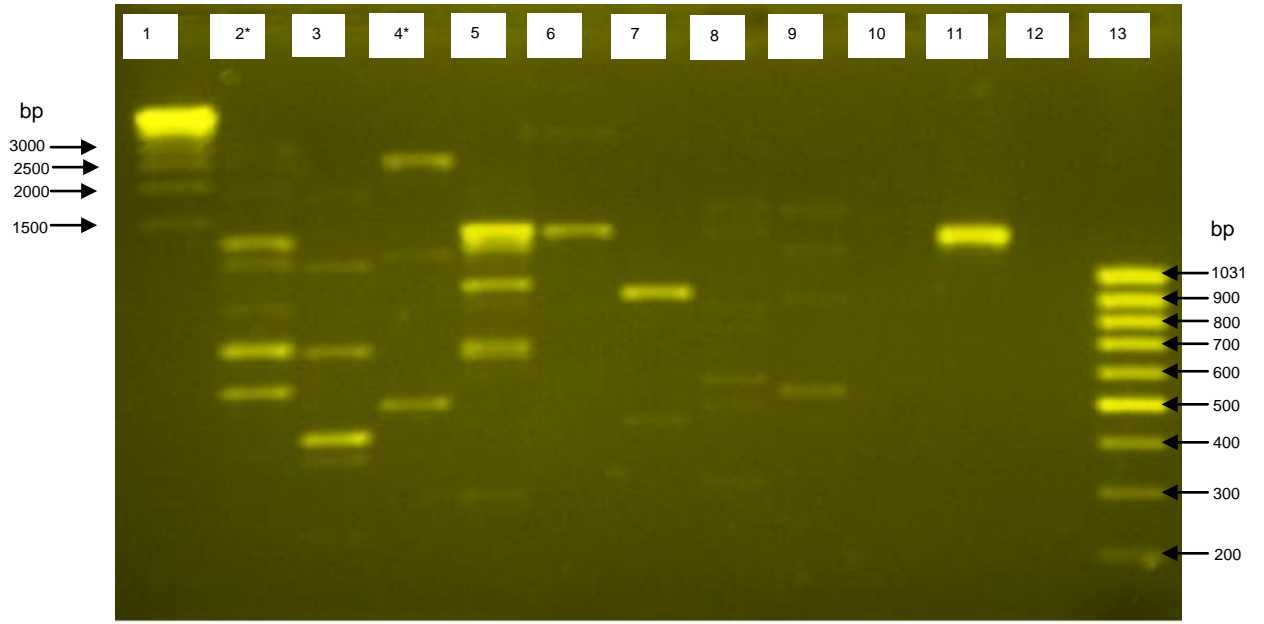
*122 nolu *Pseudomonas fluorescens*'e ait reaksiyonlarda kullanılan primerler.



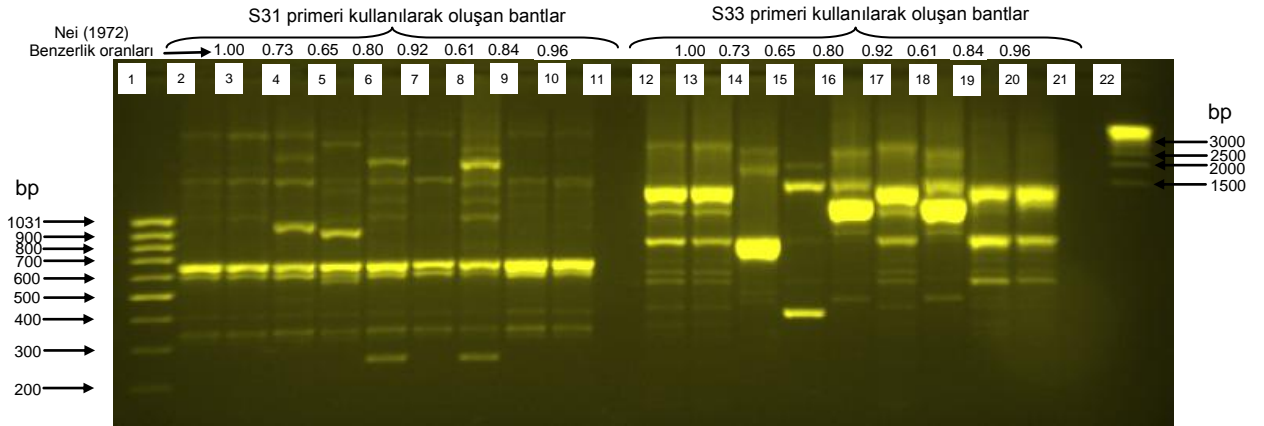
Şekil 4.30 118 nolu *Pseudomonas vesicularis*'in S30-S39 dizisindeki RAPD primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar.

1-Marker high range, 2-S30 primeri, 3-S31 primeri, 4-S32 primeri, 5-S33 primeri, 6-S34 primeri, 7-S35 primeri, 8-S36 primeri, 9-S37 primeri, 10-S38 primeri, 11-S39 primeri, 12-S36 primeri, 13-Marker low range, 14-Kontrol

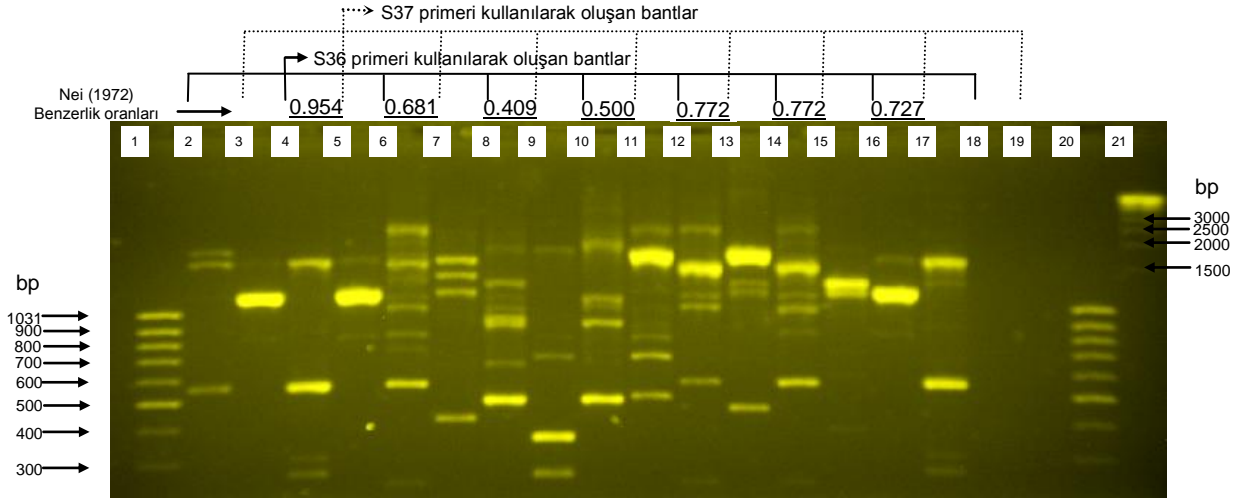
*118 nolu *Pseudomonas vesicularis*'e ait reaksiyonlarda kullanılan primerler.



Şekil 4.31 173 nolu *Bacillus megaterium*'un S30-S39 dizisindeki RAPD primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar.
 1-Marker high range, 2-S30 primeri, 3-S31 primeri, 4-S32 primeri, 5-S33 primeri, 6-S34 primeri, 7-S35 primeri, 8-S36 primeri, 9-S37 primeri, 10-S38 primeri, 11-S39 primeri, 12-Kontrol, 13-Marker low range
 *173 nolu *Bacillus megaterium*'a ait reaksiyonlarda kullanılan primerler.

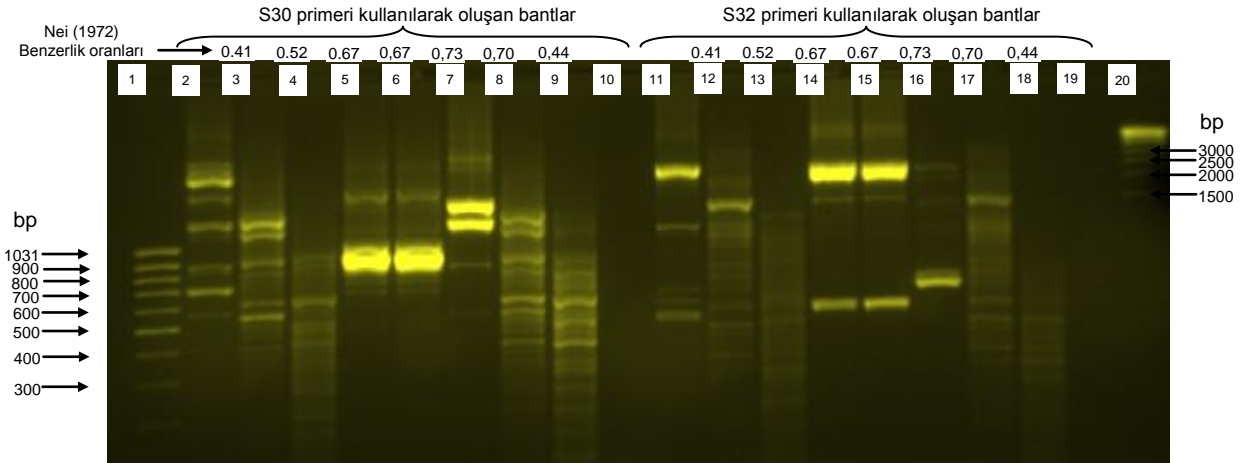


Şekil 4.32 122 nolu *Pseudomonas fluorescens*'in uygulandığı parsellerden alınan ve morfolojik olarak orjinal izolata benzerliği bulunan bazı izolatların S31 ve S33 primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar.
 1-Marker low range, 2-122 orjinal izolat, 3-D3-25 izolatı, 4-D3-20 izolatı, 5-D3-19 izolatı, 6-D3-18 izolatı, 7-D3-17 izolatı, 8-D3-16 izolatı, 9-D3-15 izolatı, 10-D3-14 izolatı, 11-Kontrol, 12-122 orjinal izolat, 13-D3-25 izolatı, 14-D3-20 izolatı, 15-D3-19 izolatı, 16-D3-18 izolatı, 17-D3-17 izolatı, 18-D3-16 izolatı, 19-D3-15 izolatı, 20-D3-14 izolatı, 21-Kontrol, 22-Marker high range



Şekil 4.33 118 nolu *Pseudomonas vesicularis*'in uygulandığı parsellerden alınan ve morfolojik olarak orjinal izolata benzerliği bulunan bazı izolatların S36 ve S37 primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar.

1-Marker low range, 2,3-118 orjinal izolat, 4,5-D1-21 izolatı, 6,7-D1-22 izolatı, 8,9-D1-23 izolatı, 10,11-D1-24 izolatı, 12,13-D1-25 izolatı, 14,15-D1-26 izolatı, 16,17-D1-27 izolatı, 18,19-Kontrol, 20-Marker low range, 21- Marker high range



Şekil 4.34 173 nolu *Bacillus megaterium*'un uygulandığı parsellerden alınan ve morfolojik olarak orjinal izolata benzerliği bulunan bazı izolatların S30 ve S32 primerleri ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu elde edilen bantlar.

1-Marker low range, 2-173 orjinal izolat, 3-D1-23 izolatı, 4-D1-21 izolatı, 5-D1-20-1 izolatı, 6-D1-20 izolatı, 7-D1-19 izolatı, 8-D1-18 izolatı, 9-D1-17E izolatı, 10-Kontrol, 11-173 orjinal izolat, 12-D1-23 izolatı, 13-D1-21 izolatı, 14-D1-20-1 izolatı, 15-D1-20 izolatı, 16-D1-19 izolatı, 17-D1-18 izolatı, 18-D1-17E izolatı, 19-Kontrol, 20-Marker high range

Şekil 4.29'a göre *P. fluorescens*'in S30-39 primer dizisi ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu daha sonra populasyon izlenmesine yönelik yapılan RAPD-PCR reaksiyonlarında S31 ve S33 nolu primerlerin kullanılmasına, Şekil 4.30'a göre *P. vesicularis*'in S30-39 primer dizisi ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu daha sonra populasyon izlenmesine yönelik yapılan RAPD-PCR reaksiyonlarında S36 ve S37 nolu primerlerin kullanılmasına, Şekil 4.31'e göre *B. megaterium*'un S30-39 primer dizisi ile RAPD-PCR reaksiyonu sonucu daha sonra populasyon izlenmesine yönelik yapılan RAPD-PCR reaksiyonlarında S30 ve S32 nolu primerlerin kullanılmasına karar verilmiştir.

Şekil 4.32'de *P. fluorescens*'in uygulandığı parsellerden izole edilen bazı izolatların S31 ve S33 primerleri ile reaksiyonundan elde edilen RAPD-PCR bantları verilmiştir. Fotoğrafta bir izolatın orjinal izolata benzerlik oranının 1.00 (%100) olduğu görülmektedir. Diğer izolatlarında orjinal izolata benzerlik oranları da 0.6-.096 (%60-%96) arasında tespit edilmiştir. İki izolatın orjinal izolata benzerlik oranları %70'in altında olmuştur. Şekil 4.33'de *P. vesicularis*'in uygulandığı parsellerden izole edilen bazı izolatların S36 ve S37 primerleri ile reaksiyonundan elde edilen RAPD-PCR bantları verilmiştir. Orjinal izolata benzerlik oranının 1.00 (%100) olduğu izolat bulunmamıştır. Diğer izolatlarında orjinal izolata benzerlik oranları da 0.409-.0954 (%40.9-%95.4) arasında tespit edilmiştir. Üç izolatın orjinal izolata benzerlik oranları %70'in altında olmuştur. Şekil 4.34'de *B. megaterium*'un uygulandığı parsellerden izole edilen bazı izolatların S30 ve S32 primerleri ile reaksiyonundan elde edilen RAPD-PCR bantları verilmiştir. Orjinal izolata benzerlik oranının 1.00 (%100) olduğu izolat bulunmamıştır. Diğer izolatlarında orjinal izolata benzerlik oranları da 0.41-0.73 (%41-%73) arasında tespit edilmiştir. Beş izolatın orjinal izolata benzerlik oranları %70'in altında olmuştur.

Çizelge 4.8'de 2005 ve 2006 yıllarında araziden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların orjinal izolatlar ile benzerlik oranları belirtilmiştir.

Çizelge 4.8'de göre 2005 ve 2006 yıllarında Nei (1972)'ye göre 122 nolu (*P. fluorescens*) doğal bakterinin uygulandığı parsellerden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların benzerlik oranları %28.57 ile %100 arasında. 173 nolu (*B. megaterium*) doğal bakterinin uygulandığı parsellerden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların benzerlik oranları %41.18 ile %73.53 arasında. 118 nolu (*P. vesicularis*) doğal

bakterinin uygulandığı parsellerden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların benzerlik oranları ise %40.91 ile %95.45 arasında bulunmuştur

2005 ve 2006 yıllarında doğal bakterinin uygulandığı parsellerden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların benzerlik oranları 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteriye ait bazı bireylerdeki (8 izolat) benzerlik oranının %100 olarak bulunması dışında. 118 (*P. vesicularis*) ve 173 nolu (*B. megaterium*) bakterilere ait izolatlarda %100 benzerlik oranı tespit edilememiştir. Şekil 4.26'da 122 nolu *P. fluorescens* bakterisinin S31 ve S33 nolu primerleri ile verdiği RAPD-PCR reaksiyonu incelendiğinde. 122 nolu orjinal izolatın yanında bulunan ve her iki primer ile de aynı bantları veren örnek orjinal izolata %100 benzemektedir. Bu izolatın yanında ise %73 benzerlik oranına sahip başka bir izolatın verdiği bantlar incelendiğinde pek çok ortak bantın bulunduğu görülmektedir. Özellikle S31 primeri ile reaksiyonda orjinal izolata benzer pek çok bantın bulunması ve tekrarlanan RAPD-PCR reaksiyonlarında her zaman aynı bantların alınamaması DNA dizisinin analizine dayanmayıp polimorfizmin etkin Şekilde değerlendirilmesine uygun bir yöntem olması sebebi ile %70 ve üzerinde benzerlik gösteren izolatlar da orjinal izolattaki bakteri olarak kabul edilmiş ve değerlendirilme yapılmıştır.

Çizelge 4.8 2005 ve 2006 yıllarında araziden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların orjinal izolatlar ile % benzerlik oranları

2005 Yılı			
İzolat No:	173 nolu bakteriye ait parsellerden	122 nolu bakteriye ait parsellerden	118 nolu bakteriye ait parsellerden
1	43.33	59.09	95.45
2	60.00	63.64	68.18
3	53.33	77.27	40.91
4	70.00	90.91	50.00
5	73.33	95.45	77.27
6	66.67	63.64	77.27
7	73.33	77.27	72.73
8	66.67	68.18	75.00
9	62.50	100.00	60.47
10	66.07	73.08	79.22
11	70.57	65.38	41.18
12	72.79	80.77	65.34
13	71.43	92.31	82.92
14	66.79	61.54	71.55
15	70.40	84.62	41.90
16	43.98	96.15	77.54
17	69.54	40.74	82.45
18	72.11	92.59	77.53
19	71.18	96.30	45.18
20	45.40	40.74	42.34
21	72.29	88.89	61.67
22	61.33	76.32	69.90
23	67.47	92.11	80.01
24	71.88	76.32	61.60
25	70.55	52.63	77.42
26	72.26	52.63	63.19
27	55.21	52.63	76.10
28	73.45	76.32	84.32
29	54.13	76.32	83.43
30	60.97	97.56	49.09
31	66.06	48.78	75.52
32	70.47	58.54	55.12
33	73.10	92.68	90.14
34	47.50	92.68	78.08
35	49.92	92.68	56.11
36	70.16	56.10	72.12
37	73.30	53.66	76.98
38	71.68	76.53	50.50
39	53.49	74.49	73.56
40	64.32	68.37	-
41	64.81	65.31	-
42	47.98	65.31	-
43	45.79	67.35	-
44	72.52	77.42	-

Çizelge 4.8 (devam) 2005 ve 2006 yıllarında araziden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların orjinal izolatlar ile % benzerlik oranları

2005 Yılı			
İzolat No:	173 nolu bakteriye ait parsellerden	122 nolu bakteriye ait parsellerden	118 nolu bakteriye ait parsellerden
45	71.29	61.29	-
46	46.67	70.97	-
47	70.23	62.90	-
48	71.17	62.90	-
49	72.49	62.90	-
50	70.48	67.74	-
51	-	70.41	-
52	-	67.35	-
53	-	38.87	-
54	-	67.86	-
55	-	82.29	-
56	-	92.86	-
57	-	71.43	-
58	-	80.36	-
59	-	75.36	-
60	-	81.46	-
61	-	76.56	-
62	-	71.40	-
2006 yılı			
1	41.18	85.71	55.84
2	52.94	28.57	70.18
3	67.65	92.86	74.49
4	67.65	57.14	45.36
5	73.53	100.00	61.19
6	70.59	100.00	59.07
7	44.12	85.71	74.40
8	71.00	100.00	73.47
9	70.18	40.91	61.98
10	63.05	50.00	66.43
11	69.55	90.91	80.71
12	63.13	100.00	55.02
13	63.42	100.00	44.27
14	66.90	100.00	42.72
15	64.87	86.36	75.46
16	72.42	90.91	58.42
17	70.37	90.91	63.06
18	70.11	100.00	71.70
19	66.86	40.91	84.45
20	65.55	68.18	78.68
21	62.34	86.36	70.07
22	66.36	63.64	59.38
23	63.45	86.36	60.10
24	68.58	89.47	72.07

Çizelge 4.8 (devam) 2005 ve 2006 yıllarında araziden ve hasat sonu çalışmalarından elde edilen izolatların orjinal izolatlar ile % benzerlik oranları

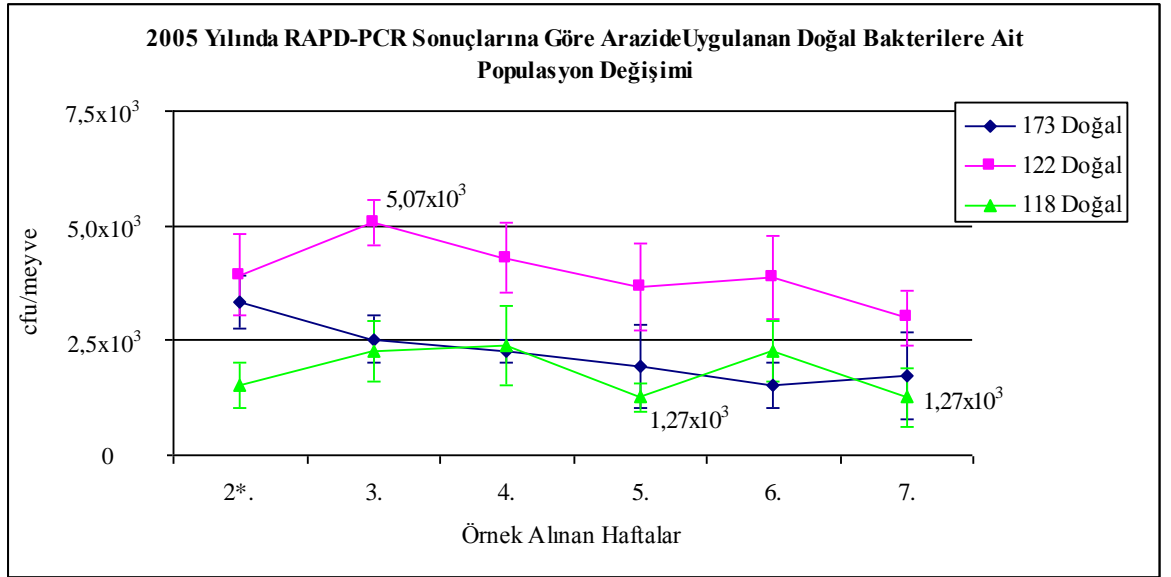
2006 Yılı			
İzolat No:	173 nolu bakteriye ait parsellerden	122 nolu bakteriye ait parsellerden	118 nolu bakteriye ait parsellerden
25	71.52	73.68	63.20
26	73.02	78.95	71.90
27	58.23	89.47	49.20
28	56.47	52.63	47.16
29	64.22	89.47	58.05
30	65.80	47.37	83.04
31	63.06	52.63	72.62
32	67.32	56.10	55.50
33	68.73	60.98	70.97
34	70.12	73.17	68.16
35	69.59	48.78	69.12
36	45.22	60.98	77.39
37	63.75	51.22	73.41
38	72.93	51.22	67.26
39	67.42	64.44	76.18
40	61.34	78.40	72.79
41	66.79	77.32	56.73
42	58.21	65.42	81.47
43	45.70	72.32	47.05
44	64.44	48.48	73.50
45	69.83	61.87	77.26
46	57.47	68.90	58.69
47	70.50	54.26	72.71
48	66.16	76.27	56.38
49	67.88	56.91	-
50	71.68	77.88	-
51	71.27	60.65	-
52	72.76	57.15	-
53	48.54	63.78	-
54	66.52	77.42	-
55	-	59.46	-
56	-	52.58	-
57	-	78.65	-
58	-	70.88	-
59	-	59.38	-
60	-	72.27	-

Çizelge 4.8'e göre 2005 yılında %70 ve üzeri benzerlik oranını gösteren 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteriye ait 33 adet izolat. 173 nolu (*B. megaterium*) bakteriye ait 27 adet izolat ve 118 nolu (*P. vesicularis*) bakteriye ait 22 adet izolat olduğu tespit edilmiştir. 2006 yılında ise %70 ve üzeri benzerlik oranını gösteren 122 nolu (*P. fluorescens*) bakteriye ait 33 adet izolat. 173 nolu (*B. megaterium*) bakteriye ait 29 adet izolat ve 118 nolu (*P. vesicularis*) bakteriye ait 25 adet izolat olduğu bulunmuştur.

Şekil 4.35 ve Şekil 4.36'da 2005 ve 2006 yıllarında RAPD-PCR sonuçlarına göre arazide uygulanan doğal bakterilere ait populasyon değişimi gösterilmiştir.

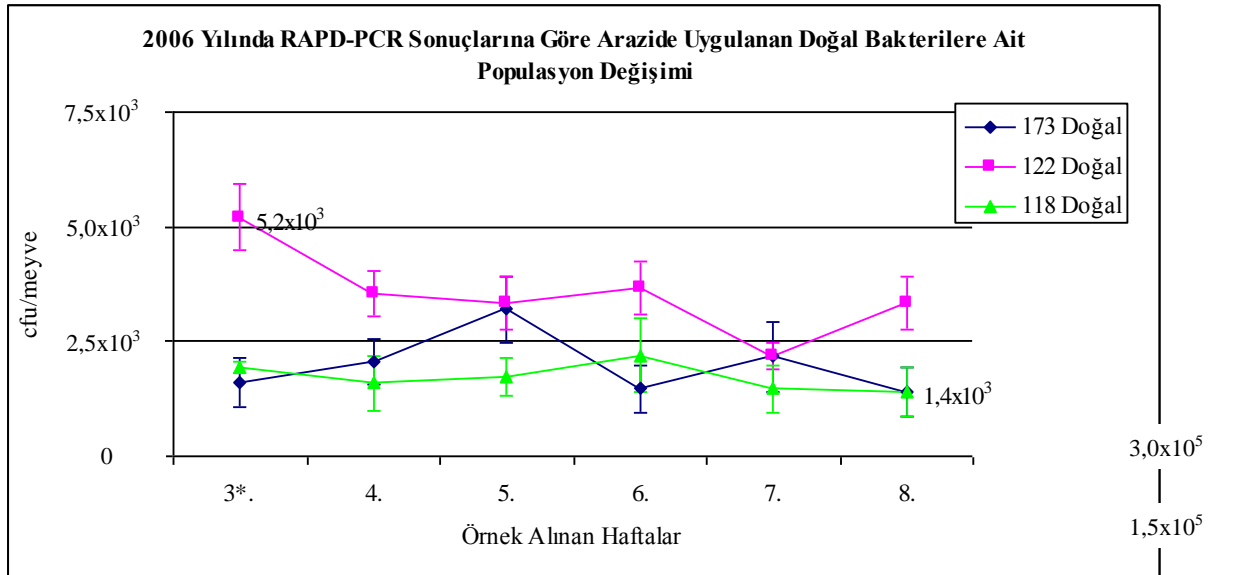
Şekil 4.35'e göre arazide 2005 yılında benzerlik oranı %70 ve üzerinde bulunan izolatlar dikkate alındığında uygulamalardan hemen önce alınan bakterilerin populasyonlarının 1.27×10^3 - 5.07×10^3 cfu/meyve aralığında değiştiği görülmektedir. Bakterilerin populasyon seviyelerinin yaklaşık 10^3 'ler düzeyinde olduğu görülmektedir. Benzer şekilde Şekil 4.36'da 2006 yılında benzerlik oranı %70 ve üzerinde bulunan dikkate alındığında uygulamalardan hemen önce alınan bakterilerin populasyonlarının 1.40×10^3 - 5.20×10^3 cfu/meyve aralığında değiştiği görülmektedir. Bakterilerin populasyon seviyeleri yaklaşık 10^3 'ler düzeyindedir.

2005 ve 2006 yıllarında soğuk hava deposunda yapılan muhafazalar sonucunda. benzerlik oranı %70 ve üzerinde bulunan bakteriyel populasyonun soğuk hava deposunda ve raf ömrü sonundaki değişimleri belirlenmiştir (Şekil 4.37, Şekil 4.38, Şekil 4.39 ve Şekil 4.40).



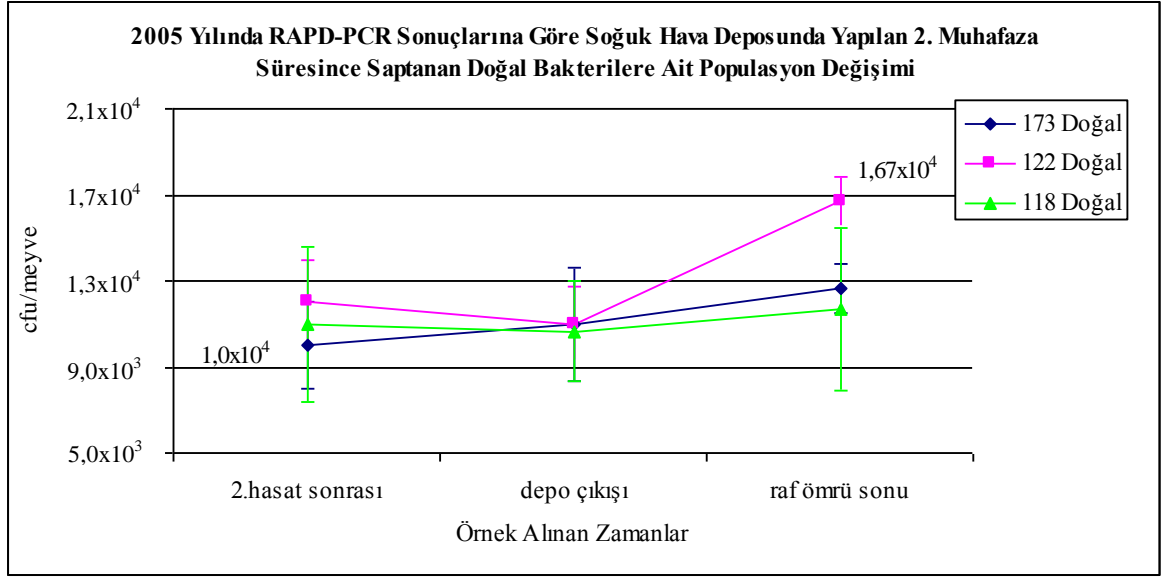
*Arazide 2. uygulamadan hemen sonra antagonist bakteri populasyonları 173 nolu doğal bakterisi 2.40×10^4 ($\pm 1.10 \times 10^3$) cfu/meyve, 122 nolu doğal bakterisi 2.36×10^4 ($\pm 2.62 \times 10^3$) cfu/meyve ve 118 nolu doğal bakterisi 1.30×10^4 ($\pm 4.36 \times 10^3$) cfu/meyve olarak bulunmuştur.

Şekil 4.35 2005 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Arazide Uygulanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi

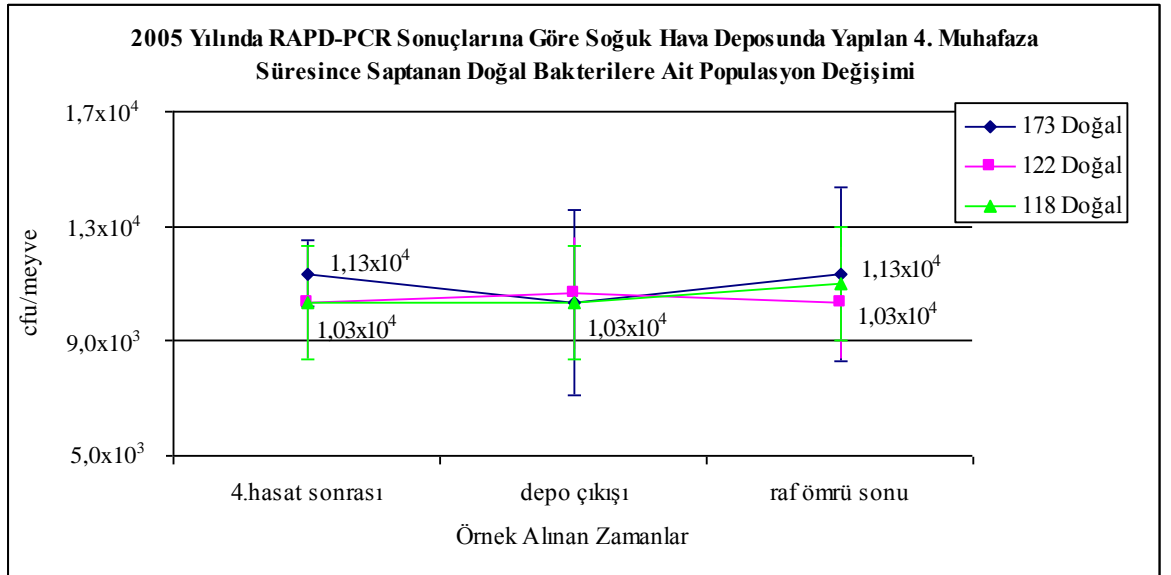


*Arazide 3. uygulamadan hemen sonra antagonist bakteri populasyonları 173 nolu doğal bakterisi 3.10×10^4 ($\pm 2.15 \times 10^2$) cfu/meyve, 122 nolu doğal bakterisi 3.56×10^4 ($\pm 9.05 \times 10^2$) cfu/meyve ve 118 nolu doğal bakterisi 1.70×10^4 ($\pm 2.38 \times 10^2$) cfu/meyve olarak bulunmuştur.

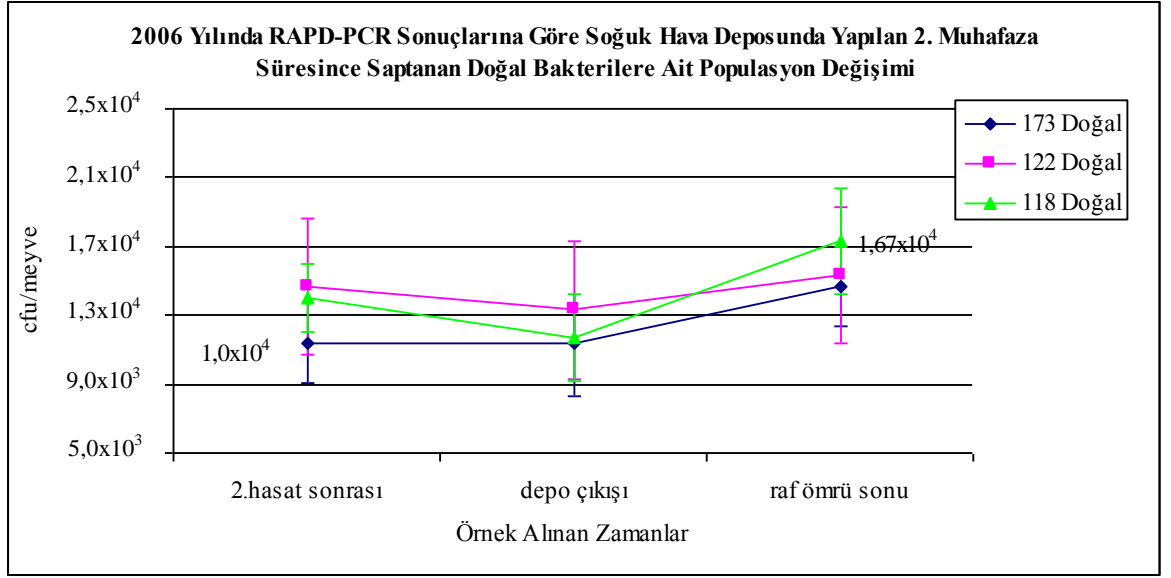
Şekil 4.36 2006 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Arazide Uygulanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi



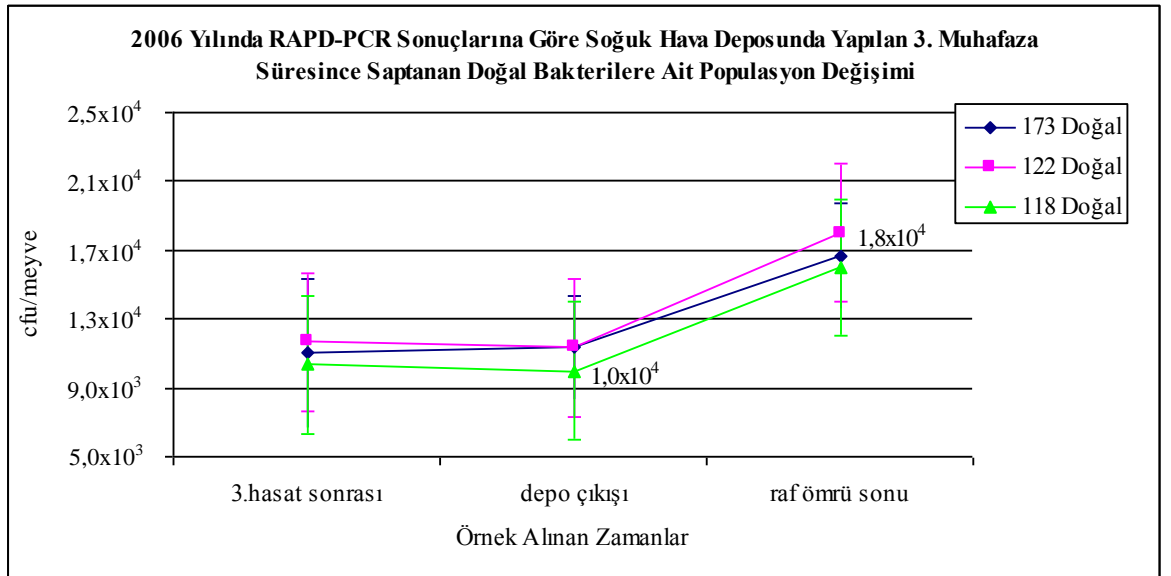
Şekil 4.37 2005 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi



Şekil 4.38 2005 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 4. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi



Şekil 4.39 2006 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 2. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi



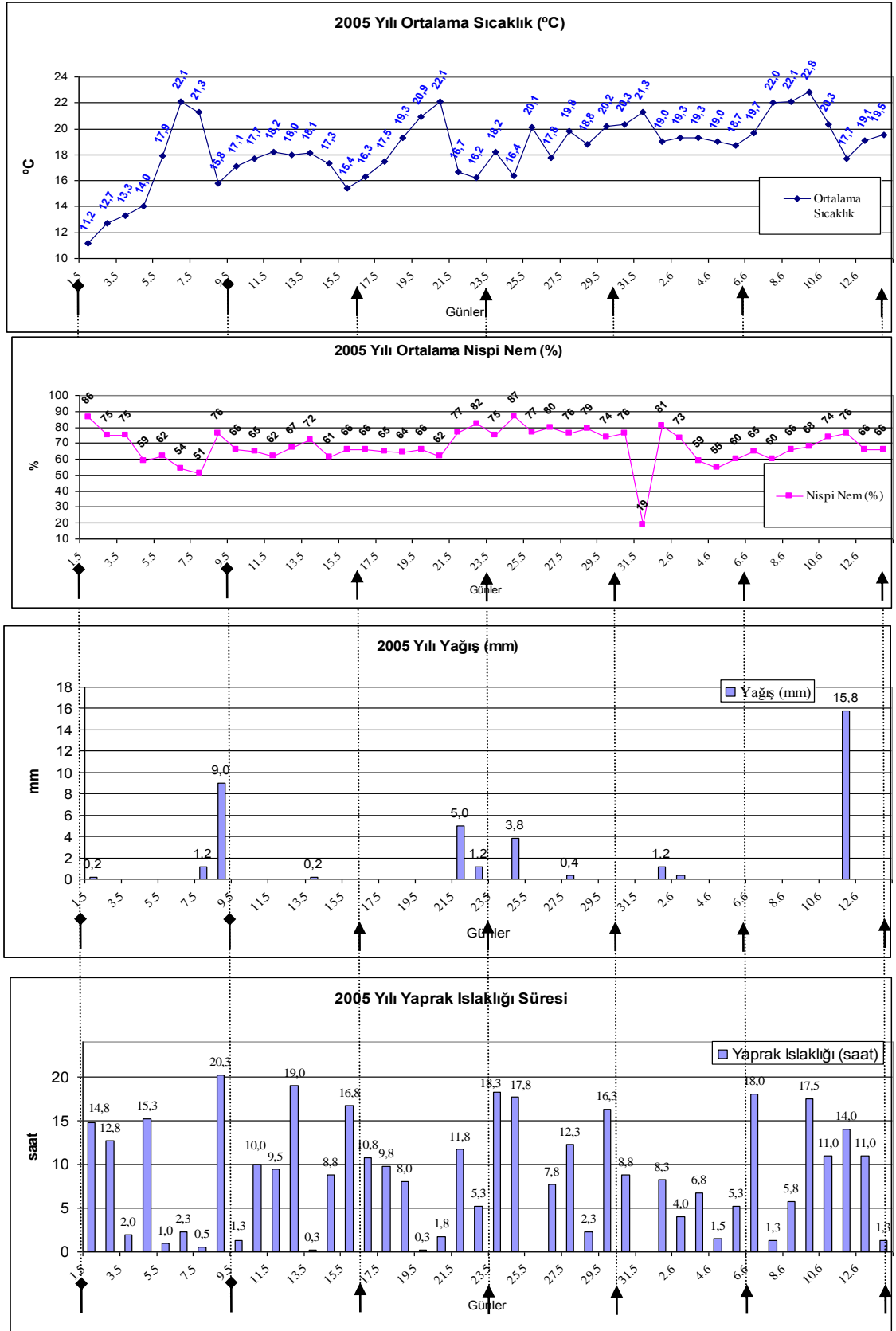
Şekil 4.40 2006 Yılında RAPD-PCR Sonuçlarına Göre Soğuk Hava Deposunda Yapılan 3. Muhafaza Süresince Saptanan Doğal Bakterilere Ait Populasyon Değişimi

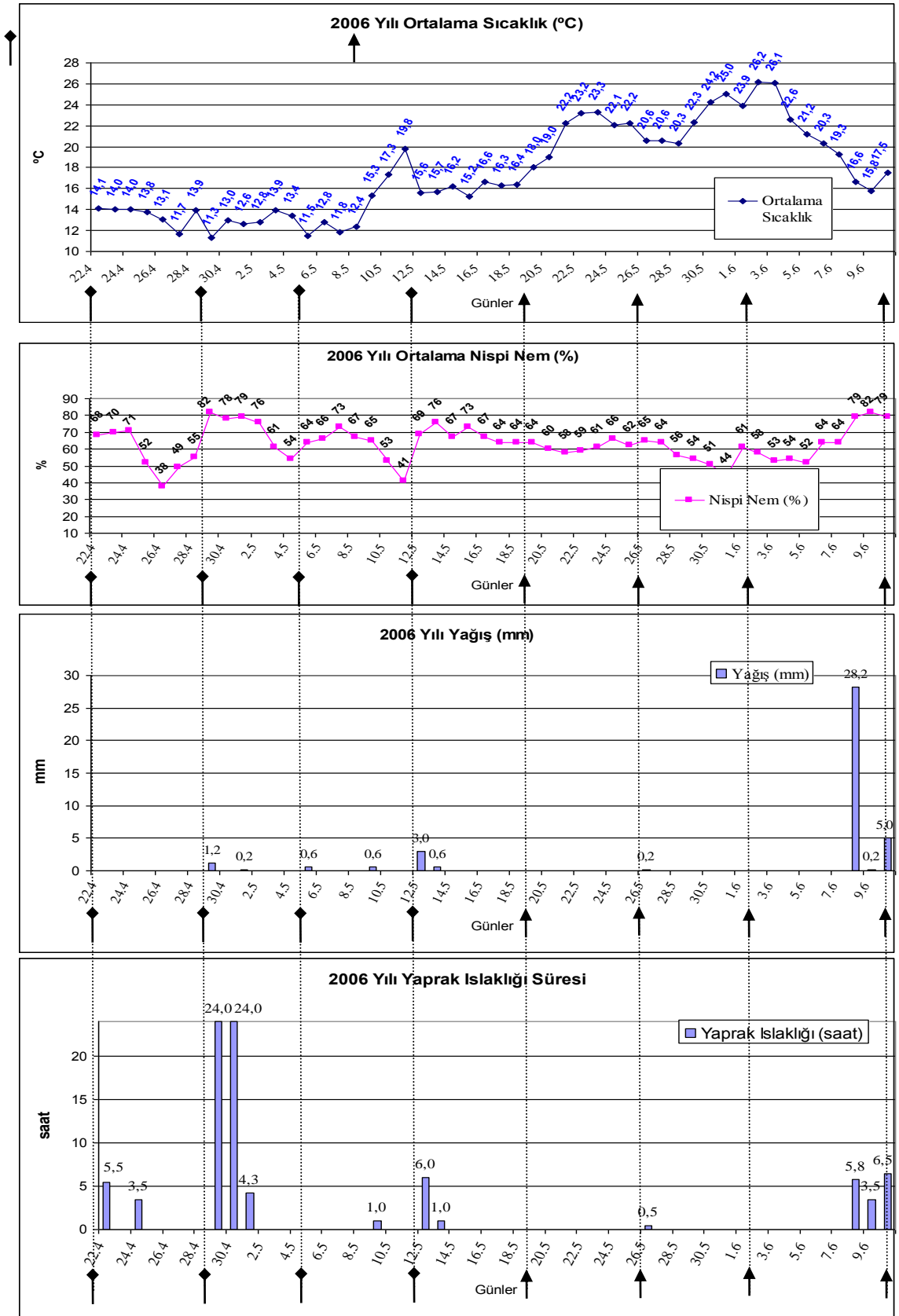
Şekil 4.37 ve Şekil 4.38'ye göre 2005 yılında 2. ve 4. muhafaza periyodu boyunca benzerlik oranı %70 ve üzerinde bulunan bakterilerin popülasyonlarının 1.0×10^4 - 1.67×10^4 cfu/meyve aralığında olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.39 ve Şekil 4.40'a göre 2006 yılında yapılan 2. ve 3. muhafaza periyotları boyunca 1.0×10^4 - 1.8×10^4 cfu/meyve aralığında olduğu belirlenmiştir. Her iki yılda da soğuk hava deposuna girişe göre, soğuk hava deposu çıkışında bakterilerin popülasyon düzeylerinde bir miktar azalma, raf ömrü sonunda ise bir miktar artma görülmektedir.

4.6. İklim Verileri

Arazi çalışmalarının yürütüldüğü Görükle Kampüsünde 2005 ve 2006 yıllarına ait ortalama sıcaklık, nispi nem, yağış ve yaprak ıslaklığından oluşan iklim verileri Şekil 4.41 ve Şekil 4.42'da verilmiştir.

Şekil 4.41 ve Şekil 4.42'deki iklim şartları incelendiğinde 2005 yılında Mayıs ayının son haftasına kadar günlük ortalama sıcaklık değerlerinin 2006 yılının aynı dönemine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Mayıs ayı sonuna kadar 2006 yılında günlük ortalama sıcaklık değerlerinin 2005 yılının aynı dönemine göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Haziran ayı içinde ise 2005 yılı günlük ortalama sıcaklık değerleri 2006 yılının aynı dönemine göre yüksek olmuştur. Ortalama nispi nem açısından her iki yılda bir takım farklılıklar olmakla birlikte birbirine yakın değerler görülmektedir. Yağış miktarları açısından 2005 yılında daha fazla yağışın görüldüğü, uygulama ve hasat dönemi içinde toplam 38.4 mm ile 11 kez yağış alındığı tespit edilmiştir. 2006 yılında ise toplam 39.8 mm yağış alınarak 10 kez yağış görülmüştür. Ancak 2006 yılı yağışlarının büyük miktarı (33.4 mm) son hasattan hemen önce görülmüştür. Sezon içerisinde aralıklı ve az miktarda yağış alındığı görülmektedir. Yaprak ıslaklığı sürelerine bakıldığında 2005 yılında, 2006 yılına göre yaprakların çok daha uzun süre ıslak kaldığı görülmektedir.





Şekil 4.42 2005 yılına ait iklim verileri (Ortalama sıcaklık, nispi nem, yağış ve yaprak ıslaklığı)

↑ :Uygulamanın yapıldığı günler. ↑ :Uygulama ve hasadın yapıldığı günler

5. TARTIŞMA

B. cinerea, arazide çilekte en fazla verim kaybına sebep olan ve hasat sonunda çürümelere sebep olarak meyvenin ömrünü kısaltan önemli hastalıktır. Ekonomik olarak önemli kayıp oluşturan *B. cinerea*, hem hasat öncesi tarla ve serada hem de hasat sonrasında ürün kaybına sebep olması nedeni ile çilek hastalıkları içinde en önemlisidir. Patojen çileğin yanısıra dünya üzerindeki pek çok ülkede 200'den fazla bitki türünün çiçek, sürgün, yaprak ve meyve gibi pek çok organında enfeksiyon yapabilmektedir (Jarvis 1980, Maude 1980, Ogawa ve ark. 1995).

Yürüttüğümüz çalışma ile çilekteki bu önemli hastalığa karşı Bursa ilindeki çilek bahçelerinden elde edilen ve *B. cinerea*'ya karşı etkili antagonist bakteriler ile hem hasat öncesi arazide hem de hasat sonrası muhafazada savaşım hedeflenmiştir.

B. cinerea sporları tomurcuklanma sırasında çiçek kısmına yerleşmekte ve fungus genç bitkiyi erken dönemde enfekte etmektedir. Enfeksiyondan sonra meyve olgunlaşmaya ve inhibasyon faktörleri (proanthocyanidin'ler) azalmaya kadar inaktif olarak beklemektedir. Hastalık genellikle olgun meyvede hasattan sonra görünmekle birlikte, hasattan önce meyve olgunlaşmadan ve olgunlaştığında da ortaya çıkabilmektedir (Powelson 1960, Mass 1984, Jersch ve ark. 1989, Snowdon 1990).

Genç tomurcuklar *B. cinerea*'ya karşı genellikle çok hassastırlar. Bir veya birkaç tomurcuk kümesinin kahverengileşerek kuruduğu görülmekte ve bu lezyon pedisele doğru inebilmektedir. Meyvelerdeki enfeksiyonlar genellikle yumuşama ve kahverengileşme şeklinde ortaya çıkmakta ve hızla meyve yüzeyini kaplamaktadır. Enfekteli yüzeyde kısa sürede konidioforların taşıdığı gri-kahverengi renkli bol miktarda konidi oluşmaktadır. Enfekteli meyveler bitki üzerinde kaldığında, meyve kurumakta, mumya görünüm almakta ve üstü kurşuni küf sporları ile kaplanmaktadır. Sclerotium oluşumu nadir görülmektedir. Enfeksiyon, nemli ve hava hareketinin az olduğu kısımlardaki meyvelerde daha şiddetli olmaktadır. Meyvelerin toprağa değmesi ve enfekteli meyvelerin sağlamların yanında olması hastalığı arttırmaktadır. Hastalık topraktaki bitki artıklarında miselyum veya sclerotium şeklinde kışı geçirmektedir. Hastalık etmeni -2°C soğuğa dayanabildiğinden, 1°C'de meyvelerin depolanması ancak hastalığın başlama ve yayılmasını geciktirmektedir.

Hasattan sonra hastalıklı meyvelerden sağlıklı olan meyvelere hastalık etmeni kolaylıkla geçerek yayılmaktadır. (Barkai-Golan 2001, Anonim 2008b).

Patojen aynı zamanda genç yaprakları da enfekte etmektedir. Genç yapraklar hastalığa karşı oldukça hassastırlar. Enfekteli genç yapraklar yaşlanıncaya kadar herhangi bir hastalık belirtisi göstermemekte, ancak öldüklerinde bu kısımlar üzerinde hızlı bir patojen gelişmesi ve sporulasyon görülmektedir. Oluşan konidiler çiçek ve meyve enfeksiyonları için çok önemli bir inokulum kaynağını oluşturmaktadırlar (Mertely ve ark. 2000, Kim ve ark. 2006).

Kurşuni küfün savaşımında hastalıklı bitki ve meyve artıklarının alandan uzaklaştırılması yardımcı olmaktadır. Mertely ve ark. (2000), çilekte yaprakların sanitasyonu ile *B. cinerea*'dan kaynaklanan enfeksiyonun %8.2-17.6 arasında azaltılabildiğini ancak hasat edilen ürün miktarında artış olmadığını tespit etmişlerdir. Bunlara paralel olarak Kim ve ark (2006) yaşlı ve enfekteli yaprakların sanitasyonunun meyve çürüklüğünü azalttığını ancak, ürün miktarında artış görülmediğini belirtmişlerdir. Bu sanitasyon önlemleri dışında, bitkilerin hafif eğimli arazilere dikilmesi, sulama ve yağışlardan sonra bitkilerin hızlı kurummasını sağlayacak önlemlerin alınması hastalıkla savaşımı kolaylaştırmaktadır. Bakım işlemleri sırasında yaprakların uzaklaştırılması Mayıs ve daha sonraki aylarda oluşan meyvelerde kurşuni küfün etkisini önemli oranda azaltabilmektedir (Güleryüz ve ark. 2001).

Çilekte ve diğer kültür bitkilerinde *B. cinerea* ile savaşımında fungusit kullanımı ve biyolojik savaşım dışındaki mücadele yöntemleri arasında, hastalıklı bitki artıklarının uzaklaştırılması, metil jasmonate, ethanol ve bitkisel uçucu antimikrobiyal bileşiklerin uygulamaları, bikarbonat tuzlarının, ethanolün ve sıcak su uygulamalarının tek başlarına veya beraber uygulanmaları, sıcak hava uygulamaları, yüksek ve düşük oksijen içerikli modifiye atmosfer uygulamaları, güvenli kabul edilen kimyasallar (GRAS, glikol-chitosan, 2-deoxy-D-glucose, amonyum molibdat vb.) ile yapılan uygulamalar, UV-C radyasyonu ve sayılan bu uygulamaların bazılarının birbirleri ile beraber kullanımları olmak üzere alternatif savaşım yöntemlerine ait çalışmalar yapılmıştır (Reddy ve ark. 1998, El-Gaouth ve ark. 2000a, El-Gaouth ve ark. 2000b, Van Der Steen ve ark. 2002, Vicente ve ark. 2002, Karabulut ve ark. 2004c, Pan ve ark. 2004).

Hastalık ile savaşımında çiçeklenme dönemindeki fungusit uygulamaları pratikte hastalığın engellenmesinde kullanılan en yaygın yöntemdir. Ancak, *B. cinerea*'nın fungusitlere karşı kazandığı dayanıklılık ve fungusitlerin kullanılması ile sonraki dönemlerde istenen başarının sağlanamayacağı yönündeki endişeler, patojenin bazı fungusitlere karşı dayanıklılık oluşturduğuna dair kayıtların bulunması, meyveler üzerindeki ilaç kalıntıları, fungusitlerin çevreye olumsuz etkileri ve oluşan kamuoyu baskısı nedeni ile alternatif savaşım yöntemleri aranması gereği doğmuştur (Maas 1984, Wilson ve Wisniewski 1989, Wilson ve ark. 1991, Washington ve ark. 1992, El-Ghouth 1997, Someya ve ark. 2001, Kunoh 2002, Schena ve ark. 2003).

Bu nedenlerden dolayı, son zamanlarda antagonist mikroorganizmaların Bitki Koruma alanındaki kullanımına ilişkin çalışmalar artmış ve yüksek etkinlik gösteren birçok mikroorganizma belirlenmiştir. Pek çok maya, fungus ve bakterinin bitki hastalıkları ile biyolojik savaşımında etkili olduğu bulunmuştur (Tronsmo ve Raa 1977, Janisiewicz 1988, Droby ve ark. 1992, Wisniewski ve Wilson 1992; Pusey ve ark. 1993).

Biyolojik savaşım kimyasallara alternatif bir yöntem oluşturması, kimyasal bir etken maddenin elde edilmesine göre biyolojik bir preparatın daha az maliyetle ortaya çıkarılabilecek oluşu, patojenlerin dayanıklılık oluşturma risklerinin olmaması, biyolojik savaş elemanlarının fungusitler ile birlikte kullanıldıklarında ilacın daha düşük dozlarda da aynı etkiyi göstermesinin mümkün olabilmesi, kimyasalların uygulandığı aynı alet ve makinalar ile uygulanabilirliği, gerektiğinde biyolojik ajana bir takım genetik manipulasyonların yapılarak etkisinin arttırılabileceği gerçeği, diğer savaşım yöntemleri ile beraber kullanılabilirliği, hasat sonu hastalıkları ile savaşım çerçevesinde hasat sonu fungusit kullanımının kabuğu ile yenebilen sebze ve meyveler için Avrupa Birliği tarafından kanunen yasaklanmış olması, çevreyi, yaban hayatını, doğayı, insan ve hayvan sağlığını olumsuz etkilememesi gibi özellikleri ile üzerinde yoğun olarak çalışılmakta ve dikkat çekmektedir (Bora ve Özaktan 1998, Reyes ve ark. 2004, Spadaro ve Gullino 2004, Mikani ve ark.2008).

Günümüzde biyolojik savaşım çalışmaları sadece araştırma boyutunda kalmamış bazı mikroorganizmalar fungusitlerde olduğu gibi formülasyon haline getirilip, ticari preparatlar şeklinde satışa sunulmuşlardır. Aspire (*Candida oleophila* ırk 182: Ecogen Inc.Langorne, PA), Yield Plus (*Cryptococcus albidus*, Cape Town, South Africa) gibi

mayalar preparat haline getirilerek biyolojik savaşta kullanılmaktadır. Bunun yanında, Bio-Save 10 (*Pseudomonas syringae* van Hall ESC-10 ırkı Ecoscience Corp., Orlando, FL) ve Bio-Save 11 (*Pseudomonas syringae* van Hall ESC-11 ırkı Ecoscience Corp., Orlando, FL)'in içerdikleri bakteriyel antagonistlerle turunçgillerde ve elmada hasat sonu hastalıklara karşı uzun yıllardır kullanılmaktadırlar. Sert ve yumuşak çekirdekli pek çok meyve ağacı, patates, domates ve çilekteki soğuk zararına ve ayrıca *Erwinia amylovora* (Ateş Yanıklığı) hastalığına karşı *P. fluorescens* A506, BlightBan 506 preparat ismi ile ruhsatlandırılmıştır. *Pseudomonas aureofaciens* çim patojeni olan *Sclerotinia homeocarpa* (Dollar spot)'ya karşı Bioject Spot-Less ismi ile ruhsat almıştır. *Pseudomonas chlororaphis*'in bir ırkı Çavdar ve arpadaki yaprak lekesi ve *Fusarium* spp.'ne karşı Cedemon ismi ile, yine aynı bakteriye ait 63-28 straini buğdaygiller, süs bitkileri, seralarda yetişen sebzelerde görülen *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp. ve *F. oxysporum*'a karşı AtEze ismi ile ruhsat aldığı bilinmektedir. *B. subtilis* A13 pamukta tohum uygulaması olarak Kodiak, yine aynı bakterinin QST-713 ırkı *B. cinerea*'da dahil olmak üzere yaprak hastalıklarına karşı Serenade ismi ile ruhsat alarak ticari kullanıma sunulmuşlardır. *S. hygroscopicus* var. *jinggangensis* çeltikte yaprak yanıklığına karşı Jingga-mycin ismi ile ve *S. griseoviridis* sebze ve süs bitkilerinde *Fusarium* solgunluğu ve *Botrytis*'ten kaynaklanan kurşuni küfe karşı Mycostop ticari ismi ile ruhsat almışlardır. *T. harzianum*'un T-22 ırkı çilekte *B. cinerea*'ya karşı Topshield ismi ile, yine *T. harzianum*'un T39 ırkı hıyar ve domateste *B. cinerea*'ya karşı Trichodex ismi ile ruhsat alarak ticari kullanıma sunulmuşlardır (Chiou ve Wu 2001, Lee ve ark. 2006, Mark ve ark. 2006, Mikani ve ark. 2008, Wan ve ark. 2008).

Değişik bakteriyel antagonistlerin de armutlarda ateş yanıklığı, turunçgillerde tomurcuk bağlama sonrası meyve dökümü, yerfıstığında erken yaprak lekesi gibi pek çok hastalık ve don zararının kontrol edilmesinde kullanılabileceği tespit edilmiştir (Wilson ve Lindow 1993, Wilson ve Lindow 1994, Sonoda ve ark.1996, Bull ve ark. 1997, Kiewnick ve Jacobson 1998, Chin-A-Woeng ve ark. 2003).

Yukarıda sayılan preparatlardan özellikle Aspire, Yield Plus, Biosave10 ve 11 hasat sonu hastalıklarına karşı da kullanılmaktadır. Özellikle hasat sonunda uygulanan ve biyolojik savaş elemanının lehine bir takım önlemlerin alınabilecek olması (depo sıcaklığının antagonist için optimum yapılırken patojenin daha zor gelişeceği veya gelişemeyeceği derecelere ayarlanması, ürünün bulunduğu atmosferindeki oksijen karbondioksit

oranlarının ayarlanabilmesi, hasattan hemen önce veya hasattan sonra biyolojik ajanın uygulanarak yüksek kolonizasyon seviyesinin sağlanması patojenin baskılanmaya çalışılması) hasattan sonra nakliye ve işleme sırasında oluşabilecek yaralarda patojenden önce biyolojik elemanların kolonize olabileceği gerçeği ve biyolojik savaşım elemanların raf ömründe de etkisini sürdürebilmesi biyolojik savaşımı hasat sonunda da önemli hale getirmiştir (Zhang ve ark. 2007).

Çilekte *B. cinerea*'ya karşı yürütülmüş olan biyolojik savaşım çalışmaları incelendiğinde pek çok bakteri, fungus ve maya kullanıldığı görülmüştür. Funguslar arasında *T. harzianum* T39 (Trichodex), *T. viride*, *Clonostachys rosea* (Link:Fr.=*Gliocladium roseum* Bainer), *Penicillium* sp. ile yapılan çalışmalar, mayalar arasında *C. oleophila* (Aspire), *C. reukauffii*, *C. pulcherima*, *Rhodotorula glutinis*, *A. pullulans*, *P. guilliermondii*, *Metschnikowia fructicola* ile yapılan çalışmalar, bakteriler arasında ise *B. mycooides*, *B. megaterium*, *B. licheniformis* N1, *B. pumilus*, *B. subtilis* QST-713 (Serenade), *Pseudomonas lurida*, *Pseudomonas rhizosphaerae*, *Pseudomonas parafulva*, *P. fluorescens* ve *P. polymyxa* 18191'in yer aldığı biyolojik savaşım çalışmaları mevcuttur (Swadling and Jeffries 1996, Swadling and Jeffries 1998, Guinebretiere ve ark. 2000, Helbig 2001, Guetsky ve ark. 2002, Wszelaki ve Mitcham 2003, Abanda-Nkpwatt ve ark. 2006a, Kim ve ark. 2006, Viccini ve ark. 2006, Zhang ve ark. 2007, Anonim 2008c).

Biyolojik savaşımın avantajlarından biri de biyolojik savaş elemanının sadece tek patojen için değil, birden fazla sayıdaki patojeni engelleyebilmesidir. Örneğin çilekte *B. cinerea* için kullanılan bir biyolojik ajan, özellikle çilekte raf ömründe sıklıkla görülen ve oldukça yıkıcı kayıplara sebep olan *R. stolonifer*'den kaynaklanan çürüklüğü de engellemektedir (Karabulut ve ark. 2004a, Zhang ve ark. 2007). Biyolojik savaşımın diğer bir avantajı da diğer savaşım yöntemleri ile kullanılabilmesidir. Değişik maya ve bakteriler sıcak su uygulamaları, acibenzolar-S-methyl, bikarbonat tuzları, ethanol, methyl jasmonate, uçucu yağlar, yüksek ve düşük oksijen içeren paketleme materyalleri, düşük fungusit konsantrasyonları ve UV-C radyasyonu ile beraber kullanılabilir (Pan ve ark. 2004, Ayala-Zavala ve ark. 2005, Aras ve ark. 2002, Van der Steen ve ark. 2002, Reddy ve ark. 1998, Spadaro ve ark. 2004).

Biyolojik savaşta bakteriyel ajanların diğer mikroorganizmalara göre bazı avantajları vardır. Bakteriler, çok hızlı kolonize olabilmeleri, prokaryot mikroorganizmalar olduklarından üzerinde genetik manipulasyonların çok kolay yapılabilmesi, fungusitlerden diğer ökaryot organizmalara göre (maya, fungus) çok az etkilenmeleri hatta fungusitler ile beraber kullanılabilmeleri, bazı bakteriyel antagonistlerin aynı zamanda bitki gelişimini teşvik etmesi ve toprakta bulunup besin elementi olarak yararlı formda bulunan bazı bitki besin elementlerini yararlı şekle çevirmeleri (PGPR'lar), bazı PGPR'ların fungus, bakteri, virus ve hatta bazı böceklerle etki etmeleri, bazı endofit bakterilerin bitki bünyesinde bulunabilmeleri, bir konukçudan elde edilen bakteriyel izolatın farklı bir konukçuya da adapte olarak aynı veya farklı bir patojene karşı da etkili olabilmesi gibi avantajlara sahiptirler.

Tüm bu örnekler göz önüne alındığında antagonist bakterilerin kullanımı ile biyolojik savaşın hem hasat öncesinde hemde hasat sonunda fungusitlere en iyi alternafi oluşturan savaşım yöntemlerinden biri olduğu görülmektedir.

Yürüttüğümüz çalışmada ilk olarak antagonist aday bakteriyel izolatlar toplanmıştır. Çizelge 3.1'de gösterilen mikroorganizmaların tümü çilek yaprak, çiçek ve meyvelerinden (phylloplane) izole edilmişlerdir. *B. cinerea*'nın çilek dışında pek çok bitkide enfeksiyon yaptığı bilinmektedir. Çilekten elde edilecek mikroorganizmaların doğal habitantı olan çilek bitkisinin üzerinde kolonizasyonunun ve yaşamını sürdürmesinin çok daha kolay olacağı düşünülmüştür. *B. cinerea*'ya etkili olsa da başka bitkilerden elde edilecek mikroorganizmaların, çilek üzerindeki yaşam ortamına tam olarak adapte olamayabilecekleri ihtimali düşünülerek bakterilerin çilek bitkisinden izole edilmeleri kararlaştırılmıştır.

Sürveyler çiçeklenmeden hasada kadar olan süre boyunca iklimsel ve coğrafi olarak farklı bölgelerde yapılmıştır. Sürveylerin yapıldığı bu periyot aynı zamanda hastalığının ortaya çıkarak enfeksiyon yaptığı dönemdir. Bu sebeple elde edilebilecek antagonist mikroorganizmalar arasında patojeni baskı altına alabilecek bakterilerinde bulunma ihtimalinin kuvvetli olacağı düşünülmüştür. Ayrıca farklı coğrafi bölgelerden biyolojik savaşım elemanının eldesi mikroorganizma sayısı ve türlerini çeşitlendirmiştir.

Çizelge 3.1'de gösterilen sürveyler sonucunda 219 adet antagonist bakteri elde edilmiştir. Bunların 130 tanesi (%59.36) meyveden, 27 tanesi çiçekten (%12.32) ve 64

tanesi de (%29.22) yapraktan izole edilmişlerdir. İzolatların ağırlıklı olarak meyveden elde edildikleri görülmektedir. Yapraklara göre meyveler üzerinde daha fazla sayıda mikroorganizma bulunduğundan meyvelerden izole edilen bakteri sayısının fazla olması beklenen bir durumdur. Yaprak alanı yüzey olarak büyük olmasına rağmen üzeri besin açısından oldukça fakirdir. Mikroorganizmalar yaprak yüzeyindeki bu az olan besin ve besinin bulunduğu alan için yarışmaktadırlar (Bora ve Özaktan 1998).

Çiçekler üzerinde de çiçek başına düşen mikroorganizma sayısının meyvelere çok yakın olmasına rağmen, çiçeklerden elde edilen antagonistlerin pek çoğunun morfolojik görünümlerinin aynı olduğu görülmüş ve seçilen bakteriyel izolat sayısı meyveden çok daha az olmuştur.

Aynı sürveyler içinde yeşil meyvelerden kırmızı meyvelere göre daha fazla sayıda bakteri elde edilmiştir. Bu sonuç yeşil meyvede hastalık belirtilerinin daha düşük olmasının sebeplerinden biri olabilir. Her ne kadar meyve yeşil iken fenolik bileşiklerin meyvede daha fazla bulunması sebebi ile patojen inaktif konumda olsa da, yoğun bir saprofit kolonizasyonunun da patojenin meyve yüzeyindeki kolonizasyonunu önleyebileceği düşünülmektedir.

Bakteriyel antagonistlerin King-B besiyerinde fluorescent pigment oluşturma yeteneklerine bakıldığında, bu izolatlardan 67 adedinin fluorescent pigment oluşturma yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir. Bu oran tüm izolatların %30.59'unu oluşturan küçüksenmeyecek bir rakamdır. Fluoresant pseudomonasların çok hızlı şekilde kolonize olabilmeleri, kolay kültüre alınabilmeleri, üzerlerinde kolaylıkla genetik manipulasyonların yapılabilmesi, pek çok metaboliti kolaylıkla kullanabilmeleri ve başarılı biyolojik savaşım çalışmalarının olması gibi sebeplerden dolayı çalışmada fluorescent pseudomonaslara ait en az bir izolatın da bulunması istenmiştir (Whipps 2001). Bu yüzden fluorescent özellik gösteren bakteri eldesine özel bir önem verilmiştir.

Fluoresant pigment oluşturan izolatların 40 adedi meyveden, 15 adedi çiçekten, 12 adedi de yapraktan izole edilmişlerdir. İzole edilen toplam 219 bakteriyel izolat değerlendirildiğinde, meyveden elde edilen izolatlar içinden % 36.15'i, çiçekten elde edilen izolatlar içinde % 55.55'i, yapraktan elde edilen izolatlar içinde ise % 18.75'i fluorescent pigment oluşturmuştur. Bu durum bize fluorescent pseudomonasların çilek bitkisi

üzerinde yaprak, çiçek ve meyve de bulunmasının yanı sıra çiçekten elde edilen izolatların yarısından fazlasını oluşturduklarını göstermektedir.

Çilek bitkisi üzerinden elde edilen çok sayıdaki bakteriyel izolattan *B. cinerea*'ya karşı biyolojik savaşında kullanılabilir potansiyelde olanların belirlenebilmesi amacı ile çilek meyveleri üzerinde hızlı bir ön eleme yapılmıştır.

Biyolojik savaşında elde edilen pek çok antagonist mikroorganizmanın patojenler üzerinde etkisinin belirlenerek, ümit veren eden antagonist adaylarının seçiminde *in vitro* testlerle başlanabileceği gibi, patojenin, antagonistin ve hastalığın özelliklerine göre bitkilerin değişik organlarında da testler yapılabilmektedir (Bora ve Özaktan 1998).

Ön elemelerde ilk olarak *in vitro* ortamda miseliyal gelişimin engellenmesi değerlendirilmemiştir. Bunun en önemli sebebi *in vitro* testlerde alınan bazı etkili sonuçların *in vivo* testlerde ve arazide aynı etkiyi göstermemesidir. Ayrıca *in vitro* testler için yoğun bir emek ve zaman harcanması gerekmektedir (Bora ve Özaktan 1998). Uygulanacak ön eleme metodunun etkili izolatları göstermesi yanı sıra hızlı olması da son derece önemlidir. Çilek bitkisinin hasat sezonunun Bursa ilinde yaklaşık Mayıs 15 ile Haziran sonu aralığında kısa bir periyot olduğu düşünülürse seçilen ön eleme yönteminin önemi anlaşılacaktır.

Çalışmada ön eleme için çilek meyveleri kullanılmıştır. Sonuçta *in vitro* testlerde etkili çıkan izolatlar da meyve üzerinde yapılacak testlere alınacağından başta *in vitro* testlerin yapılmasına gerek duyulmamıştır. Ayrıca, etkili bazı izolatların *in vitro* ve *in vivo* test uyumsuzlukları sonucu elenmesi ihtimali de ortadan kalkmıştır. Tüm bunların yanı sıra petride yapılacak *in vitro* testler siderofor ve antibiosis mekanizması ile çalışan izolatlar için olumlu sonuç verecektir.

Çizelge 4.1'de ön elemeler sonucu patojeni *in vivo* koşullarda en etkili şekilde engelleyen izolatlar gösterilmiştir. Arazi denemeleri için seçilen 118, 173 ve 122 nolu izolatların dışında özellikle 97 ve 216 nolu izolatlarda patojeni engelleme yeteneklerinin yüksekliği ile dikkat çekmiştir. Tüm izolatlara ait ön deneme sonuçlarına bakıldığında patojeni engelleme oranlarının yapılan her iki ön denemede de tutarlı ve %50'yi geçmesi koşulu aranmıştır. Tüm izolatlar içinde bazı bakteriyel antagonist adaylarının tutarlı sonuç vermedikleri veya patojeni engelleme oranlarının yüksek olmadığı belirlenmiştir. Ön elemeyi geçen izolat sayısı tüm izolatlar içinde yaklaşık %4.10'dur. Swadling ve Jeffries

(1996) yaptıkları çalışmada, çilek bitkisi üzerinden 392 bakteriyel antagonist adayı izole etmişler, birkaç aşamadan oluşan *in vitro* testleri 22 tanesi geçmiş ve serada çilek yaprakları üzerinde testlere alınmışlardır. Sera testleri sonucu 6 bakterinin etkili olduğunu belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlarda *in vitro* testleri geçen bakterilerin oranı (22 adet=%5.61) ile yaptığımız çalışmada ön eleme testlerini geçen bakteriyel izolat oranı (%4.10) benzerlik göstermektedir.

Ön elemeyi geçen potansiyel antagonist adayı bakteriler LOPAT ve tür teşhisi aşamalarına alınmış ve arazi denemesi için seçilen üç izolata etki mekanizmalarının belirlenmesi için *in vitro* testler uygulanmıştır.

Çizelge 4.2'de ön elemelerde başarılı olan izolatların Lopat test ve tanı sonuçları gösterilmiştir. Ön elemelerde etkili şekilde patojeni engelleyen ve floresant özellik gösteren 97 (*Burkholderia cepacia*) ve 216 nolu (*P. syringae*) izolatlar bitki patojeni olma ihtimalleri nedeni ile elenmişlerdir. 97 nolu izolatta (*Burkholderia cepacia*) patates pektolizasyonu pozitif, 216 nolu izolatta ise (*P. syringae*) tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu pozitif olarak belirlenmiştir. Toplam 9 adet ön elemeden geçen izolat içinden 5'i (97, 216, 176F, 172F ve 3) bitki patojeni olma ihtimalleri, 2'si de (128A ve 110) insan patojeni olabilecekleri ihtimalleri ile arazi denemelerine alınmamışlardır. İnsan patojeni olma ihtimali olan izolatların çilek yapraklarından izole edilmiş olması meyvelerin yıkanarak yenmesi gerekliliğine işaret etmektedir. Yapılan literatür taramasında çilekten izole edilen mikroorganizmalar arasında insan patojeni olması sebebi ile elenen mikroorganizma olduğuna dair bir kayıta rastlanmamıştır.

Lopat testleri ve tür teşhisleri sonucunda ön elemeyi geçen tüm floresant özellikteki bakteriyel antagonistler elenmişlerdir. Floresant pseudomonasların biyolojik savaşım içerisinde önemli bir grubu oluşturmasından dolayı, daha denemenin başlangıcında arazi çalışmalarına alınacak en az bir izolatın floresant pseudomonas olması tasarlanmıştır. Ancak ön elemeler, lopat testleri ve tür teşhisleri sonucunda tüm floresant özellikteki izolatların elenmesi sonucu bezelyede ascochyta yanıklıklarına karşı etkili bir *P. fluorescens* (122 nolu izolat) dahil edilmiştir. Bu izolat çilekten farklı bir konukçudan izole edilmiş olması ve *B. cinerea*'dan farklı bir fungal patojen üzerinde etkili olmasına rağmen ön eleme testinde başarılı bulunmuştur.

Tür teşhisleri yapılan 173 nolu izolat *Bacillus megaterium*, 118 nolu izolatta *Pseudomonas vesicularis* olarak belirlenmiştir.

B. megaterium'un topraktaki çözünmeyen fosfatı çözen bakteri olarak, PGPR bakterileri arasında biyokontrol ajanı olarak, *Rhizoctoni solani*'ye karşı *Trichoderma* spp. ile beraber biyolojik kontrol elemanı olarak kullanılmıştır. Bakterinin, biberde görülen meyve çürüklüğüne karşı bioformülasyon halinde biyolojik savaş elemanı olarak ve fasulye yapraklarındaki *B. cinerea* enfeksiyonuna karşı biyolojik savaşım elemanı olarak kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca bakteri, perilla bitkisinde *B. cinerea*'dan kaynaklanan çürümenin önlenmesinde ve şekerpancarı fideliklerinin rizofeninde görülen hastalıklara karşı tohumla uygulaması şeklinde etkili olmuştur. Bakterinin, buğday da septoria yaprak lekesine ve *E. amylovora*'ya karşı biyolojik savaşım elemanı olarak kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bakterinin *Rhizoctoni solani*'ye karşı *in vitro* ortamda enzim aktivitesinde belirlenmiştir (Ercolani 1991, Bertagnolli ve ark. 1996, Jock ve ark. 2002, YeongJun ve ark. 2002, Walker ve ark. 2002, Rudresh ve ark. 2005, Saad ve ark. 2005, Wu ve ark. 2005, Kildea ve ark. 2008).

Abanda-Nkpawatt ve Schwab (2004)'ın *B. megaterium* ile yaptıkları bir çalışmada, bizim çalışmamızda olduğu gibi bakteriyi çilek yaprağından izole etmişlerdir. Ayrıca *B. megaterium*'un zeytin yaprağı üzerinden, baldan ve hatta nematod yüzeyinden bile izole edildiğine dair kayıtlar bulunmaktadır (Han ve ark. 2003, Reynaldi ve ark. 2004). Chiou ve Wu (2001) zambak yapraklarını enfekte eden *Botrytis elliptica*'ya karşı yine zambak bitkisinden 700 mikroorganizma izole etmişler ve *Botrytis*'e karşı etkili 10 izolat olduğunu bunlardan 2 tanesinin de *B. megaterium* olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca biyolojik savaşım çalışmalarında kullanılan pekçok *Bacillus* türünün elma yapraklarındaki yaralardan, *Brassica* yapraklarından, komposttan, şeker kamışının alkolik fermantasyonundan ve kurutulmuş Ndagala balığı gibi pek çok farklı çevreden izole edildiği bildirilmektedir (Földes ve ark. 2000).

Tüm bunların yanında çalışmada gram (-) bakteriler yanında bir gram (+) bakterinin bulunması çalışmaya çeşitlilik katmıştır. Gram (+) *Bacillus* spp.'nin olumsuz koşullarda spor oluşturmaları sebebi ile daha dayanıklı oldukları bildirilmektedir. Oluşan sporların uzun süreli raf ömrüne sahip olmaları da oldukça önemlidir. Ayrıca bu tür mikroorganizmaların geniş spektrumda antibiyotik üretme kabiliyetleri de bulunmaktadır.

Bu sebepten dolayı biyolojik savaşta kullanılmalarının da diğer bakteri türlerine göre daha avantajlı olabileceği düşünülmüştür (Emmert ve Handelsman 1999, Jock ve ark. 2002, Hyun Ju ve ark. 2007).

Çalışmada bir *Bacillus* türü bakterinin yanı sıra iki adet *Pseudomonas* genusuna ait bakteri de kullanılmıştır. Whipps (2001) bu bakterilerin hızlı gelişebildiklerini, kolay kültüre alınabildiklerini, laboratuvarında kolay genetik manipulasyonların yapılabildiğini ve kolay metabolize olabilen organik bileşiklere kullanabildiklerini belirtmiştir. Höfte ve ark. (1992) ise özellikle floresant pseudomonasların farklı antifungal metabolitleri üretme yetenekleri gibi özelliklere sahip olmalarından dolayı biyolojik savaş çalışmalarında tercih edildiklerini bildirmektedirler.

P. vesicularis'in bitki hastalıklarına karşı kullanıldığı bir biyolojik savaşım çalışması bulunmamıştır. Yalnızca *Drosera rotundifolia* bitkisinden bakterinin izole edildiği bildirilmektedir. Yaptığımız çalışma ile bu bakteri biyolojik savaşım elemanı olarak ilk kez kullanılmıştır (Kneifel ve Leonhardt 1992).

Çalışmada kullanılan diğer bir biyolojik savaşım elemanı olan *P. fluorescens* 'e ait pek çok biyolojik savaşım çalışması bulunmaktadır. Bu bakteri elmada *Botrytis mali*'den kaynaklanan hasat sonu çürümenin engellenmesinde ve talk bazlı formülasyonunun ise yerfıstığının tohum ve yapraklarına uygulanarak yaprak lekesi (*Cercosporidium personatum*) ve pas (*Puccinia arachidis*) hastalıklarının engellenmesinde biyolojik savaşım elemanı olarak kullanılmıştır (Meena ve ark. 2002, Mikani ve ark. 2008).

Ayrıca *P. fluorescens*'in PGPR olarak pek çok hastalık etmenine karşı kullanıldığı çalışmalar mevcuttur. *P. fluorescens*'in üzümde *B. cinerea*'ya karşı, hıyarda *Pythium aphanidermatum*'dan kaynaklanan kök çürüklüğüne karşı, domateste *Ralstonia solanacearum*'dan kaynaklanan solgunluğun önlenmesinde, çavdarda *Fusarium culmorum*'dan kaynaklanan kök çürüklüğünün engellenmesinde, domateste *P. syringae* pv. *tomato* ve *Xanthomonas vesicatoria*'dan kaynaklanan yaprak lekelerinin önlenmesinde ve biberde *Colletotrichum capsici*'den kaynaklanan meyve çürüklüğünün engellenmesinde biyolojik savaşım elemanı olarak kullanıldığı çalışmalar bulunmaktadır (Ongena ve ark. 2000, Kurek ve Jaroszuk-Scisel 2003, Bharathi ve ark. 2004, Guo ve ark. 2004, Ji ve ark. 2005, Trotel-Aziz ve ark. 2008).

Çizelge 4.3’de arazi denemeleri için seçilen bakterilerin antibiyotiklere spontan dayanıklılığı ve etiketli dozları gösterilmiştir. *P. vesicularis*’in spontan olarak streptomycin’in 10 ppm dozunda gelişebildiği ve 30 ppm dozunda etiketlendiği görülmektedir. Ancak bakteri spontan olarak rifampicin’in 1 ppm dozunda bile gelişmemiş ve etiketleme de yapılmamıştır. Dolayısı ile iki antibiyotiğin karışımında herhangi bir spontan dayanıklılık ve etiketleme yapılamamıştır. *B. megaterium*’un streptomycin’in 3 ppm dozuna spontan olarak dayanıklı olduğu görülmüş ancak daha üst dozlarda (10 ppm ve üstü) bakteri gelişimi olmadığından etiketleme yapılamamıştır. Ancak, rifampicin’in 1 ppm dozunda bile spontan dayanıklılık görülmemesine rağmen daha düşük dozlarda geliştiği görülmüş ve 50 ppm doza kadar bakteri geliştirilerek etiketlenmiştir. İki antibiyotik karışımının kullanıldığı durumda, rifampicin 50 ppm dozundaki gibi yüksek değerlerde etiketleme yapılamamıştır. Burada streptomycinin 10 ppm ve üstü olan dozlarında bakteri gelişmesinin olmamasının sınırlayıcı etken olduğu düşünülmektedir. *P. fluorescens* streptomycin’in 30 ppm ve rifampicin ‘in 10 ppm’lik dozlarına spontan olarak dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. İki antibiyotiğin beraber olarak kullanıldığı durumda ise ikisinde 10’ar ppm’lik karışımının olduğu dozda spontan dayanıklılık tespit edilmiştir. Bunda rifampicin’in 10 ppm’lik dozu sınırlayıcı etkidir. Bakteri iki antibiyotiginde 30’ar ppm’lik dozunun olduğu karışıma etiketlenmiştir.

Biyolojik savaşta, antagonist mikroorganizmaların patojenler ile savaşım mekanizmasının bilinmesi, biyolojik savaşın işleyişini anlama bakımından son derece önemlidir. Genel olarak bu mekanizmalar, mikroorganizmaların antibiyotik üretme yetenekleri sayesinde rakiplerini öldürmeleri veya gelişimlerini sınırladıkları antibiosis, bulunduğu ortamdaki diğer mikroorganizmalar ile birlikte demir, besin maddeleri, yer veya oksijen için yaptığı yarışma, diğer mikroorganizmalar (patojenler) üzerinde hiperparazitik bir yaşam kurması yolu ile hiperparazitizm ve funguslarda hifsel anastomosis şeklinde görülen hipovirulens şeklinde olmaktadır. Bu dört biyolojik savaşım biçiminde de antagonist mikroorganizma bir şekilde direkt olarak patojenle ilişki içindedir. Ancak bazı bakteriyel antagonistlerde de gördüğümüz uyarılmış dayanıklılıkta ise patojene karşı konukçu bitki antagonist mikroorganizmanın teşviki ile bir takım savunma reaksiyonlarını harekete geçirmektedir (Bora ve Özaktan 1998, Whipps 2001).

Hasat sonu hastalıkları ile savaşta kullanılacak antagonistlerde etki mekanizması olarak antibiosis tercih edilmemektedir. Antibiyotik üreten mikroorganizmalar ile muamele

edilmiş meyve ve sebzeleri tüketen insan ve hayvanlarda bir süre sonra bu antibiyotiklere karşı bir bağışıklık oluşacağı ve bu antibiyotiklere karşı diğer insan patojeni mikroorganizmalarında dayanıklı hale gelebileceği bir endişe oluşturmaktadır (Bora ve Özaktan 1998). Ancak, bu çalışmada hasat öncesi ve hasat sonrasında güçlü patojenik karaktere sahip bir patojen ile savaşım yapıldığı göz önüne alınmalıdır. Bu sebepten dolayı, patojene karşı antagonistik etkisi en yüksek olan bakteriler ön elemeler sonucunda seçilmiştir. Elemeler sonucunda antibiosis dışında etki mekanizmasına sahip bakterilerin seçiminin tercih sebebi olmasına rağmen seçilen bazı bakteriler antibiosis etki mekanizmasına sahiptirler. Ön denemeleri geçen bazı bakterilerle yapılan *in vitro* çalışmalarda (97 nolu *P. cepacia* ve 128A nolu *M. lacunata*) antibiosis etki görülmüştür.

Çizelge 4.4'de antagonist mikroorganizmaların *B. cinerea* miselyumuna karşı petri kabında oluşturdukları inhibasyon bölgelerinin büyüklükleri gösterilmiştir. Her üç bakteriyel antagonistin de, 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 ve 1×10^9 cfu/ml yoğunluktaki konsantrasyonlarının *B. cinerea*'nin miselyumunun gelişimini etkili şekilde engellediği görülmüştür. Kontrol ile bakteriyel uygulamalar arasında önemli şekilde inhibasyon bölgesinin olması tüm bakterilerin antibiosis mekanizmasına sahip olduklarını göstermiştir. Artan bakteriyel konsantrasyonlarda inhibasyon bölgelerinin büyüklükleri istatistik olarak önemli miktarda artmıştır. 122 nolu *P. fluorescens* ve 118 nolu *P. vesicularis*'in 1×10^8 ve 1×10^9 cfu/ml'lik konsantrasyonları arasında fark görülmemiştir. Ayrıca tüm bakterilerin 1×10^7 ile 1×10^8 cfu/ml'lik konsantrasyonlarının oluşturdukları inhibasyon bölgelerinin büyüklüklerinin istatistik anlamda birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar bize araştırmada 1×10^7 cfu/ml'lik antagonist konsantrasyonu yerine 1×10^8 cfu/ml'lik konsantrasyonun daha etkili olacağını işaret etmiştir.

Biyolojik savaşım mekanizmasının siderofor etkiden kaynaklanıp kaynaklanmadığının araştırılmasında ise 118 nolu *P. vesicularis*'in siderofor etkisinin bulunmadığı görülmüştür. 122 nolu *P. fluorescens*'in ise siderofor etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu bulgumuz daha önce bu bakteri ile yapılan biyolojik savaşım çalışmasındaki 122 nolu bakterinin siderofor etkiye sahip olduğu yönündeki değerlendirme ile tamamen örtüşmektedir (Göre 2003). 173 nolu *B. megaterium*'un da siderofor etkiye sahip olduğu ancak siderofor etkinin 122 nolu bakteriye göre daha az olduğu tespit edilmiştir. *Bacillus*'ların siderofor etkisini gösteren herhangi çalışmaya rastlanmamasına

rağmen Trotel-Aziz ve ark. (2008) patojenik karakterde olmayan rizobakterlerin siderofor ve antibiyotik ürettiklerini ve bunlardan biyolojik savaşta yararlandığını belirtmişlerdir.

Çalışmada çilekte hasat sonunda *B. cinerea*'dan kaynaklanan çürümenin engellenmesinin hedeflenmesi yanı sıra çiçeklenme döneminden başlayarak hasat öncesi uygulamalar ile arazide de *B. cinerea*'dan kaynaklanan çürümenin engellenmesi hedeflenmiştir. Hasat sonu hastalıklarının engellenmesinde hasat öncesinde yapılan bazı uygulamaların etkili olduğu bilinmektedir. Hasat öncesi uygulamalar ile latent enfeksiyonlar önlenmektedir. Hasat sonu hastalıklarının asıl kaynağı tarla veya arazidir. Biyolojik savaş elemanı bitki organının yüzeyini kaplamakta ve patojenin o bölgeye yerleşmesine engel olmaktadır. Ayrıca, hassas floral bölgelerde biyolojik savaş elemanı kolonize olarak bu bölgedeki patojen yükü düşürülmektedir. Çilekte hasat öncesi yapılan biyolojik savaş elemanı uygulamaları ile hasat sonrasında *B. cinerea* ve *R. stolonifer*'den kaynaklanan çürümenin azaltıldığı bildirilmektedir. Çilek gibi hasat sonunda kolay bozulabilen ürünler için hasattan sonra su bazlı uygulamalar yapmak yerine hasat sonuna yönelik hasat öncesi uygulamalar yapılmasının daha uygun olacağı belirtilmektedir (Peng ve ark. 1992, Smilanick ve ark. 1993, Roberts 1994, Ippolito ve Nigro 2000, Karabulut ve ark. 2004a, Sparado ve Gullino 2004).

Arazi denemeleri için seçilen üç bakteri 2005 ve 2006 yıllarında denemeye alınmışlardır. Arazi denemelerinde hem antagonist bakterilerin *B. cinerea* 'ya karşı biyolojik etkinlikleri saptanmış hem de antibiyotik etiketleme ve RAPD-PCR yöntemleri ile populasyon düzeyleri tespit edilmiştir. Bu arada, antibiyotik etiketli bakterilerin uygulandığı parsellerde populasyon düzeyinin belirlenmesi dışında biyolojik etkinlik de belirlenmiştir. Antibiyotik ile işaretlenmiş bakterilerin uygulandığı parsellerden elde edilen etki düzeyi, doğal bakterilerin uygulandığı parsellerden elde edilen etkinlik ile karşılaştırılmıştır. Antibiyotik işaretlemenin bakterinin etkinliğinde bir azalışa sebep olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

Her iki yılda da biyolojik etkinliğin denendiği parsellerde *B. cinerea*'ya karşı ticari olarak kullanılan bir fungusit de denemeye dahil edilmiştir. Buradaki amaç fungusitin etkinliğinin denenmesinden ziyade, antagonist bakteri uygulamalarının ticari bir preparatın etkisi ile karşılaştırılmasıdır.

Çizelge 4.5’de 2005 yılında arazideki enfekteli meyve sayısı incelendiğinde, ilk üç hasat dönemi ele alındığında hasat dönemi ilerledikçe enfekteli meyve sayısının arttığı görülmektedir. Üçüncü hasattaki enfekteli meyve sayısı tüm uygulamalar içinde en üst düzeyde bulunmuştur. Bu haftaya kadar her hasatta çürük meyve sayısının arttığı görülmektedir. Bunun nedeni de hasat zamanı gelen meyve sayısının artmasıdır. Ayrıca patojen baskısının arttığı da göz önüne alınmalıdır. Üçüncü hasatta en üst sayıda enfekteli meyve görülürken, hasat edilen sağlam meyve miktarının azaldığı görülmektedir (Çizelge 4.7). Beşinci hasattan sonra ise artık hasat edecek meyve neredeyse kalmamıştır. Ancak enfekteli meyve hala görülmektedir. İlk dört hasat döneminde tüm bakteri uygulamalarının etkinliği kontrol ile aynı grupta yer almıştır. En son hasat döneminde *B. megaterium* uygulaması kontrolden daha etkili olmuştur. Fungisit ile bakteriyel uygulamalar karşılaştırıldığında fungisit uygulamasının yalnızca 3. hasatta daha etkili olduğu görülmektedir. Çürük meyve toplamları incelendiğinde tüm uygulamalar ile kontrol arasında istatistik olarak önemli bir farkın olduğu belirlenmiştir. Enfekteli meyvelerin hasat ortalamaları ve yüzde etki açısından 2005 yılında tüm bakteriyel uygulamaların fungisit kadar etkili ve kontrolden farklı oldukları görülmektedir. Etkinin fungisit uygulamasında %33.18, bakteriyel antagonist uygulamalarında ise %31.71 ile %32.81 aralığında değiştiği görülmüştür.

Çizelge 4.5’de 2006 yılında arazideki enfekteli meyve sayısı incelendiğinde, 2005 yılındaki ilk hasat döneminde de görüldüğü gibi, hasat dönemleri ilerledikçe enfekteli meyve sayısının arttığı ancak bu artışın 4 hasat dönemi süresince olduğu görülmektedir. 2006 yılında verim ilk yıldan daha fazla olmuş ve dolayısı ile hasat edilen meyve miktarı artmıştır (Çizelge 4.7). Bitkiler vejetatif aksam olarak daha güçlü hale gelmişler, yapraklanma artmış, uygulama ile hedefe uygulamaların ulaşması bir önceki yıla göre daha zorlaşmıştır. Ayrıca, toprakta bir önceki yıldan kalan hastalıklı bitki parçaları da bulunmakta ve bunlar da hastalığın ertesi yıla geçişinde önemli bir inokulum kaynağı oluşturmaktadır. Tüm bu sebeplerle 2006 yılında arazide enfekteli meyve sayısının 2005 yılına göre daha fazla olması, bize patojen baskısının önceki yıla göre artmış olduğunu göstermektedir. Tüm hasat dönemlerinde bakteriyel antagonistler istatistik anlamda etkili bulunmuşlardır. Ancak, 1.ve 4. hasatlarda *P. vesicularis* ve 4. hasatta *P. fluorescens* uygulamaları kontrolden farklılık göstermemişlerdir. 2006 yılında *B. megaterium*’un etkinliği 1.hasat dönemi dışında tüm hasat dönemlerinde en üst seviyede olmuştur.

Özellikle en fazla sayıda enfekteli meyvenin görüldüğü 4. hasatta tüm uygulamalardan istatistik anlamda çok daha etkili olduğu görülmüştür. Çürük meyve toplamları incelendiğinde, tüm bakteriyel uygulamalar istatistik olarak etkili olmuşlardır. Benzer sonuç hasat ortalamaları ile yüzde etki’de de görülmektedir. Fungisit uygulaması sadece 1. hasat döneminde bakteriyel antagonist uygulamalarından daha etkili olmuştur. *B. megaterium*’un etkinliğinin patojen baskısının yüksek olduğu durumda da fungusit uygulamasından daha yüksek oluşu oldukça dikkat çekicidir.

Şekil 4.29 ve Şekil 4.30 incelendiğinde, 2006 yılının genel olarak 2005 yılına göre daha kurak olduğu söylenebilir. Yaprak ıslaklığı sürelerine bakıldığında 2005 yılında 2006 yılına göre yaprakların çok daha uzun süre ıslak kaldığı görülmektedir. Patojen sporlarının çimlenmesini ve penetrasyonunu yaprakların ve bitki yüzeyinin uzun süre ıslak olması kolaylaştırmaktadır. Stocwell ve ark. (1998), bitki üzerinde bulunan su filminin bakteriyel antagonistler için korunaklı bir tabaka oluşturduğunu, antagonistlere hareket imkanı sağladığını ve UV ışıklardan koruduğunu bildirmektedirler.

2005 yılında deneme yapılan arazide ilk defa çilek yetiştirilmesi, bitkilerin 1 yıllık olması sebebi ile yeşil aksamın çok gelişmeyerek havalanmanın daha iyi olması ve çiçek ve meyvelere spreylene uygulamaların daha iyi hedefe ulaşması sebebi ile patojen baskısının 2006 yılına göre yüksek olmadığı düşünülmektedir. Ancak, yeşil aksamın daha az gelişmesinden dolayı uygulanan bakteriyel antagonistlerin doğa şartlarından daha şiddetli bir şekilde etkilendikleri düşünülmektedir. 2006 yılının 2005 yılına göre daha kurak geçmesine rağmen, genel olarak inokulum kaynağı olan hastalıklı bitki artıklarının bir önceki yıldan kalması, bitkinin gelişmesi sonucu havalanmanın daha az olması nedeni ile bitki yeşil aksamı arasında nem düzeyinin yüksek kalması gibi koşullar patojen sporlarının çimlenmesi ve penetrasyonu için uygun koşullar oluşturmuştur. Ayrıca, bitki vejetatif aksamının büyümesi çiçek ve meyve gibi hedef organları saklamış ve 2005 yılına göre spreylene uygulamaların daha az kısmı hedefe ulaşmıştır.

2006 yılında hava şartları daha kurak olmasına rağmen, 2005 yılına göre *B. megaterium* en etkili uygulama olarak görülmüştür. Bunu en önemli sebebinin bakterinin olumsuz çevre şartlarına dayanıklı endosporlarının bulunması olduğu düşünülmektedir.

Arazi denemelerinde, her iki yılda da bakteriyel antagonist uygulamalarının etkili olması ön eleme testleri sonucunda doğru izolatların seçildiğinin göstermektedir. Çilekte *B.*

cinerea'ya karşı kullanılan en etkili fungusitin fenhexamid olduğu bilinmektedir. Bakteriyel antagonist uygulamalarının tümünün ticari fungusit kadar etkili olmaları önemli bir sonuçtur.

Literatürde ağırlıklı olarak çilekte biyolojik savaşım elemanları ile yapılan hasat öncesi uygulamaların hasat sonunda değerlendirildiğini görmekteyiz. Ancak, arazide de biyolojik savaşım elemanlarının etkinliğinin saptandığı çalışmalar mevcuttur. Guetsky ve ark. (2002), *B. mycoides* ve *P. guilemondii*'yi serada hasat öncesi haftalık olarak uygulayarak kontrole göre enfekteli meyve sayısını %50 oranında azaltmışlardır. Araştırmacılar hasat sonu herhangi bir değerlendirme yapmamışlardır. Karabulut ve ark. (2004a) *M. fructicola*'yı hasat öncesi çiçeklenme döneminden başlayarak 6-8 uygulama şeklinde arazide ve serada uygulayarak, %56-69 arasında çürümeyi azaltmışlardır. Aynı araştırmacılar çalışmalarında bizim de denememizde kullandığımız fenhexamid'i referans fungusit olarak kullanmışlardır. Serada fenhexamid ile biyolojik savaşım elemanı aynı ve kontrolden daha etkili olarak bulunmasına rağmen, arazide fenhexamid kontrol ile aynı grupta yer almış, maya uygulaması ise daha etkili olmuştur. Hyun Ju ve ark. (2007), *B. licheniformis*'in preparatını üretici koşullarında hasat öncesi referans fungusit iprodione ile beraber 1'er hafta ara ile 3 kez uygulamışlardır. Çilek yapraklarındaki *B. cinerea* enfeksiyonunu biyolojik savaşım elemanı %81, iprodione ise %61.5 oranında azaltmıştır. Bu araştırmacıların elde ettiği sonuçlardan iprodione'un etkinliğinin biyolojik savaşım elemanlarından daha az olduğu görülmektedir.

Bizim çalışmamızda antagonist bakteriler yetiştiricilik döneminin başından itibaren uygulanmışlardır. Özellikle arazide diğer mikroorganizmalar gibi bakteriler de nem, yağış, sıcaklık, UV ışınlar, radyasyon ve rüzgar gibi sert çevre şartlarının yanı sıra bitki türü ve çeşidi, diğer mikrobiyal topluluklar, insanların yaptığı kültürel ve fiziksel uygulamalar (gübreleme, budama, sulama vb.), fungusit ve bakterisit uygulamaları gibi dış etkenlerin etkisi altında bulunmaktadır. Epifitik bakterilerin phyllosferdeki yaşam alanları sınırlıdır. Bakteri populasyonu bitkinin tüm yüzeyinde aynı yoğunlukta bulunmamaktadır. Örneğin yapraklardaki yaşam alanı yaprak yüzeyi her ne kadar büyük olsa da sınırlıdır. Buradaki durumunu su, şeker, karbon ve azotlu bileşikler bitkinin çıkardığı gazlar ile bitkinin osmotik yapısındaki dalgalanmalar belirlemektedir. Örneğin, çilek yaprağındaki glandular trichome salgı bezlerinden ortaya çıkan bazı gazları (nonanal vb.) epifitik bakteriler enerji veya karbon kaynağı olarak kullanılmaktadır. Bu gazlardan bazılarının ise

bir mikroklima oluşturarak *B. cinerea*'nın gelişimini engellediği bilinmektedir (Leibinger ve ark. 1997, Stockwell ve ark. 1998, Helbig 2001, Collins ve ark. 2003, Espinosa-Urgel 2004, Karabulut ve ark. 2004a, Abanda-Nkpwatt ve ark. 2006b, Pujol ve ark. 2007b).

Biyolojik savaşta başarı yukarıda sayılan pek çok faktöre ek olarak antagonist mikroorganizmaların inokulum konsantrasyonlarına, patojen baskısına, antagonist mikroorganizmanın bitki yüzeyinde olabildiğince uzun süre canlı kalabilme kabiliyetine bağlıdır. Özellikle hasat sonunda kullanılan biyolojik savaşım elemanlarının genel olarak raf ömrü yanında soğuk havada muhafaza sırasında etkilerini devam ettirmeleri istendiğinden antagonist mikroorganizmaların değişik sıcaklık derecelerinde de canlı kalabilmeleri, bunun yanında hasat sonu depolamada değişik atmosferik gaz konsantrasyonlarında da biyolojik savaş elemanının canlı ve aktif halde olması istenmektedir. Ayrıca, insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından bir problem oluşturmaması, uygulanan kültür bitkisi yanında başka kültür bitkilerinde de fitopatogen olmaması, bazı bakterilerin antifungal uçucu bileşikler üretmeleri ve mümkünse biyolojik kontrol elemanının birden çok etki mekanizmasına sahip olması, biyolojik savaş elemanının formülasyonunun yapılabilmesi ve formülasyonun ucuz olması, formülasyonun raf ömrünün uzun olması ve tüketicinin elinde de raf ömrünü sürdürmesi gibi özellikler antagonist mikroorganizmalarda aranan niteliklerdendir (Swadling ve Jeffries 1998, Helbig 2001, Karabulut ve ark. 2004a, Frances ve ark. 2006, Wei-Wei ve ark. 2008, Zhang ve ark. 2007, Zhang ve ark. 2009).

Biyolojik savaş elemanının kısa uygulama aralıkları ile tekrar edilmesi ile populasyon seviyesinin devamlı üst düzeyde tutulması, patojen baskısının yüksek olduğu dönemlerde daha sık biyolojik savaşım elemanının uygulanması, hasat öncesi uygulamalar ile patojenden önce biyolojik kontrol elemanının kolonize olmasının sağlanması gibi uygulamalar da biyolojik savaşımın etkinliğini arttırmaktadır (Zhou ve ark. 2001).

Hasat sonu hastalıkları ile savaşımında olgunlaşmamış meyveye göre olgun meyvede daha fazla sayıda biyolojik savaş elemanı bulunması gerekmektedir. Meyve olgunlaşp yaşlandıkça çürümeye daha duyarlı hale gelmektedir. Daha uzun süre muhafaza istenildiğinde daha fazla sayıda biyolojik savaş elemanı uygulanmalıdır (Wszelaki ve Mitcham 2003).

Şekil 4.14’de 2005 yılında arazide antibiyotik işaretli bakterilerin uygulandığı parsellerde bulunan enfekteli meyve sayıları gösterilmiştir. Aynı yıl doğal bakterilerin uygulandığı parsellerde bulunan enfekteli meyve sayılarına uygun biçimde ilk üç hasat döneminde enfekteli meyve sayıları artmıştır. Üçüncü hasat döneminde enfekteli meyve sayıları en üst seviyeye çıkmıştır. Hasat edilen meyve miktarına bağlı olarak 4. ve 5. hasat dönemlerinde enfekteli meyve sayıları azalmıştır. Tüm hasat dönemlerinde bulunan enfekteli meyve sayıları açısından kontrol ve antibiyotik işaretli bakteri uygulamaları arasında farklılık görülmemektedir. Yine uygulamalara ait hasat ortalamaları ve yüzde etki bakımından kontrol ve antibiyotik işaretli bakteri uygulamaları arasında farklılık görülmemektedir. Bu durumun aynı yıl doğal bakterilerin uygulandığı parsellerde ortaya çıkan sonuçlarla farklılık göstermesi dikkat çekicidir.

Benzer şekilde, Şekil 4.15’de 2006 yılında arazide antibiyotik işaretli bakterilerin uygulandığı parsellerde bulunan enfekteli meyve sayıları gösterilmiştir. Aynı yıl doğal bakterilerin uygulandığı parsellerde bulunan enfekteli meyve sayılarına uygun biçimde dört hasat döneminde enfekteli meyve sayıları artmıştır. 2005 yılında antibiyotik işaretli parsellerden elde edilen enfekteli meyve sayıları ile ilgili sonuçlarla uyumlu olarak, bu yıl da kontrol ve antibiyotik işaretli bakteri uygulamaları arasında farklılık görülmemiştir.

Antibiyotik işaretli bakterilerin etkisiz olmasına rağmen her iki yılda da doğal bakterilerin uygulandığı parsellerdeki bakteri uygulamalarının etkili olmaları dikkat çekmektedir. Antibiyotik işaretli bakterilerin uygulandığı parsellerin oluşturulma amaçları antibiyotik işaretli bakteri popülasyonunun izlenmesidir. Antibiyotik ile işaretli bakterilerin etkisiz olmasının temel nedeni, izolatlar antibiyotik ile işaretlenirken, yani antibiyotiklere dayanıklılık kazanırken fizyolojik ve metabolik yapılarında bir takım değişikliklerin olma ihtimalidir. Özellikle antibiyotiklere dayanıklılığın plazmidler ile sağlandığı düşünüldüğünde, bunların baz dizilimlerinde olabilecek bir takım değişikliklerin genlerin kontrol ettiği bir takım fonksiyonları değiştirebilecekleri düşünülebilir. Paulitz (2000) antibiyotiklere dayanıklılığın işaretli bakterinin gelişimi ve rekabet edebilirliğini olumsuz olarak etkileyebileceğini bildirmektedir.

Çizelge 4.6, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de 2005 ve 2006 yıllarında doğal bakterilerin uygulandığı parsellerden hasat edilerek soğuk hava deposunda muhafazanın ardından raf ömrü sonunda ortaya çıkan *B. cinerea* ile enfekteli ve sağlam meyve sayısı ile muhafaza

başlangıcında depolanan meyve miktarı gösterilmiştir. 2005 yılında hasat edilen toplam meyve miktarına bakıldığında kontrol, bakteriyel antagonist ve fungusit uygulamaları arasında istatistik olarak farklılık görülmemektedir. Benzer durumu aynı tabloda 2006 yılındaki verileri incelediğimizde de görmekteyiz. Bu sonuca göre bakteriyel antagonist uygulamalarının verim üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı gibi olumlu bir etkisinin de olmadığı tespit edilmiştir. Swadling ve Jeffries (1996)'de bazı bakteriyel antagonistleri kullanarak çilekte *B. cinerea*'yı engellemek amacı ile yaptıkları çalışmada, bakteriyel antagonist uygulamalarının verim açısından kontrolden farklı olmadıklarını tespit etmişlerdir. Ancak, bazı biyolojik savaş çalışmalarında antagonist etkiye sahip bazı PGPR bakterilerde hastalığın değişik mekanizmalarla engellenmesi ve baskı altına alınmasının yanı sıra verimde artış olduğunu görmekteyiz (Barka ve ark. 2000, Berg ve ark. 2001, Jetiyanon ve Klopper 2002). Çalışmada kullandığımız bakteriler içinden de bitki gelişimini teşvik edebilecek bir bakterinin çıkması mümkün olabilirdi. Çalışmamızın ana amacının bu olmadığı ve denemeler bu amaca yönelik planlanmadığı için kesin bir sonuç elde etmek mümkün olmamıştır. Özellikle 173 nolu *B. megaterium*'un bir ırkının fosfat çözücü bakteri olarak bulunduğu ve verim artışına ciddi etkisi olduğunun bildirildiği bir çalışma mevcuttur (Rudresh ve ark. 2005). Her ne kadar bezelye sapından izole edilmiş olsa da 122 nolu *P. fluorescens* bakterisinin değişik ırklarının bitki gelişimini arttırdıklarına dair çalışmalar mevcuttur (Berg ve ark. 2001, Meena ve ark. 2002, Vivekananthan ve ark. 2004).

2005 yılında raf ömrü sonundaki enfekteli meyve yüzdeleri incelendiğinde en fazla hasadın yapıldığı 2. hasat döneminde 122 nolu *P. fluorescens* dışında kalan diğer bakteriyel antagonistler kontrolden daha etkili olmuşlardır. Tüm hasatlar toplamındaki enfekteli meyve yüzdesi incelendiğinde, 2. hasat dönemine benzer şekilde *P. fluorescens* dışında kalan diğer bakteriyel antagonistler etkili olmuşlardır. Başarılı antagonistlerin etki düzeyi fungusit ile aynı düzeyde olmuştur.

2006 yılında raf ömrü sonundaki enfekteli meyve yüzdeleri incelendiğinde en fazla meyvenin hasat edildiği 3. dönemde tüm bakteriyel antagonistler etkili olmuşlardır. 118 nolu *P. vesicularis*'in etkisi diğer bakteriyel antagonistlerin altında kalmıştır. Tüm hasatların toplamındaki enfekteli meyve yüzdeleri incelendiğinde tüm uygulamaların etkili olduğu görülmektedir. Özellikle 173 nolu *B. megaterium* uygulaması fungusit uygulamasından da etkili bulunmuştur.

2005 ve 2006 yıllarındaki sonuçlar beraber değerlendirildiğinde, 2005 yılında 122 nolu *P. fluorescens*'in etkinliğinin kontrol ile aynı düzeyde olduğu ancak, 2006 yılında kontrolden daha etkili ve fungusit ile aynı düzeyde olduğu görülmektedir.

Hasat öncesi dönemde etkili bulunan antagonist bakterilerin etkisinin hasat sonu muhafazada da devam ettiği görülmektedir. Her iki yılda da 1. hasattan sonraki haftalarda özellikle kontrol uygulamalarına bakıldığında enfeksiyon yüzdesinin arttığı görülmektedir. Bunun sezon ilerledikçe patojen baskısının artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Zhou ve ark. 2001).

Zhang ve ark. (2007) *R. glutinis* ile yaptıkları çalışmada maya süspansiyonuna hasattan sonra çilek meyvelerini daldırmışlar. *B. cinerea*'dan kaynaklanan enfeksiyonu %95 dolayında engellemişlerdir. Lima ve ark. (1997) *A. pullulans* L47 ve *C. oleophila* L66 ile yaptıkları bir çalışmada mayaları hasat öncesi uygulamışlardır. *C. oleophila* L66'nın hasat sonrasında etkili olmadığı ve *A. pullulans* L47'nin ise ancak sınırlı düzeyde etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Antibiyotik işaretli bakterilerin uygulandığı parsellerden toplanan çilek meyveleri soğuk hava deposunda muhafaza edilmişlerdir. Çizelge 4.7, Şekil 4.21 ve Şekil 4.22'de, 2005 ve 2006 yıllarında soğuk hava deposunda muhafazanın ardından raf ömrü sonunda ortaya çıkan *B. cinerea* ile enfekteli ve sağlam meyve sayısı ile muhafazaya başlangıçta depolanan meyve miktarı gösterilmiştir. 2005 ve 2006 yıllarında hasat edilen toplam meyve miktarına bakıldığında kontrol ile antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulamaları arasında farklılık görülmemiştir. Antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulamalarının doğal bakteriyel antagonist uygulamalarındaki gibi verim üzerinde bir etkisi olmamıştır. Ancak, hasat toplamlarında enfekteli meyve yüzdeleri incelendiğinde, arazide antibiyotik işaretli bakteriyel antagonist uygulamalarında olduğu gibi her iki yılda da kontrol ile antibiyotik işaretli bakteriyel antagonistler arasında farklılık görülmemiştir. Hasat sonunda da, doğal bakteriyel izolatlar daha etkili olurlarken antibiyotik işaretli bakteriyel antagonistlerin etkisiz olması daha önceki arazide antibiyotik işaretli bakteriyel antagonistlerin etkinliklerini tartıştığımız yorumlar ile örtüşmektedir.

Her iki yılda da doğal ve antibiyotik ile işaretlenmiş bakterilerin uygulandığı çilek meyveleri üzerinde arazide ve hasat sonunda olmak üzere herhangi bir fitopatojenik etkiye rastlanmamıştır. Özel olarak meyvelerin kalite kriterleri değerlendirilmemiş olmasına

rağmen tat ve renk açısından herhangi bir olumsuzluk gözlenmemiştir. Lima ve ark. (1997) *A. pullulans* ile yaptıkları çalışmada çilek meyveleri üzerinde hafif bir fitopatojenik etki gördüklerini bildirmişlerdir. Swadling ve Jeffries (1996) ise çilekte *B. cinerea*'ya etkili gördükleri pek çok izolat içinden tür teşhisi yapmadıkları E77 nolu bakterinin de meyveler üzerinde şekil bozukluğu oluşturduğunu belirtmişlerdir.

Antagonist mikroorganizmaların arazide popülasyonlarının izlenmesi biyolojik savaşın başarısının önceden tahmininde, uygulama sıklığının belirlenmesinde, uygulanan biyolojik savaş elemanının arazide ne kadar mesafeye ne yoğunlukta ulaşabildiğinin belirlenmesinde ve uygulama için gerekli antagonist konsantrasyonun belirlenmesinde gerekli ve kullanışlıdır.

Biyolojik savaşında kullanılan bakterilerin izlenmesinde kültüre alma metodları (selektif veya yarı selektif ortamda geliştirme) ve nükleik asit (PCR teknikleri) bazı metodlar kullanılmaktadır. Kültüre alma metodlarında hedef bakteri ırkının spesifik gelişimine izin veren antibiyotikler ve o bakteri ırkının kullanabileceği spesifik besinler kullanılmakta, sıcaklık uygulamaları yapılabilmekte ve petrideki koloni sayısı belirlenerek popülasyon düzeyi tespit edilmektedir. Bu yöntemin avantajı sadece canlı hücreler petrideki ortamda gelişebileceğinden, yaşayan mikroorganizma sayısının belirlenmesine izin vermesidir. Ancak, hedef dışı istenmeyen bazı mikroorganizmaların da benzer direnç markerlarını taşımaları ve selektif ortamdaki besinlerden yararlanma yeteneklerinin olması durumunda, bunların da petride gelişmesi yanıltıcı sonuçlar verebilmektedir. Bunu dışında antibiyotik işaretleme sırasında gen eklenmesi olması durumunda bu Genetiği Değiştirilmiş Mikroorganizmalar (Genetically Modified Microorganism = GMM) sınıfına girmektedir ki çevre için ne gibi etkilere yol açacağı belirsizdir. Genel olarak nükleik asit bazı metodlarda yüksek spesifite görülmesine rağmen hücrelerin canlı olup olmasını ayıramamaktadırlar (Pujol ve ark. 2005, Nunes ve ark. 2008).

PCR teknikleri genel olarak bakterileri ırk seviyesine kadar ayırabilmektedirler. Özellikle RAPD-PCR yöntemi polimorfik DNA'ların rastgele çoğaltılmasına dayanan bir sistemdir. Genom hakkında bir ön bilgi gerektirmemektedir. RAPD dışında son yıllarda bakteri popülasyonunun izlenmesinde SCAR (Sequence Characterized Amplified Region) yönteminin kullanıldığını görmekteyiz. Bu yöntemde izlenecek bakteri genomuna özgü spesifik primerler kullanılmaktadır.

Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'de, 2005 ve 2006 yıllarında arazide antibiyotik işaretli antagonist bakterilere ait populasyon düzeyleri gösterilmiştir. 2005 yılında bakteri populasyonunun 2006 yılına göre bir miktar daha az olduğu görülmüştür. 2005 yılının 2006 yılına göre daha yağışlı, nispi nem ve yaprak ıslaklığı sürelerinin daha fazla olması, safrofit bakteri konsantrasyonunun da yüksek olmasına sebep olabilir. Sonuçta uyguladığımız antagonist bakteriler ile saprofitler arasında da yoğun bir rekabetin sözü konusu olduğu düşünülebilir. 2005 yılında 30.05.05 tarihinde 5. uygulamadan hemen önce alınan örneklerdeki populasyonunun yılın en yüksek değerlerine ulaştığı görülmektedir. Bunun sebebinin 24.5.2005 ve 27.5.2005 tarihlerinde alınan yağışlar %75-87 arasında değişen yüksek nem ve hafta boyunca bir gün dışında görülen 2.3 saat ile 18.3 saat arasında değişen uzun yaprak ıslaklığı sürelerinin olduğu düşünülmektedir.

2006 yılında da bakteri populasyonu daha yüksek olarak başlamış ve sezon sonuna kadar azalarak devam etmiştir. Bu yıl içinde sezon sonuna doğru artan çevre sıcaklığı bakterilerin kolonizasyonunu azalmış olabilir. Yağış miktarı 8.6.2006 tarihinde görülen aşırı yağış hariç yıl içinde oldukça az olmuş ve yaprak ıslaklığı süreleri de 29.4.2006 ile 1.5.2006 tarihleri arasında görülen uzun yaprak ıslaklığı süreleri dışında oldukça düşük seviyelerde gerçekleşmiştir.

Antagonist bakterilerin 2005 ve 2006 yıllarında soğuk hava deposunda muhafazaları sırasında kolonizasyon düzeyleri 10^5 hücre/meyve düzeylerinde gerçekleşmiştir. Dört gün boyunca 1°C 'de muhafazaları boyunca populasyon düzeylerinin çok az miktarda düştüğü ve raf ömrüne çıkarıldıklarında ise depoya giriş seviyelerinin bir miktar üzerine çıktıkları görülmektedir. Soğuk hava deposunda da antagonistlerin populasyon düzeylerinde önemli düşüşlerin olmaması önemlidir. Her ne kadar patojende 1°C 'de hızlı gelişemese de meyve raf ömrüne çıkarıldığında hızlı şekilde gelişmektedir. Çilekte 4°C 'nin üzerindeki sıcaklıklarda *B. cinerea* dışında özellikle *R. stolonifer*'in raf ömründe yıkıcı etkisinin olduğu bilinmektedir (Karabulut ve ark. 2004a, Zhang ve ark. 2007). Çilek meyvesinin çürümesine yol açan bu fungusların enfeksiyonunun önlenmesi ancak biyolojik savaş elemanının etkili kolonizasyonu ile sağlanabilir. Yürütülen çalışmada özellikle raf ömründeki çürüme antagonist mikroorganizmaların soğuk hava

deposuna meyvelerin girişinden daha fazla kolonizasyon sağlamaları ile etkili şekilde engellenmiştir.

Antagonist bakteri popülasyonunun arazide 10^4 cfu/meyve ve soğuk hava deposunda 10^5 cfu/meyve düzeyinde olmasının biyolojik savaşım çalışmalarında yeterli olduğu düşünülmektedir. Wszelaki ve Mitcham (2003) *P. guilliermondii* ile çilekte yaptıkları çalışmada başlangıçta 7.7×10^8 cfu/yara olan popülasyon seviyesinin soğuk hava deposunda 5 gün süresince 5°C 'de depolama sonunda 2×10^4 cfu/yara, 2 gün 20°C 'de raf ömrü sonunda ise 3×10^4 cfu/yara seviyesinde olduğunu tespit etmişlerdir. Guetsky ve ark. (2002)'nin çilek üzerinde *B. mycoides* ve *P. guilliermondii* ile serada yaptıkları çalışmada, yaklaşık altışar gün ara ile yaptıkları uygulamalarda her iki mikroorganizmanın popülasyon seviyesinin 10^6 - 10^7 cfu/meyve aralığında olduğunu tespit etmişlerdir. Popülasyon seviyeleri bizim çalışmamızdan biraz daha yüksek olmasının sebebi çalışmanın serada yürütülmesi olabilir. Serada koşullarında bazı iklim şartlarını kontrol etme imkanı bulunmaktadır. Karabulut ve ark. (2004a) *M. fructicola*'yı hem sera hemde arazi şartlarında denemişler ve serada daha başarılı sonuçlar almışlardır. Özaktan ve ark (2002) *Pantoea agglomerans* Eh24 ırkını armutta ateş yanıklığına karşı uygulanması sonucu 18 günlük periyot içinde 10^4 - 10^5 cfu/tomurcuk düzeyinde kolonizasyon elde etmişlerdir. Ateş yanıklığının çiçek enfeksiyonunu %63-76 arasında engellemişlerdir. Johnson ve ark.(1993) *P. fluorescens* A506 ve *Erwinia herbicola* C9-1 ile armutta 10^5 cfu/tomurcuk düzeyinde kolonizasyon elde ettiklerini bildirmişlerdir. Stockwell ve ark. (1998) *Erwinia herbicola* C9-1 ile 'Bosc' Armut çeşidinde yaptıkları çalışmada başarılı bir biyolojik savaşımı 10^4 - 10^5 cfu/tomurcuk düzeyinde kolonizasyon ile sağlamışlardır.

Bizim araştırmamızda çiçeklere bakteriyel antagonist uygulaması yapıldıktan bir hafta sonra araziden alınan çiçek örneklerinde bakteriyel antagonist tespit edilememesinin nedeninin bir hafta önce uygulama yapılan çiçeklerin meyve tutması ve bir hafta sonra meyve tutan bu örneklerin dışında kalan yeni açmış ancak uygulama yapılmamış çiçeklerin alınmasıdır.

Arazide ve muhafaza sırasında bakteriyel popülasyonların izlenmesinde kullandığımız diğer bir yöntemde RAPD-PCR tekniğidir. RAPD-PCR tekniği hızlı olması, genom hakkında ön bir bilgi gerektirmemesi ve genotipik farklılıkları ortaya koyabildiği çalışmaların bulunması sebebi ile seçilmiştir. Bu amaçla üç bakteride S30-39 primer dizisi

ile RAPD-PCR reaksiyonuna tabi tutulmuş ve her bir bakteri için uygun olan ikişer primer seçilerek (Şekil 4.29, Şekil 4.30 ve Şekil 4.31) populasyon izlenmesindeki reaksiyonlarda kullanılmışlardır. Şekil 4.32, Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'de orjinal bakteriler ile yapılan arazi uygulamalarından sonra orjinal izolata morfolojik olarak benzerliklerinden dolayı seçilen bakteriyel izolatlar ile orjinal izolata da kullanıldığı RAPD-PCR reaksiyonlarının fotoğrafları verilmiştir. Örnek fotoğraflardan da görüldüğü gibi 122 nolu bakterinin uygulandığı parsellerden elde edilen bir izolat dışında benzerlik oranının 1.00 (=100%) olduğu başka izolat bulunamamıştır. Benzerlik oranı %70 ve üzerinde olan izolatlarda orjinal bakteriye benzer bantlar tespit edilmiştir. Bazı farklılık gösteren bantların RAPD-PCR'in tekrarlanabilirliğinden kaynaklanan sorunlardan kaynaklanabileceği düşünülmüş ve orjinal izolata %70 ve üzerinde benzerlik gösteren izolatların orjinal izolat ile aynı olduğu kabul edilerek, arazi ve muhafaza çalışmalarında kullanılmıştır.

RAPD-PCR tekniğinin genotipik farklılıkların ortaya konulmasında oldukça faydalı ve duyarlı yöntem olduğuna dair pek çok çalışma mevcuttur. Andrighetto ve ark. (2004) RAPD ile *Lactobacillus helveticus* izolatlarının tür düzeyindeki ayırımında D8635 primerini kullanmış ve 270 bp'lık spesifik bir bant elde etmiştir. Bakterinin tür altı birimlerinin ayırımında ise MI3 primerini kullanarak tür altına özel çok sayıda bant elde etmişlerdir. Fontana ve ark. (2005) *Lactobacillus* spp.'nin gelişme dinamiğinin takibinde RAPD-PCR tekniğinden faydalanmış ve *Micrococcus* spp.'nin ayırımında 4 primerden oluşan bir set kullanmıştır. Enciso-Moreno ve ark. (2004) RAPD'in tüm genomda çalışan bir sistem olmasından dolayı mikroorganizmaları çok alt düzeylerde ayırabildiğini bildirmişlerdir. Zahavi ve ark. (2000) RAPD-PCR'in mayaların meyve yüzeyine uygulama sonrasında geri kazanılarak yapılacak incelemelerde faydalı bir yöntem olabileceğini belirtmişlerdir. Ouoba ve ark. (2004) *Bacillus* türlerinin identifikasyonu ve karakterizasyonunda RAPD-PCR'in kullanılabilirliğini bildirmişlerdir.

RAPD-PCR tekniğinin tür ayırımında kullanılabilirliğini gösteren bu olumlu örnekler dışında bazı durumlarda yetersiz kaldığına dair araştırmalarda bulunmaktadır. Reguant ve Bordons (2003) *Oenococcus oeni* ile yaptıkları çalışmada aynı ırk bakteriye ait değişik DNA ekstraktlarından elde ettikleri bant patternlerinde termalcykler ve reaksiyonda aynı reaktanları kullanmalarına rağmen küçük farklılıklar görmüşler ve RAPD-PCR'in tekrarlanabilirliğinin yeterli olamayabileceğini göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar RAPD-PCR yönteminin ayırım gücünün yüksek olduğunu ancak her denemede aynı bant profilini

elde etmenin zor olduğunu bildirmektedirler. Roberts ve Crawford (2000) RAPD-PCR yöntemi ile elde edilen major bantların kullanılan ticari Taq polimeraz enziminin değişiminden etkilenmediğini, ancak minör bantların etkilenebildiğini, dolayısı ile minör bantlarının tekrarlanabilirliğinin çok güvenilir olmadığını bildirmişlerdir. Bouton ve ark. (2002) RAPD-PCR tekniği ile ırkların altında bir ayırımın bile yapılabildiğini, türlerin moleküler identifikasyonu ile fenotipik olarak gruplanmasında oldukça yararlı bir teknik olduğunu ve RAP-PCR'ın tek başına doğru tanılama tekniği olmamasına rağmen tür seviyesindeki ayırmda faydalı olduğunu tespit etmişlerdir. Cadez ve ark. (2002) %40 DNA-DNA homolojisi gösteren *Hanseniaspora vineae* ve *H. osmophila*'nın arasındaki filogenetik ilişkinin gösterilmesinde RAPD-PCR'ın yetersiz kaldığını bildirmişlerdir. Doming ve ark. (2003) *Enterococcus*'larda RAPD bant patternlerinin tekrarlamalı olarak alınmadığını tespit etmişlerdir. Lisby ve ark. (2002) RAPD-PCR'ın alt türlere kadar ayırım yapabildiğini, ancak tekrarlar da aynı bantların alınmadığını, bunda laboratuvarlar arası ve hatta aynı laboratuvarlardaki çalışmaları zorlaştırdığını tespit etmişlerdir. Yürüttüğümüz çalışmada orjinal izolat ile aynı parselden izole edilen ve morfolojik olarak orjinal izolata benzediği kabul edilen izolatların RAPD-PCR tekniği sonucu elde edilen bantların bazılarının orjinal izolatta olması veya olmamasının, diğer araştırmacılarında işaret ettikleri tekrarlanabilirlik sorunundan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Bu sebepten dolayı benzerlik oranı %70 ve üzerinde olan tüm izolatlar populasyon dinamiğinin izlenmesinde kullanılmıştır. Çalışmada benzerlik oranından daha emin olabilmek için daha fazla RAPD primeri ile çalışmak ve aynı zamanda tekrarı en az üç kere yapmak gereklidir. Tekrarlar yapıldığında, tüm tekrarlar da çıkan ortak bantları aramak benzerlik oranını daha da kesinleştirecektir. Ancak ilave tekrarların yapılması, primer sayısının 8-10 adete çıkarılması, tüm bu reaksiyonlar için harcanacak reaktanlar ve elektroforez kimyasalları ve çok uzun zaman alacak bir süreç göz önüne alındığında, tüm bu işlemlerin çok pratik olmadığı söylenebilir. Ancak bu işlemler yapılırsa daha kesin sonuçlara ulaşılabileceği açık olarak görülmüştür. Ancak yüzlerce izolat ile çalışılan bu tür bir çalışmada ilave tekrarların yapılması ve daha fazla primer kullanılarak reaksiyonların gerçekleştirilmesi imkan dahilinde olamamıştır.

Bakterilere ait populasyon seviyelerinin izlenmesinde daha kesin sonuçlara DNA baz dizisi analizinin kullanıldığı, populasyon düzeyi takip edilecek bakteriye ait spesifik bir bölgenin bulunarak bu bölgenin çoğaltılmasını sağlayacak yöntemler ile ulaşılabildiği

görülmektedir. Bu sebeple SCAR markerlar kullanılarak yapılan çalışmalar dikkat çekmektedir. Bu yöntemde yine hedef bakteri kendine yakın türler ile birlikte RAPD primerleri kullanılarak ile RAPD-PCR reaksiyonuna tabi tutulmaktadır. Hedef bakteriye ait spesifik bant elde edildiğinde bu bantın DNA baz sırası çıkarılarak, bu banta özel ön ve arka primerler tasarlanmaktadır. Bu spesifik primerler ile PCR reaksiyonu sonucu aranan bantın ortaya çıkması veya çıkmamasına göre hedef bakteri olup olmadığına karar verilmektedir. Bu çalışmaların yapılabilmesi için bakteri genomu hakkında bir ön bilgiye gereksinim duyulmakta ve RAPD-PCR işleminin yapılmasına gerek duyulmaktadır. *B. subtilis*'in popülasyonunun domates bitkisinin rizosferinde ve *P. agglomerans*'in popülasyon seviyesinin hasat sonu çalışmalarında takip edildiği araştırmalar mevcuttur (Felici ve ark. 2008, Nunes ve ark. 2008).

Elde ettiğimiz RAPD-PCR bulguları ile bakterilerin hem arazide hem de depodaki popülasyon seviyeleri tespit edilmiştir. Şekil 4.35 ve Şekil 4.36'da verilen sonuçlara göre arazide bakteriyel popülasyonun tüm bakterilerde 10^3 cfu/meyve düzeylerinde gerçekleştiği görülmektedir. Bakterilerin popülasyon seviyeleri arasında bir takım farklar bulunsa da, bakterilerin haftalık uygulamaları arasında bir takım dalgalanmalar görülse de temel olarak aralarında önemli farklar görülmemiştir. Antibiyotik işaretli bakterilerin arazide bulunan popülasyon seviyeleri 10^4 cfu/meyve civarında olmuştur. Ancak, 10^3 cfu/meyve kolonizasyon düzeylerinde bakterilerin biyolojik etkinlik çalışmalarından elde ettiğimiz başarıyı yakalamaları mümkün görülmesi de, mevcut izolasyon tekniği ile meyveye uygulanan tüm canlı bakteri hücrelerinin de eldesinin mümkün olmadığı unutulmamalıdır. Şekil 4.37, Şekil 4.38, Şekil 4.39 ve Şekil 4.40'da verilen sonuçlarda muhafaza sırasındaki bakterilerin popülasyon düzeylerinin 10^4 cfu/meyve olduğu görülmektedir. Bakteri türleri arasında muhafaza başlangıcı, muhafaza sonu ve raf ömrü sonundaki popülasyon düzeyleri arasında temel olarak önemli farklar görülmemiştir. Antibiyotik işaretli bakterilerin muhafaza sırasındaki 10^5 cfu/meyve popülasyon düzeyleri tespit edilmiştir. Arazi çalışmalarında elde edilene benzer şekilde popülasyon seviyesi muhafaza sırasında da antibiyotik işaretli bakterilerin popülasyon seviyelerine göre 10 kat az görülmektedir.

Sonuç olarak RAPD-PCR tekniğinin popülasyonun izlendiği diğer tekniklerin doğruluğu konusunda fikir vermesi açısından yararlı olabileceği düşünülmektedir.

Yürütölen çalışmadan elde ettiğimiz temel sonuç çileğin hasat öncesi ve sonrası hastalıklarına karşı kullandığımız üç bakteriyel antagonistin de etkili olmasıdır. Etki düzeylerinin sentetik kökenli bir fungusit olan fenhexamid ile aynı düzeyde olması son derece önemli bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalar ile antagonist bakterilerin diğer alternatif savaşım yöntemleri ile beraber kullanılarak etkilerinin arttırılması hedeflenmektedir. Diğer hedeflerden bir tanesi de biyoförmölasyon çalışmaları ile antagonist bakterilerin pratikte kullanılabilir hale getirilmesidir.

KAYNAKLAR

ABANDA-NKPWATT, D. ve W. SCHWAB 2004. Microbial transformation of aliphatic aldehydes by *Bacillus megaterium* to 2,3-Dialkylacroleins. J. Agric. Food Chem. 52:5939-5942.

ABANDA-NKPWATT, D, KRIMM, U., COINER , H.A., SCHREIBER, L. ve W. SCHWAB 2006a. Plant volatiles can minimize the growth suppression of epiphytic bacteria by the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* in co-culture experiments. Environmental and Experimental Botany, 56:108-119.

ABANDA-NKPWATT, D., KRIMM, U., SCHREIBER, L. ve W. SCHWAB 2006b. Dual antagonism of aldehydes and epiphytic bacteria from strawberry leaf surfaces against the pathogenic fungus *Botrytis cinerea* in vitro. BioControl, 51:279-291.

ANDRIGHETTO, C., MARCAZZAN, G. ve A. LOMBARDI 2004. Use of RAPD-PCR and TTGE for the evaluation of biodiversity of whey cultures for Grana Padano cheese. Letters in Applied Microbiology, 38(5):400-405.

ANN, B.G, KOBAYASHI, D.Y. ve M.S. BERGEN 1996. Plant disease Identification of Bacteria for Biological Control of *Botrytis cinerea* on Petunia Using a Petal Disk Assay. Plant Dis. 80:1029–1033.

ANONİM 2005. <http://webct.sic.edu/mthsci/protected/Mini-man.htm>. Erişim Tarihi: 10.01.2005. Konu: Minitab Reference Manual.

ANONİM 2006. <http://www.fao.org>. 2006. Erişim Tarihi:22.03.2009. Konu: Dünyada çilek üretim miktarı ve ülkelere göre dağılımı.

ANONİM 2007. 2007 Yılı Brifing Raporu. Bursa Tarım İl Müdürlüğü, Bursa.

ANONİM 2008a. Akdeniz İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği. Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği Değerlendirme Raporu. Türkiye Geneli (2007/2008 Ocak–Haziran Dönemi), Mersin. www.akib.org.tr

ANONİM 2008b. http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/3000/pdf/HYG_3017_08.pdf. Erişim tarihi: 11.10.2008. Konu: Botrytis Fruit Rot "Gray Mold" of Strawberry, Rasperry and Blackberry.

ANONİM 2008c. <http://wwwlib.umi.com/dissertations/fullcit/NN70853>. Erişim tarihi: 06.07.2008. Konu: Biological control of grey mold (*Botrytis cinerea*) on strawberries.

ARAS, G., SCHERM, B. ve Q. MIGHELI 2002. Improving Biocontrol Activity of *Pichia guillermondii* Against Post-harvest Decay of Oranges in Commercial Packing-houses by Reduced Concentrations of Fungicides. Biocontrol Science and Technology, 12:547-553.

AYALA-ZAVALA, J.F., WANG, S.Y., WANG, C.Y. ve G.A. GONZALES-AGUILAR 2005. Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile compounds and postharvest life of strawberry fruit. Eur. Food Res. Technol. 221:731-738.

BASIM, H., HACIOGLU, E. ve O.YEĞEN 1998. The potential efficiency of culture filtrate of *Bacillus subtilis* AB-27 against *Botrytis cinerea* and *Gloeosporium* sp. on Golden Delicious and Ankara pear. J. Turk. Phytopath, 27:27-37.

BARKA, E.A., BELARBI, A., HACHET, C., NOWAK, J. ve J.C AUDRAN 2000. Enhancement of in vitro growth and resistance to gray mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. FEMS Microbiology Letters, 186:91-95.

BARKA, E.A., GOGNIES, S., NOWAK, J., AUDRAN, J.C., ve A. BELARBIB 2002. Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. Biological Control, 24:35–142.

BARKAI-GOLAN, R. 2001. Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables Development and Control. Elsevier, Hollanda. p418.

BERTAGNOLLI, B.L., DAL SOGLIO F.K. ve J.B. SINCLAIR 1996. Extracellular enzyme profiles of the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* isolate 2B-12 and of two antagonists, *Bacillus megaterium* B153-2-2 and *Trichoderma harzianum* isolate Th008.I. possible correlations with inhibition of growth and biocontrol. Physiological and Molecular Plant Pathology, 48(3):145-160.

BERG, G., FRITZE, A., ROSKOT, N. ve K. SMALLA 2001. Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb. Journal of Applied Microbiology, 91:963-971.

BHARATHI, R., VIVEKANANTHAN, R., HARISH, S., RAMANATHAN, A. ve R. SAMIYAPPAN 2004. Rhizobacteria-based bio-formulations for the management of fruit rot infection in chillies. Crop Protection, 23(9):835-843.

BORA, T. ve H. ÖZAKTAN 1998. Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş. Prizma Matbaası, s.203, İzmir.

BOUTON, Y., GUYOT, P., BEUVIER, E., TAILLIEZ, P. ve R. GRAPPIN 2002. Use of PCR-based methods and PFGE for typing and monitoring homofermentative lactobacilli during Comte cheese ripening. International Journal of Food Microbiology, 76:27-38.

BULL, C.T., STACK, J.P. ve J.L. SMILANICK 1997. *Pseudomonas syringae* Strains ESC-10 and ESC-11 Survive in Wounds on Citrus and Control Green and Blue Molds of Citrus. Biological Control, 8:81–88.

CADEZ, N., RASPOR, P., DE COCK, W.A.M., BOEKHOUT, T. ve M.T. SMITH 2002. Molecular identification and genetic diversity within species of the genera *Hanseniaspora* and *Kloeckera*. FEMS Yeast Research, 1(4):279-289.

CASTORIA, R., DE CURTIS, F., LIMA, G., CAPUTO, L., PACIFICO, S., ve V. DE CICCO 2001. *Auerobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogen of fruits: study on its modes of action. Postharvest Biol. and Tech. 22:7-17.

CHIN-A-WOENG, F.C.T., LUGTENBERG, J.J.B. ve G.V. BLOEMBERG 2003. Mechanisms of Biological Control of Phytopathogenic Fungi by *Pseudomonas* spp. Stacey, G. and N.T. Keen (Editors). Plant-Microbe Interactions, Vol:6, p173-225. APS-Press St. Paul, Minnesota.

CHIOU, A.L. ve W.S WU 2001. Isolation, identification and evaluation of bacterial antagonists against *Botrytis elliptica* on Lily. J. Phytopathology, 149:319-324.

COLLINS, D.P., JACOBSEN, B.J. ve B. MAXWELL 2003. Spatial and temporal population dynamics of a phyllosphere colonizing *Bacillus subtilis* biological control agent of sugar beet *Cercospora* leaf spot. Biological Control, 26:234-232.

- COOK, D.W.M., LONG, P.G. ve S. GANESH 1999. Combination effect of delayed application of yeast biocontrol agents and fruit curing for inhibition of the postharvest pathogen *Botrytis cinerea* in kiwifruit. *Postharvest Biol. and Tech.* 16:233-243.
- DE LOS SANTOS, B., BARRAU, C., ve ROMERO, F. 2003. Strawberry fungal disease. *Food, Agriculture & Environment*, 1(3):129-132.
- DICKEY, R.S. ve KELMAN, A. 1988. *Erwinia*: the "carotovora" group.. In: *Laboratory Guide for the identification of Plant Pathogenic Bacteria*, II.Edition, ed. N.W.Schaad. APS pres, St.Paul, Minnesota. p.44-49.
- DOMIG, K.J., MAYER, H.K. ve W. KNEIFEL 2003. Methods used for the isolation, enumeration, characterization and identification of *Enterococcus* spp. 2. Pheno- and genotypic criteria. *International Journal of Food Microbiology*, 88:165-188.
- DROBY, S., CHALUTZ, E.C., WILSON, L. ve E. WISNIEWSKI 1992. Biological control of postharvest diseases: a promising alternative to the use of synthetic fungicides. *Phytoparasitica* 20:149-153.
- EL-GHAOUTH, A. 1997. Biologically-based alternatives to synthetic fungicides for the control of post-harvest diseases. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19:160-162.
- EL-GHAOUTH, A., WILSON, C.L. ve M. WISNIEWSKI 1998. Ultrastructural and cytochemical aspects of the biological control of *Botrytis cinerea* by *Candida saitoana* in apple fruit. *Phytopathology*, 88:281-291.
- EL-GHAOUTH, A., SMILANIC, J.L. ve C.L. WILSON 2000a. Enhancement of performance of *Candida saitoana* by addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. *Postharvest Biol. and Tech.* 19:103-110.
- EL-GHAOUTH, A., SMILANIC, J.L., WISNIEWSKI, M. ve C.L. WILSON 2000b. Improved control of apple and citrus fruit decay with a combination of *Candida saitoana* and 2-deoxy-D-glucose. *Plant Disease*, 84:249-253.
- EMMERT, E.A.B. ve J. HANDELSMAN 1999. Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol. Lett.* 171:1-9.
- ENCISO-MORENO, J.A., PERNAS-BUITRON, N., ORTIZ-HERRERA, M. ve R. CORIA-JIMENEZ 2004. Identification of *Serratia marcescens* populations of nosocomial origin by RAPD-PCR *Archives of Medical Research*, 35:12-17.
- ERCOLANI, G.L. 1991. Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and influence of age and sampling time. *Microb. Ecol.* 21:35-38.
- ESPINOSA-URGEL, M. 2004. Plant-associated *Pseudomonas* populations: molecular biology, DNA dynamics and gene transfer. *Plasmid*, 52:139-150.
- ETEBARIAN, R. H. ve P. L. SHOLBERG 2006. Monitoring population levels of *Pseudomonas fluorescens* labeled with green fluorescent protein, using fluorescence microscopy and direct fluorescence scanning techniques. *Canadian Journal Of Plant Pathology-Revue*, 28(1):125-130.

- FELICI, C., VETTORI, L., TOFFANIN, A., ve M. NUTI 2008. Development of a strain-specific genomic marker for monitoring a *Bacillus subtilis* biocontrol strain in the rhizosphere of tomato. FEMS Microbiol. Ecol. 65:289–298.
- FONTANA, C., COCCONCELLI, P.S. ve G. VIGNOLO 2005. Monitoring the bacterial population dynamics during fermentation of artisanal Argentinean sausages. International Journal of Food Microbiology, 103:131-142.
- FÖLDES, T., BANHEGYI, I., HERPAI, Z., VARGA L. ve J. SZIGETI 2000. Isolation of *Bacillus* strains from the rhizosphere of cereals and in vitro screening for antagonism against phytopathogenic, food-borne pathogenic and spoilage micro-organisms. Journal of Applied Microbiology, 89:840-846.
- FRANCES, J., BONATERRA, A., MORENO, M.C., CABREFIGA, J., BADOSA, E ve E. MONTESINOS 2006. Postharvest aggressiveness and postharvest biocontrol efficiency in *Pantoea agglomerans*. Postharvest Biology and Technology, 39:299-307.
- GÖRE, M.E. 2003. Bezelyede Ascochyta Hastalıklarıyla Biyolojik Savaşta Floresant Pseudomonasların Etkisinin Saptanması Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi (Basılmamış). 156s. Bornova-İzmir.
- GUETSKY, R., ELAD, Y., SHTIENBERG, D. ve A. DINOOR 2002. Establishment, Survival and Activity of Biocontrol Agent *Pichia guillemontii* and *Bacillus mycoides* Applied as a Mixture on Strawberry Plants. Biocontrol Science and Technology, 12:705-714.
- GUINEBRETIERE, M.H., NGUYEN-THE, C., MORRISON, N., REICH, M. ve P. NICOT 2000. Isolation and characterization of antagonists for the biocontrol of the postharvest wound pathogen *Botrytis cinerea* on strawberry fruits. Journal of Food Protection, 63:386-394.
- GUO, J.H., QI, H.Y., GUO, Y.H., GE, H.L., GONG, L.Y., ZHANG, L.X., ve P.H. SUN 2004. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Biological Control, 29:66-72.
- GÜLERYÜZ, M., ERTÜRK, Y. ve PIRLAK, L. 2001. Çilek yetiştiriciliğinde organik uygulamalar ve ekolojik çilek yetiştiriciliği. Türkiye 2. Ekolojik Tarım Sempozyumu (14-16 Kasım 2001), s.319-332, Antalya.
- GÜNCÜ, M. 1989. Güney Anadolu Bölgesinde kültür bitkilerinde zarar yapan *Phytophthora* türlerinin saptanması, bunların morfolojik ve biyokimyasal yöntemlere göre tanımlanması. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara, 141s.
- HAN, Z.M., HONG, Y.D. ve B.G. ZHAO 2003. A study on pathogenicity of bacteria carried by pine wood nematodes. J. Phytopathology, 153:683-689.
- HANCOCK, J.F., 1999. Strawberries, Crop Production Science in Horticulture, CABI Publishing, 237s.
- HARMAN, G.E., LATORRE, E., AGOSIN, R., SAN MARTIN, R., RIEGEL, D.G., NIELSEN, A., TRONSMO, A. ve R.C. PEARSON 1996. Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. Biological Control 7:259-266.
- HELBIG, J. 2001. Biological Control of *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. in Strawberry by *Paenibacillus polymyxa* (Isolate 18191). J. Phytopathology 14 :265-273.

- HÖFTE, M., BOELEN, J. ve W. VERSTRAETE 1992. Survival and root colonization of mutants of plant growth-promoting pseudomonads affected in siderophore biosynthesis or regulation of siderophore production. *J. Plant Nutr.* 15:2253-2262.
- HYUN JU, K., LEE, S.H., KIM, C.S., LIM, E.K., CHOI, K.H., KONG, H.G., KIM, D.W., LEE, S.W. ve B.J. MOON 2007. Biological Control of Strawberry Gray Mold Caused by *Botrytis cinerea* Using *Bacillus licheniformis* N1 Formulation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(3):438-444.
- IPPOLITO, A., EL-GHAUTH, A., WILSON, C.L. ve M. WISNIEWSKI 2000. Control of postharvest decay of apple fruit by *Auerobasidium pullulans* and induction of defense. *Postharvest Biol. and Tech.* 19:265-267.
- IPPOLITO, A. ve F. NIGRO 2000. Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protect.* 19:715-723.
- JANISIEWICZ, W.J. 1988. Biocontrol of postharvest diseases of apples with antagonist mixtures. *Phytopathology*, 78:194-198.
- JANISIEWICZ, W.J., PETERSON, D.L. ve R. BORS 1994. Control of storage decay of apples with *Sporobolomyces roseus*. *Plant Disease*, 78:466-470.
- JARVIS, W.R. 1980. Taxonomy. In: Coley-Smith, J. R., K. Verhoe. and W. R., Jarvis (eds), *The Biology of Botrytis* spp. 1-17. Academic Press, London, New York.
- JERSCH, S., SCHERER, C. ve E. SCHLÖSSER 1989. Proanthocyanidins as basis for quiescence of *Botrytis cinerea* in immature strawberry fruits. *J. Plant Dis. Prot.* 96:365-377.
- JETIYANON, K. ve J.W. KLOEPPER 2002. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control*, 24:285-291.
- JI, P., CAMPBELL, H.L., KLOEPPER, J.W., JONES, J.B., SUSLOW, T.V. ve M. WILSON 2005. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, 36:358-367.
- JOCK, S., VÖLKSCH, B., MANSVELT, L. ve K. GEIDER 2002. Characterization of *Bacillus* strains from apple and pear trees in South Africa antagonistic to *Erwinia amylovora*. *FEMS Microbiology Letters*, 211:247-252.
- JOHNSON, K.B., STOCKWELL, V.O., MCLAUGHLIN, R.J., SUGAR, D., LOPER, J.E. ve R.G. ROBERT 1993. Effect of antagonistic bacteria on establishment of honey bee-dispersed *Erwinia amylovora* in pear blossoms and on fire blight control. *Phytopathology*, 83:995-1002.
- KARABULUT, O.A., TEZCAN, H., DAUS, A., COHEN, B., WIESS, B. ve S. DROBY 2004a. Control of Postharvest Fruit Rot in Strawberry by *Metschnikowia fructicola*. *Biocontrol Science and Technology*, 14(5):513-521.
- KARABULUT, O.A., GABLER, F.M., MANSOUR, M. ve J.L. SMILANICK 2004b. Postharvest ethanol and hot water treatments of table grapes to control gray mold. *Postharvest Biology and Technology*, 34:169-177.

KARABULUT, O.A., ARSLAN, U. AND G. KURUOGLU 2004c. Control of postharvest disease of organically grown strawberry with preharvest applications of same food additives and postharvest hot water dips. *J. Phytopathology*, 152:224-228.

KAPKIN, A. 1978. İzmir ili çileklerinde tarla döneminde ve hasat sonrasında görülen fungal etmenlerin saptanması ve bunların patojenisiteleri üzerinde araştırmalar. E.Ü. Ziraat Fak., Bitki Koruma Böl., Uzmanlık Tezi, 144s.

KIEWNICK S. ve B.J. JACOBSEN 1998. Biological control of *Cercospora beticola* on sugar beet with phyllosphere bacteria. *Molecular Approaches in Biological Control: IOBC Bulletin* 21, 279–282.

KILDEA, S., RANSBOTYN, V., KHAN, M.R., FAGAN, B., LEONARD, G., MULLINS, E ve F.M. DOOHAN 2008. *Bacillus megaterium* shows potential for the biocontrol of *Septoria tritici* blotch of wheat. *Biological Control*, 47:37-45.

KIM, H.J., LEE, S.H., KIM, C.S., LIM, E.K., CHOI, K.H., KONG, H.G., KIM, D.W., LEE, S.W. ve B.J. MOON 2006. Biological control of strawberry gray mold caused by *Botrytis cinerea* using *Bacillus licheniformis* N1 formulation. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(3):438-444.

KLEMENT, Z., ve R. N. GOODMAN 1967. The hypersensitive reaction to infection by bacterial plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 5:17-44.

KLEMENT, Z., RUDOLPH, K. ve D.C. SANDS 1990. *Methods in Phytobacteriology*. 568p. Akademiai Kiado, Budapest, 1990.

KNEIFEL, W. ve W. LEONHARDT 1992. Testing of different antibiotics against gram-positive and gram-negative bacteria isolated from plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 29(2):139-144.

KONARLI, O. 1978. Çilek Yetistireciliğinde Son Gelismeler. Yalova Bahçe Kültürleri Araştırma ve Eğitim Merkezi Yayınları, No.45. Yalova

KUNOH, H. 2002. Endophytic Actinomycetes: Attractive Biocontrol Agents. *J. Gen. Plant Pathol*, 68:249-252.

KUREK, E. ve J. JAROSZUK-SCISEL 2003. Rye (*Secale cereale*) growth promoting by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions. *Biological Control*, 26:48-56.

LEE, J.P., LEE, S.W., KIM, C.S., SON, J.H., SONG, J.H., LEE, K.Y., KIM, H.J, JUNG, S.J. ve B.J. MOON 2006. Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 37:329–337.

LEIBINGER, W., BREUKER, B., HAHN, M. ve K. MENGEN 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology*, 87:1103-1110.

LELLIOTT, R.A. ve D.E. STEAD 1987. *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. 216p. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.

- LIMA G., IPPOLITO, A., NIGRO, F. ve M. SALERNO 1997. Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots. *Postharvest Biology and Technology* 10:169-178.
- LISBY, G., GUTSCHIK, E. ve D.T. DURACK 2002. Molecular methods for diagnosis of infective endocarditis. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* 16:393-412.
- MAAS, J.L. 1984. *Compendium of Strawberry Diseases*. The American Phytopathological Society, 138p. St. Paul, MN, USA.
- MAAS, J.L. 1998. *Compendium of Strawberry Diseases*, second edition. APS pres Minnesota USA, 98p.
- MARK, G.L., MORRISEY, J.P., HIGGINS, P. ve F. O’GARA 2006. Molecular-based strategies to exploit *Pseudomonas* biocontrol strains for enviromental biotechnology applications. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 56:167-177.
- MAUDE, R.B. 1980. Disease control. In: Coley-Smith, J. R., K.Verhoe. and W. R. Jarvis (eds), *The Biology of Botrytis spp.* 275-301. Academic Press, London, New York.
- MEENA, B., RADHAJEYALAKSHMI, R., MARIMUTHU, T., VIDHYASEKARAN, P. ve R. VELAZHAHAN 2002. Biological control of groundnut late leaf spot and rust by seed and foliar applications of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens*. *Biocontrol Science and Tecnology*, 12:195-204.
- MERCIER, J. ve L. WILSON 1994. Colonization of apple wounds by naturally occuring and introduced *Candida oleophila* and their effect on infection by *Botrytis cinerea* during stage. *Biological Control* 4:138-144.
- MERTELY, J.C., CHANDLER, C.K., XIAO C.L. ve D.E. LEGARD 2000. Comparison of sanitation and fungicides for management of *botrytis* fruit rot of strawberry. *Plant Dis.* 84:1197-1202.
- MIKANI, A., ETEBARIAN, H.R., SHOLBERG, P.L., O’GORMAN, D.T., STOKES, S. ve A. ALIZADEH 2008. Biological control of apple gray mold caused by *Botrytis mali* with *Pseudomonas fluorescens* strains. *Postharvest Biology and Technology*, 48:107–112.
- NEI, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 106:283–293.
- NUNES, C., MOHAMMED, B., VALERIE, S., TERESA, M., ROSARIO, T., JOSEP, U. ve M.H. JIJAKLI 2008. Development and application of a SCAR marker to monitor and quantify populations of the postharvest biocontrol agent *Pantoea agglomerans* CPA-2. *Postharvest Biol. and Tech.* 47:422–428.
- ONGENA, M., DAAYF, F., JACQUES, P., THONART, P., BENHAUMOU, N., PAULITZ, T.C. ve R.R. BELANGER 2000. Systemic induction of phytoalexins in cucumber in response to treatments with fluorescent pseudomonads. *Plant Pathology*, 49:523-530.
- OGAWA, J.M., ZEHR, E.I., BIRD, G.W., RITCHIE, D.F., URIU, K. ve J.K. UYEMOTO 1995. *Compendium of Stone Fruit Disease*. APS, St. Paul, Minnesota, p.98.

- OUOBA, L.I.I, DIAWARA, B., AMOA-AWUA, W.K., TRAORE, A.S. ve P.L. MOLLER 2004. Genotyping of starter cultures of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* for fermentation of African locust bean (*Parkia biglobosa*) to produce Soumbala. International Journal of Food Microbiology, 90:197-205.
- ÖZAKTAN, H., BORA, T. ve N. ALTIN 2002. Establishment of *Pantoea agglomerans* strain Eh 24 on pear blossoms and its compatibility with some chemicals. Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens. IOBC wprs Bulletin, 25:131-134.
- PALA, H. 1987. Çileklerde kök çürüklüğü etmeni ve antagonistlerinin saptanması, hastalık çıkışı üzerine toprak sterilizasyonunun etkisinin araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enst. Doktora Tezi, Adana, 120s.
- PAN, J., VICENTE, A., MARTINEZ, G.A., CHAVES, A.R. AND P.M. CIVELLO 2004. Combined use of UV-C irradiation and heat treatment to improve postharvest life of strawberry fruit. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84:1831-1838.
- PAULITZ, T.C. 2000. Population dynamics of biocontrol agents and pathogens in soils and rhizospheres. European Journal of Plant Pathology, 106:401-413.
- PENG, G., SUTTON, J.C. ve P.G. KEVAN 1992. Effectiveness of honey bees for applying the biocontrol agent *Gliocladium roseum* to strawberry flowers to suppress *Botrytis cinerea*. Can. J. Plant Pathol, 14:117-129.
- POWELSON, R.L. 1960. Initiation of strawberry fruit rot caused by *Botrytis cinerea*. Phytopathology, 50: 491-494.
- PUJOL, M., BADOSA, E., CABREFIGA, J. ve E. MONTESINOS 2005. Development of a strain-specific quantitative method for monitoring *Pseudomonas fluorescens* EPS62e, a novel biocontrol agent of fire blight. FEMS Microbiology Letters, 249:343-352.
- PUJOL, M., BADOSA, E. ve E. MONTESINOS 2007a. Environmental fate of the biocontrol agent of fire blight *Pseudomonas fluorescens* EPS62e on apple and pear using Real-time PCR and selective media. Bulletin OILB/SROP, 30(2):477-480.
- PUJOL, M., BADOSA, E. ve E. MONTESINOS 2007b. Epiphytic fitness of a biological control agent of fire blight in apple and pear orchards under Mediterranean weather conditions. FEMS Microbiol. Ecol. 59:186-193.
- PUSEY, P.L., WILSON, C.L. ve WISNIEWSKI, M.E. 1993. Management of post-harvest diseases of fruits and vegetables-strategies to replace vanishing fungicides. In Pesticide Interactions in Crop Production, Beneficial and Deleterious Effects ed. Altman, J. pp.477-492. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- REDDY, M.V.B., ANGERS, P., GOSSELIN, A. ve J. ARUL 1998. Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry, 47(8):1515-1520.
- REYES, M.E.Q., ROHRBACH, K.G. ve R.E. PAUL 2004. Microbial antagonists control postharvest black rot of pine apple fruit. Postharvest Biology and Technology, 33:193-203.

- REYNALDI, F.J., DE GIUSTI, M.R. ve A.M. ALIPPI 2004. Inhibition of the growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. *Rev Argent Microbiol*, 36(1):52-5.
- REGUANT, C. ve A. BORDONS 2003. Typification of *Oenococcus oeni* strains by multiplex RAPD-PCR and study of population dynamics during malolactic fermentation. *Journal of Applied Microbiology*, 95:344-353.
- ROBERTS, R.G. 1994. Integrating biological-control into postharvest disease management strategies. *Hortscience* 29:758-762.
- ROBERTS, M.A. ve D.L. CRAWFORD 2000. Use of Randomly Amplified Polymorphic DNA as a Means of Developing Genus- and Strain-Specific *Streptomyces* DNA Probes. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6):2555-2564.
- RUDRESH, D.L, SHIVAPRAKASH, M.K ve R.D. PRASAD 2005. Effect of combined application of *Rhizobium*, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma* spp. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). *Applied Soil Ecology*, 28:139-146.
- SAAD, M.M., SAAD, A.M. ve H.M. HASSAN 2005. Biological control of the pathogenic fungus *Botrytis cinerea* on bean leaves by using *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium*. *African Journal of Mycology and Biotechnology*, 13:21-34.
- SANDS, D. C. 1990. Physiological criteria-determinate tests. In: *Methods in Phytobacteriology*. (Edts. Klement, Z.; Rhudolp, K.; Sands, D. C.) Academia Kiado, Budapest, Hungary
- SCHENA, L., IPPOLITO, A., ZAHAVI, T., COHEN, L., NIGRO, F. ve S. DROBY 1999. Genetic diversity and biocontrol activity of *Aureobasidium pullulans* isolates against postharvest rots. *Postharvest Biology and Technology*, 17:189–199.
- SCHENA L., NIGRO, F., PENTIMONE, I., LIGORIO, R. ve A. IPPOLITO 2003. Control of Postharvest Rots of Sweet Cherries and Table Grapes with Endophytic Isolates of *Aureobasidium pullulans*. *Postharvest Biology and Technology*, 30:209-220.
- SCHÖNBECK, F. 1967. Untersuchungen Über Blüteninfektionen III, Fruchtfäule der Erdbeere (*Fragaria vesca*). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten Pflanzenschutz*, 74:72-75.
- SMILANICK, J.L., DENNIS-ARRUE, R., BOSCH, J.R., GONZALES, A.R., HENSON, D. ve W.J. JANISIEWICZ 1993. Control of postharvest Brown rot of nectarines and peaches by *Pseudomonas* species. *Crop Protect.* 12:513-520.
- SNOWDON, A.L. 1990. *A Colour Atlas of Post-harvest Diseases and Disorders of Fruits and Vegetables*. 1: General Introduction and Fruits. 302p. Wolfe Scientific, London.
- SOMEYA, N., KATAOKA N., KOMAGATA T., HIRAYAE K., HIBI T. ve K. AKUTSU 2000. Biological Control of Cyclamen Soilborne Diseases by *Serratia marcescens* Strain B2. *Plant Disease*, 84:334-340.
- SOMEYA, N., NAKAJIMA, M., HIRAYAE, K., HIBI, T. ve K. AKUTSU 2001. Synergistic Antifungal Activity of Chitinolytic Enzymes and Prodigiosin Produced by Biocontrol Bacterium, *Serratia marcescens* Strain B2 against Gray Mold Pathogen, *Botrytis cinerea*. *J. Gen. Plant Pathol*, 67:312-317.

- SONODA, R.M., GUO, Z.T. ve S. NEMEC 1996. Effect of spray applications of *Bacillus subtilis* on post bloom fruit drop of citrus. *Phytopathology*, 86:52–53.
- SPADARO, D. ve M.L. GULLINO 2004. State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology*, 91:185-194.
- SPADARO, D., GARIBALDI, A. ve M.L. GULLINO 2004. Control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* on apple combining a biocontrol agent with hot water dipping and acibenzolar-S-methyl, baking soda, or ethanol application. *Postharvest Biology and Technology*, 33:141-151.
- STOCKWELL, V.O., JOHNSON, K.B. ve J.E. LOPER 1998. Establishment of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* on pear and apple blossoms as influenced by inoculum preparation. *Phytopathology*, 506-513.
- SWADLING, I.R. ve P. JEFFRIES 1996. Isolation of microbial antagonist for biocontrol of gray mould of strawberries. *Biocontrol Sci. Technol.* 6:125-136.
- SWADLING, I.R. ve P. JEFFRIES 1998. Antagonistic properties of two bacterial biocontrol agents of grey mould disease. *Biocontrol Sci. Technol.* 8:439-448.
- TEMIZKAN, G. ve N. ARDA 1999. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Nobel Tıp Kitap Evleri Ltd. Şti. Bursa. s.33.
- THORNLEY, M.J. 1960. The differentiation of *Pseudomonas* from other gram-negative bacteria on the basis of arginine metabolism. *J. App. Bact.* 23(1):37-52.
- TOURE' Y., ONGENA, M., JACQUES, P., GUIRO, A. ve P. THONART 2004. Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple. *Journal of Applied Microbiology*, 96(5):1151-1160.
- TRONSMO J. ve W.S. RAA 1977. Antagonistic action of *Trichoderma pseudokoningii* against the apple pathogen *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 89:216-220.
- TROTEL-AZIZ, P., COUDERCHET, M., BIAGIANTI, B. ve A. AZIZ 2008. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. *Environmental and Experimental Botany*, 64:21-32.
- TÜREMİŞ, N., ÖZGÜVEN, A.I. ve PAYDAŞ, S. 2000. Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Çilek Yetiştiriciliği. TUBİTAK, TARP yayınları, Adana.
- VAN DER STEEN, C., JACXSENS, L., DEVLIEGHERE, F. ve J. DEBEVERE 2002. Combining high oxygen atmospheres with low oxygen modified atmosphere packaging to improve the keeping quality of strawberries and raspberries. *Postharvest Biology and Technology*, 26:49-58.
- VICENTE, A.R., G.A. MARTINEZ, P.M. CIVELLO ve A.R. CHAVES 2002. Quality of Heat-treated Strawberry Fruit During Refrigerated Storage. *Postharvest Biology and Technology* 25:59-71.
- VICCINI, G., MANNICH, M., CAPALBO, D.M.F., VALDEBENITO-SANHUEZA, R. ve D.A. MITCHELL 2006. Spore production in solid-state fermentation of rice by *Clonostachys rosae*, a biopesticide for gray mold of strawberries. *Process Biochemistry*, 42(2):275-278.

- VIVEKANANTHAN, R., RAVI, M., SARAVANAKUMAR, D., KUMAR, N., PRAKASAM, V. ve R. SAMIYAPPAN 2004. Microbially induced defense related proteins against postharvest anthracnose infection in mango. *Crop Protection*, 23:1061-1067.
- WALKER, R., ROSSALL, S. ve M.J.C. ASHER 2002. Colonization of the developing rhizosphere of sugar beet seedlings by potential biocontrol agents applied as seed treatments. *Journal of Applied Microbiology*, 92:228-237.
- WAN, M., LI, G., ZHANG, J., JIANG, D. ve H.C. HUANG 2008. Effect of volatile substances of *Streptomyces platensis* F-1 on control of plant fungal diseases. *Biological Control*, 46:552–559.
- WASHINGTON, N., SHANMUGANATHAN, C. ve C.L. FORBES 1992. Fungicide control of strawberry fruit rots and the field occurrence of resistance of *Botrytis cinerea* to iprodione, benomyl and dichlofluanid. *Crop Prot.* 11(4):355-360.
- WEI-WEI, L., WEI, M., BING-YU, Z., YOU-CHEN, D. ve L. FENG 2008. Antagonistic Activities of Volatiles from Four Strains of *Bacillus* spp. and *Paenibacillus* spp. Against Soil-Borne Plant Pathogens. *Agricultural Sciences in China*, 7(9):1104-1114.
- WHIPPS, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 52:487-511.
- WILSON, M.E. ve C.J. WISNIEWSKI 1989. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: an emerging technology. *Annu. Rev. Phytopathol.* 27: 425-441.
- WILSON, C.L., WISNIEWSKI, M.E., BILES, C.L., MCLAUGHLIN, R., CHALUTZ, E. ve S. DROBY 1991. Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: alternatives to synthetic fungicides. *Crop Protection*, 10:172–177.
- WILSON, M. ve S.E. LINDOW 1993. Interactions between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms. *Phytopathology*, 83:117–123.
- WILSON, C.L., WISNIEWSKI, M., DROBY, S. ve E. CHALUTZ 1993. A selection strategy for microbial antagonists to control postharvest diseases of fruits and vegetables, *Scientia Hort.* 53:183-189.
- WILSON, M. ve S.E. LINDOW 1994. Coexistence among epiphytic bacterial populations mediated through nutritional resource partitioning. *Applied and Environmental Microbiology*, 60:4468–4477.
- WISNIEWSKI, M.E. ve C.L. WILSON 1992. Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: Recent advances. *HortSciences* 27: 94–98.
- WSZELAKI A.L. ve E.J. MITCHAM 2003. Effect of combinations of hot water dips, biological control and controlled atmospheres for control of gray mold on harvested strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 27:255-264.
- WU, S.C., CAO, Z.H., LI, Z.G., CHEUNG, K.C. ve M.H. WONG 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizer and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 125:155-166.

YEH, F., YANG, R.C., ve T. BOYLE 2000. Popgene (v.1.32), Microsoft Windows-based freeware for population Genetic analysis. <http://www.ualberta.ca/~fyeh/Pop32.exe>. Erişim Tarihi: 05.02.2008

YEONGJUN, S., JAEPIL, L., CHOULSEUNG, K., JUHEE, S., HYUNJU, K., JAEWOO, K., DOHOON, K., HYEANCHEAL, P. ve M. BYUNGJU 2002. Biological control of gray mold rot of perilla caused by *Botrytis cinerea*. Resistance of perilla cultivars and selection of antagonistic bacteria. Plant Pathology Journal, 18:36-42.

ZHAVI, T., COHEN, L., WEISS, B., SCHENA, L., DAUS, A., KAPLUNOV, T., ZUTKHI, J., BEN-ARIE, R. ve S. DROBY 2000. Biological control of *Botrytis*, *Aspergillus* and *Rhizopus* rots on table and wine grapes in Israel. Postharvest Biology and Technology, 20:115-124.

ZHANG, H., WANG, L., DONG, Y., JIANG, S., CAO, J. ve R. MENG 2007. Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*. Biological Control, 40:287-292.

ZHANG, H., WANG, L., MAA, L., DONG, Y., JIANG, S., XU, B. ve X. ZHENG 2009. Biocontrol of major postharvest pathogens on apple using *Rhodotorula glutinis* and its effects on postharvest quality parameters. Biological Control, 48:79–83.

ZHOU, T., CHU, C.L., LIU, W.T. ve K.E. SCHANEIDER 2001. Postharvest control of blue mold and gray mold on apples using isolates of *Pseudomonas syringae*. Can. J. Plant Pathol. 23:246–252.

EK-1 2005 yılında 122 nolu *Pseudomonas fluorescens* bakterisinin uygulandığı doğal parsellerden elde

edilen izolatların genetik benzerliği ve genetik farklılıkları

İzolat lar	122	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
122		0.590	0.636	0.772	0.909	0.954	0.636	0.727	0.681	1.000	0.730	0.653	0.807	0.923	0.615	0.846	0.601	0.407	0.925	0.963	0.407	0.888	0.763	0.975	0.487	0.585	0.926	0.926	0.561	0.536	0.765	0.744	0.683	0.653	0.673	0.774	0.612	0.709	0.629	0.629	0.607	0.704	0.673	0.388	0.678	0.615	0.956	0.731	0.438	0.874	0.753	0.814	0.765									
1	0.526		0.500	0.636	0.500	0.636	0.500	0.727	0.681	0.345	0.789	0.310	0.920	0.617	0.862	0.614	0.483	0.780	0.827	0.764	0.569	0.776	0.839	0.626	0.526	0.726	0.561	0.536	0.765	0.744	0.683	0.653	0.673	0.774	0.612	0.709	0.629	0.629	0.607	0.704	0.673	0.388	0.678	0.615	0.956	0.731	0.438	0.874	0.753	0.814	0.765											
2	0.452	0.693		0.500	0.636	0.681	0.818	0.772	0.681	0.678	0.864	0.880	0.542	0.320	0.604	0.504	0.980	0.872	0.442	0.773	0.542	0.542	0.542	0.962	0.509	0.827	0.662	0.662	0.450	0.450	0.998	0.775	0.901	0.703	0.783	0.545	0.585	0.546	0.858	0.858	0.918	0.686	0.641	0.558	0.984	0.902	0.690	0.440	0.488	0.873	0.648	0.559	0.850	0.850	0.659	0.628	0.679	0.962	0.697	0.850	0.852	0.785
3	0.257	0.452	0.693		0.681	0.723	0.500	0.727	0.545	0.615	0.769	0.730	0.576	0.653	0.856	0.778	0.775	0.637	0.713	0.893	0.518	0.585	0.646	0.732	0.958	0.789	0.713	0.824	0.872	0.854	0.545	0.643	0.896	0.937	0.654	0.654	0.684	0.542	0.746	0.892	0.965	0.829	0.813	0.672	0.590	0.773	0.582	0.795	0.532	0.882	0.779	0.727	0.852	0.962	0.750	0.750	0.727	0.640	0.994	0.930	0.922	0.649
4	0.095	0.693	0.452	0.383		0.863	0.545	0.681	0.681	0.704	0.704	0.684	0.542	0.844	0.673	0.892	0.610	0.613	0.851	0.870	0.700	0.659	0.765	0.850	0.850	0.628	0.788	0.777	0.789	0.793	0.638	0.685	0.650	0.692	0.658	0.784	0.918	0.946	0.786	0.741	0.585	0.782	0.776	0.660	0.660	0.943	0.775	0.564	0.559	0.892	0.865	0.680	0.687	0.543	0.290	0.353	0.942	0.695	0.132	0.384	0.392	
5	0.046	0.452	0.383	0.318	0.146		0.681	0.818	0.727	0.804	0.584	0.980	0.672	0.932	0.763	0.742	0.552	0.342	0.567	0.649	0.631	0.968	0.984	0.962	0.737	0.460	0.980	0.543	0.634	0.807	0.670	0.830	0.280	0.658	0.495	0.567	0.740	0.439	0.545	0.565	0.545	0.784	0.687	0.480	0.492	0.633	0.359	0.750	0.397	0.837	0.658	0.854	0.455	0.762	0.776	0.739	0.590	0.448	0.985	0.464	0.558	
6	0.452	0.693	0.200	0.693	0.606	0.383		0.772	0.681	0.920	0.870	0.752	0.749	0.441	0.878	0.448	0.439	0.697	0.469	0.780	0.603	0.808	0.534	0.895	0.850	0.909	0.928	0.378	0.462	0.403	0.959	0.674	0.696	0.467	0.674	0.786	0.562	0.785	0.765	0.755	0.457	0.880	0.796	0.550	0.618	0.657	0.877	0.634	0.890	0.550	0.668	0.750	0.673	0.588	0.379	0.886	0.548	0.670	0.809	0.485	0.537	0.901
7	0.257	0.318	0.257	0.318	0.383	0.200	0.257		0.727	0.594	0.490	0.780	0.562	0.564	0.872	0.607	0.893	0.765	0.560	0.673	0.872	0.392	0.657	0.443	0.962	0.750	0.650	0.767	0.570	0.678	0.862	0.690	0.548	0.483	0.573	0.564	0.898	0.773	0.460	0.655	0.683	0.607	0.470	0.838	0.760	0.440	0.658	0.430	0.956	0.670	0.487	0.780	0.789	0.563	0.845	0.859	0.934	0.378	0.445	0.868	0.679	0.442
8	0.383	0.606	0.383	0.606	0.383	0.318	0.383	0.318		0.406	0.490	0.780	0.562	0.564	0.776	0.590	0.960	0.380	0.575	0.569	0.570	0.792	0.565	0.820	0.668	0.693	0.674	0.853	0.659	0.586	0.783	0.872	0.873	0.644	0.682	0.598	0.857	0.550	0.862	0.458	0.410	0.503	0.908	0.378	0.697	0.557	0.673	0.890	0.559	0.670	0.864	0.709	0.860	0.794	0.726	0.489	0.865	0.780	0.569	0.442	0.780	0.752
9	0.000	0.885	0.352	0.468	0.379	0.246	0.310	0.350	0.644		0.730	0.653	0.807	0.923	0.615	0.846	0.961	0.684	0.781	0.397	0.540	0.444	0.630	0.524	0.418	0.480	0.969	0.323	0.797	0.674	0.759	0.382	0.537	0.874	0.843	0.632	0.779	0.902	0.410	0.675	0.922	0.884	0.623	0.495	0.525	0.561	0.506	0.820	0.666	0.719	0.827	0.650	0.649	0.419	0.706	0.874	0.885	0.979	0.870	0.720	0.360	0.626
10	0.313	0.420	0.156	0.631	0.316	0.616	0.283	0.260	0.522	0.313		0.615	0.769	0.730	0.576	0.653	0.769	0.590	0.793	0.666	0.710	0.888	0.895	0.555	0.610	0.786	0.773	0.707	0.356	0.771	0.877	0.096	0.856	0.811	0.783	0.771	0.421	0.065	0.632	0.891	0.504	0.976	0.767	0.793	0.505	0.406	0.791	0.579	0.528	0.759	0.649	0.974	0.540	0.744	0.501	0.718	0.476	0.868	0.470	0.570	0.344	0.412
11	0.424	0.507	0.270	0.320	0.366	0.090	0.268	0.648	0.465	0.424	0.485		0.615	0.730	0.500	0.653	0.692	0.610	0.659	0.779	0.566	0.977	0.635	0.618	0.553	0.576	0.806	0.709	0.554	0.814	0.706	0.414	0.419	0.722	0.731	0.845	0.600	0.722	0.594	0.826	0.662	0.754	0.528	0.479	0.870	0.524	0.705	0.613	0.480	0.642	0.837	0.973	0.641	0.757	0.765	0.447	0.975	0.751	0.622	0.805	0.313	0.706
12	0.213	0.411	0.837	0.814	0.848	0.538	0.511	0.420	0.273	0.213	0.262	0.485		0.807	0.807	0.653	0.769	0.809	0.597	0.677	0.543	0.860	0.631	0.512	0.756	0.338	0.543	0.856	0.585	0.553	0.517	0.565	0.858	0.630	0.652	0.730	0.640	0.870	0.874	0.550	0.413	0.819	0.602	0.665	0.934	0.421	0.430	0.530	0.737	0.812	0.970	0.715	0.353	0.493	0.719	0.540	0.956	0.941	0.833	0.261	0.850	0.897
13	0.080	0.760	0.570	0.557	0.226	0.258	0.789	0.767	0.525	0.800	0.313	0.313	0.213		0.615	0.769	0.884	0.695	0.718	0.470	0.877	0.458	0.791	0.705	0.426	0.924	0.603	0.460	0.526	0.989	0.546	0.576	0.570	0.610	0.859	0.830	0.979	0.755	0.393	0.989	0.426	0.710	0.637	0.517	0.806	0.674	0.568	0.716	0.680	0.311	0.710	0.716	0.612	0.900	0.782	0.552	0.442	0.500	0.357	0.864	0.773	0.794
14	0.485	0.180	0.606	0.225	0.537	0.447	0.212	0.307	0.434	0.485	0.510	0.693	0.213	0.485		0.538	0.576	0.413	0.637	0.332	0.605	0.429	0.708	0.808	0.426	0.903	0.462	0.616	0.445	0.624	0.500	0.670	0.795	0.423	0.352	0.692	0.320	0.531	0.613	0.619	0.838	0.717	0.376	0.569	0.503	0.630	0.701	0.485	0.969	0.332	0.665	0.700	0.852	0.415	0.412	0.997	0.189	0.860	0.925			
15	0.167	0.360	0.841	0.367	0.253	0.308	0.602	0.602	0.460	0.167	0.424	0.424	0.262	0.619		0.884	0.642	0.525	0.605	0.314	0.796	0.857	0.723	0.632	0.672	0.880	0.492	0.523	0.802	0.627	0.521	0.793	0.537	0.746	0.891	0.729	0.934	0.373	0.507	0.593	0.790	0.699	0.898	0.744	0.674	0.842	0.819	0.464	0.693	0.510	0.583	0.116	0.529	0.495	0.526	0.527	0.457	0.820	0.723	0.744	0.796	
16	0.039	0.478	0.033	0.355	0.520	0.838	0.861	0.861	0.430	0.039	0.262	0.367	0.262	0.122	0.550	0.122		0.726	0.686	0.953	0.810	0.706	0.754	0.639	0.595	0.808	0.576	0.618	0.654	0.734	0.811	0.798	0.663	0.680	0.716	0.531	0.878	0.885	0.937	0.951	0.967	0.822	0.963	0.708	0.693	0.567	0.530	0.572	0.831	0.799	0.754	0.770	0.784	0.817	0.391	0.648	0.550	0.891	0.642	0.851	0.950	0.779
17	0.097	0.590	0.325	0.633	0.657	0.868	0.363	0.363	0.830	0.493	0.440	0.461	0.535	0.817	0.588	0.304	0.324		0.370	0.407	0.370																																									

EK-2 2005 yılında 173 nolu *Bacillus megaterium* bakterisinin uygulandıği doğal parsellerden elde edilen uygulamaların genetik benzerliği ve genetik farklılıkları

İzolatlar	173	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
173		0.433	0.600	0.533	0.700	0.733	0.666	0.733	0.666	0.625	0.660	0.705	0.727	0.714	0.667	0.704	0.439	0.695	0.721	0.711	0.454	0.722	0.613	0.674	0.718	0.705	0.722	0.552	0.734	0.541	0.609	0.660	0.704	0.731	0.475	0.499	0.701	0.733	0.716	0.534	0.643	0.648	0.479	0.457	0.425	0.712	0.466	0.702	0.711	0.724	0.704
1	0.838		0.566	0.766	0.533	0.500	0.500	0.566	0.500	0.584	0.781	0.397	0.540	0.444	0.730	0.576	0.653	0.856	0.778	0.775	0.637	0.853	0.893	0.518	0.585	0.646	0.732	0.958	0.789	0.713	0.824	0.872	0.854	0.545	0.643	0.896	0.937	0.654	0.654	0.654	0.542	0.746	0.782	0.965	0.829	0.813	0.732	0.509	0.439	0.992	0.784
2	0.510	0.568		0.600	0.700	0.600	0.600	0.733	0.666	0.577	0.793	0.866	0.710	0.788	0.646	0.542	0.844	0.673	0.892	0.810	0.613	0.851	0.870	0.700	0.659	0.765	0.850	0.850	0.628	0.768	0.768	0.777	0.789	0.793	0.638	0.685	0.650	0.692	0.658	0.789	0.918	0.946	0.786	0.741	0.585	0.782	0.628	0.565	0.548	0.705	0.961
3	0.628	0.265	0.510		0.633	0.600	0.533	0.666	0.666	0.610	0.569	0.779	0.566	0.847	0.980	0.672	0.932	0.763	0.742	0.552	0.342	0.567	0.649	0.631	0.968	0.864	0.962	0.737	0.440	0.490	0.543	0.873	0.507	0.670	0.830	0.829	0.280	0.658	0.495	0.567	0.740	0.439	0.545	0.565	0.545	0.784	0.591	0.631	0.698	0.518	0.988
4	0.356	0.628	0.356	0.456		0.633	0.700	0.900	0.833	0.809	0.597	0.677	0.543	0.860	0.752	0.749	0.441	0.878	0.448	0.439	0.697	0.469	0.870	0.603	0.808	0.534	0.895	0.850	0.909	0.928	0.378	0.462	0.403	0.959	0.674	0.696	0.467	0.674	0.786	0.562	0.785	0.765	0.755	0.537	0.880	0.796	0.502	0.635	0.443	0.715	0.686
5	0.310	0.693	0.518	0.518	0.456		0.666	0.733	0.666	0.785	0.718	0.470	0.877	0.458	0.780	0.562	0.564	0.872	0.607	0.893	0.765	0.560	0.673	0.872	0.670	0.657	0.443	0.962	0.750	0.650	0.767	0.750	0.678	0.862	0.690	0.548	0.483	0.573	0.564	0.898	0.773	0.460	0.655	0.683	0.607	0.454	0.555	0.829	0.863	0.815	0.872
6	0.405	0.693	0.510	0.628	0.356	0.405		0.800	0.800	0.413	0.637	0.332	0.605	0.935	0.710	0.458	0.704	0.009	0.597	0.881	0.466	0.876	0.506	0.813	0.526	0.990	0.401	0.598	0.502	0.412	0.750	0.724	0.513	0.864	0.505	0.747	0.863	0.931	0.611	0.861	0.648	0.807	0.945	0.575	0.528	0.691	0.824	0.739	0.414	0.604	0.665
7	0.310	0.568	0.310	0.405	0.105	0.310	0.223		0.933	0.642	0.525	0.605	0.314	0.796	0.726	0.879	0.463	0.809	0.737	0.965	0.655	0.624	0.801	0.792	0.623	0.684	0.902	0.843	0.585	0.953	0.702	0.951	0.735	0.617	0.651	0.466	0.567	0.475	0.535	0.956	0.631	0.771	0.899	0.694	0.890	0.553	0.795	0.952	0.679	0.484	0.690
8	0.384	0.550	0.405	0.405	0.182	0.405	0.223	0.069		0.726	0.686	0.953	0.810	0.706	0.592	0.609	0.865	0.914	0.988	0.716	0.545	0.437	0.765	0.555	0.586	0.461	0.522	0.774	0.626	0.829	0.508	0.614	0.533	0.650	0.340	0.778	0.796	0.656	0.528	0.769	0.584	0.830	0.626	0.85	0.674	0.653	0.758	0.714	0.723	0.655	0.579
9	0.575	0.516	0.440	0.461	0.535	0.816	0.588	0.304	0.324		0.759	0.450	0.765	0.750	0.741	0.889	0.615	0.569	0.770	0.577	0.509	0.794	0.590	0.845	0.678	0.743	0.772	0.535	0.497	0.675	0.996	0.646	0.835	0.403	0.656	0.647	0.757	0.533	0.598	0.672	0.455	0.819	0.504	0.266	0.874	0.744	0.408	0.785	0.704	0.675	0.600
10	0.410	0.289	0.631	0.533	0.435	0.516	0.675	0.334	0.514	0.312		0.412	0.850	0.624	0.364	0.736	0.834	0.450	0.302	0.504	0.786	0.582	0.686	0.819	0.703	0.708	0.427	0.839	0.490	0.905	0.424	0.417	0.817	0.552	0.421	0.770	0.969	0.658	0.612	0.624	0.958	0.734	0.246	0.888	0.741	0.476	0.497	0.741	0.732		
11	0.505	0.813	0.291	0.723	0.550	0.688	0.445	0.197	0.117	0.564	0.618		0.670	0.894	0.602	0.709	0.995	0.527	0.672	0.501	0.514	0.513	0.917	0.823	0.643	0.733	0.668	0.769	0.892	0.859	0.867	0.633	0.552	0.446	0.500	0.428	0.545	0.626	0.444	0.824	0.901	0.888	0.828	0.775	0.814	0.801	0.964	0.615	0.770	0.535	0.841
12	0.363	0.550	0.644	0.626	0.383	0.655	0.886	0.569	0.400	0.293	0.226	0.380		0.926	0.806	0.828	0.807	0.622	0.561	0.973	0.942	0.910	0.745	0.848	0.696	0.355	0.521	0.838	0.788	0.714	0.880	0.924	0.659	0.932	0.707	0.269	0.935	0.847	0.616	0.528	0.403	0.917	0.646	0.425	0.288	0.730	0.627	0.666	0.865	0.792	0.776
13	0.496	0.766	0.213	0.348	0.772	0.295	0.274	0.364	0.384	0.550	0.405	0.279	0.089		0.715	0.691	0.958	0.512	0.447	0.653	0.967	0.471	0.843	0.729	0.637	0.506	0.424	0.938	0.800	0.521	0.573	0.482	0.764	0.745	0.645	0.421	0.435	0.960	0.583	0.811	0.594	0.548	0.901	0.863	0.530	0.734	0.927	0.758	0.730		
14	0.383	0.320	0.320	0.366	0.090	0.268	0.648	0.544	0.458	0.309	0.906	0.428	0.244	0.335		0.545	0.783	0.897	0.987	0.608	0.754	0.639	0.595	0.808	0.576	0.618	0.654	0.285	0.603	0.759	0.404	0.680	0.370	0.346	0.967	0.637	0.820	0.445	0.915	0.956	0.731	0.438	0.874	0.802	0.690	0.728	0.620	0.386	0.653	0.428	0.679
15	0.566	0.474	0.814	0.848	0.538	0.511	0.420	0.251	0.591	0.311	0.394	0.311	0.372	0.509	0.648		0.473	0.684	0.825	0.516	0.910	0.843	0.876	0.615	0.828	0.982	0.673	0.558	0.984	0.902	0.690	0.440	0.488	0.873	0.857	0.559	0.850	0.858	0.659	0.628	0.679	0.962	0.697	0.850	0.852	0.785	0.660	0.639	0.815	0.939	0.942
16	0.791	0.547	0.557	0.226	0.258	0.789	0.767	0.937	0.205	0.455	0.526	0.155	0.263	0.112	0.270	0.663		0.804	0.366	0.743	0.714	0.499	0.874	0.641	0.407	0.791	0.987	0.672	0.590	0.773	0.582	0.795	0.532	0.882	0.779	0.727	0.852	0.962	0.750	0.750	0.727	0.640	0.984	0.390	0.922	0.649	0.402	0.734	0.811	0.525	0.422
17	0.318	0.214	0.225	0.537	0.447	0.212	0.307	0.360	0.296	0.641	0.331	0.852	0.588	0.698	0.187	0.476	0.320		0.933	0.655	0.947	0.620	0.318	0.706	0.951	0.432	0.452	0.776	0.660	0.660	0.943	0.775	0.564	0.559	0.892	0.865	0.680	0.687	0.543	0.490	0.353	0.942	0.695	0.432	0.384	0.392	0.816	0.825	0.566	0.854	0.825
18	0.399	0.432	0.367	0.253	0.308	0.602	0.602	0.471	0.102	0.320	0.758	0.308	0.529	0.643	0.052	0.239	0.685	0.443		0.735	0.849	0.551	0.586	0.816	0.392	0.347	0.664	0.687	0.480	0.492	0.633	0.359	0.750	0.397	0.837	0.658	0.854	0.455	0.762	0.776	0.379	0.590	0.458	0.985	0.464	0.558	0.855	0.673	0.936	0.683	0.828
19	0.312	0.313	0.355	0.520	0.838	0.861	0.861	0.220	0.494	0.633	0.883	0.709	0.237	0.557	0.478	0.691	0.314	0.344	0.318		0.610	0.765	0.748	0.371	0.444	0.779	0.566	0.550	0.618	0.657	0.877	0.634	0.890	0.550	0.668	0.570	0.673	0.588	0.379	0.886	0.548	0.670	0.809	0.485	0.537	0.901	0.739	0.944	0.688	0.540	0.585
20	0.769	0.575	0.633	0.657	0.868	0.363	0.395	0.503	0.561	0.526	0.831	0.108	0.083	0.456	0.140	0.336	0.103	0.201	0.140		0.637	0.801	0.694	0.380	0.897	0.933	0.838	0.760	0.440	0.658	0.430	0.956	0.670	0.487	0.780	0.789	0.563	0.845	0.599	0.934											

EK-3 2005 yılında 118 nolu *Pseudomonas vesicularis* bakterisinin uygulandığı doğal parsellerden elde edilen izolatların genetik benzerliği ve genetik farklılıkları

Izolatta r	118	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
118		0,954	0,681	0,409	0,500	0,772	0,772	0,727	0,750	0,604	0,792	0,411	0,653	0,829	0,715	0,419	0,775	0,824	0,775	0,451	0,423	0,616	0,699	0,800	0,616	0,774	0,631	0,761	0,843	0,834	0,490	0,755	0,551	0,901	0,780	0,561	0,721	0,769	0,505	0,735
1	0,046		0,727	0,363	0,454	0,818	0,818	0,772	0,542	0,720	0,458	0,704	0,6089	0,597	0,881	0,466	0,857	0,506	0,813	0,526	0,990	0,321	0,607	0,634	0,412	0,763	0,724	0,513	0,864	0,505	0,678	0,863	0,890	0,550	0,668	0,750	0,673	0,588	0,379	0,986
2	0,383	0,318		0,272	0,181	0,727	0,818	0,500	0,672	0,726	0,879	0,463	0,809	0,877	0,965	0,655	0,624	0,801	0,792	0,623	0,684	0,892	0,843	0,585	0,953	0,702	0,951	0,735	0,617	0,651	0,466	0,567	0,956	0,670	0,487	0,780	0,789	0,563	0,845	0,859
3	0,893	1,011	1,299		0,636	0,363	0,272	0,409	0,749	0,592	0,609	0,865	0,914	0,988	0,716	0,545	0,437	0,765	0,555	0,586	0,561	0,522	0,774	0,626	0,829	0,508	0,614	0,533	0,650	0,340	0,778	0,796	0,559	0,670	0,864	0,709	0,860	0,794	0,676	0,489
4	0,693	0,788	1,704	0,452		0,454	0,363	0,590	0,562	0,641	0,889	0,615	0,569	0,770	0,577	0,509	0,794	0,650	0,845	0,678	0,743	0,772	0,535	0,497	0,675	0,823	0,646	0,835	0,403	0,656	0,647	0,757	0,666	0,719	0,827	0,650	0,649	0,419	0,706	0,874
5	0,258	0,200	0,318	1,011	0,788		0,818	0,6818	0,458	0,364	0,736	0,874	0,738	0,450	0,302	0,524	0,678	0,582	0,686	0,819	0,651	0,708	0,427	0,839	0,490	0,905	0,424	0,417	0,817	0,552	0,586	0,770	0,528	0,759	0,649	0,974	0,540	0,744	0,501	0,718
6	0,257	0,200	0,200	1,299	1,011	0,200		0,6818	0,879	0,602	0,709	0,995	0,527	0,762	0,501	0,514	0,513	0,917	0,823	0,643	0,733	0,668	0,687	0,796	0,859	0,867	0,633	0,552	0,446	0,500	0,428	0,545	0,480	0,642	0,837	0,973	0,631	0,757	0,765	0,447
7	0,318	0,257	0,693	0,893	0,526	0,383	0,383		0,609	0,806	0,828	0,807	0,622	0,561	0,973	0,942	0,810	0,745	0,848	0,696	0,355	0,654	0,838	0,788	0,714	0,880	0,924	0,659	0,932	0,707	0,269	0,935	0,737	0,812	0,970	0,715	0,353	0,493	0,719	0,540
8	0,315	0,674	0,814	0,848	0,538	0,511	0,220	0,451		0,715	0,691	0,958	0,512	0,447	0,653	0,967	0,471	0,843	0,729	0,637	0,506	0,424	0,838	0,840	0,521	0,573	0,482	0,764	0,745	0,645	0,742	0,864	0,680	0,311	0,710	0,716	0,612	0,900	0,782	0,652
9	0,492	0,372	0,318	0,654	0,309	0,906	0,428	0,244	0,335		0,789	0,654	0,901	0,586	0,427	0,643	0,387	0,432	0,452	0,776	0,756	0,660	0,635	0,808	0,499	0,757	0,934	0,837	0,768	0,925	0,745	0,502	0,635	0,443	0,715	0,686	0,897	0,508	0,285	0,603
10	0,305	0,662	0,278	0,452	0,311	0,394	0,311	0,372	0,509	0,362		0,698	0,670	0,588	0,809	0,655	0,640	0,347	0,664	0,687	0,480	0,492	0,512	0,684	0,575	0,760	0,970	0,713	0,907	0,849	0,678	0,575	0,829	0,863	0,815	0,872	0,706	0,877	0,558	0,984
11	0,681	0,304	0,665	0,243	0,455	0,526	0,155	0,263	0,112	0,442	0,504		0,438	0,660	0,573	0,858	0,654	0,779	0,566	0,550	0,618	0,657	0,490	0,456	0,714	0,643	0,837	0,429	0,732	0,760	0,415	0,924	0,739	0,414	0,604	0,665	0,880	0,799	0,672	0,590
12	0,483	0,505	0,241	0,085	0,641	0,331	0,852	0,588	0,698	0,101	0,440	0,632		0,548	0,785	0,590	0,647	0,897	0,933	0,838	0,760	0,440	0,781	0,610	0,474	0,615	0,613	0,723	0,559	0,610	0,431	0,795	0,952	0,679	0,484	0,690	0,748	0,479	0,776	0,660
13	0,265	0,579	0,368	0,180	0,320	0,758	0,308	0,529	0,643	0,498	0,553	0,428	0,580		0,436	0,656	0,877	0,739	0,608	0,378	0,697	0,657	0,822	0,674	0,505	0,626	0,582	0,797	0,500	0,926	0,894	0,758	0,714	0,723	0,655	0,579	0,976	0,754	0,687	0,480
14	0,342	0,274	0,075	0,384	0,633	0,883	0,709	0,237	0,557	0,622	0,590	0,612	0,272	0,619		0,778	0,547	0,592	0,861	0,495	0,525	0,561	0,597	0,728	0,883	0,543	0,971	0,705	0,477	0,743	0,600	0,408	0,833	0,704	0,675	0,673	0,514	0,898	0,550	0,618
15	0,646	0,690	0,427	0,573	0,541	0,526	0,831	0,108	0,083	0,433	0,219	0,560	0,612	0,472	0,367		0,756	0,682	0,842	0,793	0,655	0,406	0,588	0,684	0,782	0,788	0,743	0,814	0,991	0,624	0,807	0,741	0,476	0,497	0,741	0,732	0,838	0,867	0,838	0,760
16	0,334	0,397	0,485	0,635	0,496	0,424	0,500	0,380	0,819	0,456	0,430	0,242	0,462	0,263	0,587	0,352		0,808	0,722	0,479	0,870	0,524	0,787	0,774	0,972	0,411	0,741	0,891	0,720	0,580	0,788	0,844	0,615	0,770	0,535	0,841	0,782	0,814	0,378	0,697
17	0,263	0,704	0,259	0,445	0,560	0,478	0,280	0,465	0,367	0,778	0,863	0,228	0,197	0,363	0,608	0,462	0,290		0,609	0,767	0,605	0,941	0,942	0,739	0,956	0,957	0,522	0,896	0,781	0,667	0,804	0,627	0,666	0,865	0,792	0,776	0,954	0,605	0,495	0,525
18	0,326	0,417	0,438	0,675	0,385	0,544	0,190	0,382	0,501	0,598	0,386	0,377	0,096	0,439	0,179	0,230	0,352	0,453		0,590	0,577	0,624	0,638	0,867	0,507	0,465	0,943	0,420	0,708	0,844	0,682	0,530	0,734	0,927	0,758	0,730	0,636	0,796	0,793	0,505
19	0,641	0,487	0,600	0,427	0,335	0,404	0,402	0,317	0,376	0,298	0,387	0,524	0,236	0,696	0,437	0,721	0,465	0,443	0,631		0,889	0,574	0,622	0,741	0,635	0,915	0,989	0,005	0,465	0,552	0,453	0,120	0,386	0,653	0,428	0,679	0,590	0,621	0,479	0,870
20	0,570	0,230	0,546	0,759	0,477	0,579	0,369	0,865	0,714	0,575	0,755	0,617	0,475	0,538	0,538	0,180	0,269	0,426	0,476	0,237		0,847	0,515	0,833	0,686	0,863	0,777	0,785	0,726	0,474	0,585	0,660	0,639	0,915	0,939	0,422	0,673	0,798	0,665	0,934
21	0,467	0,622	0,251	0,501	0,251	0,445	0,555	0,502	0,599	0,643	0,811	0,483	0,700	0,583	0,854	0,676	0,958	0,457	0,498	0,609	0,256		0,774	0,772	0,70	0,691	0,767	0,767	0,501	0,449	0,699	0,402	0,734	0,811	0,525	0,942	0,705	0,678	0,717	0,806
22	0,490	0,632	0,207	0,456	0,695	0,623	0,461	0,392	0,292	0,575	0,698	0,720	0,339	0,388	0,533	0,542	0,382	0,128	0,572	0,428	0,506	0,401		0,586	0,795	0,874	0,754	0,675	0,610	0,569	0,779	0,566	0,888	0,895	0,555	0,619	0,786	0,723	0,707	0,356
23	0,648	0,758	0,605	0,634	0,763	0,351	0,536	0,472	0,420	0,422	0,546	0,772	0,620	0,556	0,542	0,586	0,434	0,471	0,300	0,279	0,217	0,498	0,586		0,843	0,967	0,929	0,706	0,809	0,597	0,677	0,543	0,977	0,635	0,618	0,553	0,576	0,806	0,809	0,554
24	0,434	0,608	0,257	0,191	0,345	0,720	0,394	0,306	0,499	0,514	0,438	0,299	0,539	0,508	0,347	0,448	0,213	0,189	0,703	0,415	0,514	0,430	0,318	0,243		0,791	0,663	0,498	0,695	0,718	0,470	0,877	0,860	0,631	0,512	0,756	0,338	0,543	0,856	0,585
25	0,388	0,300	0,508	0,542	0,054	0,305	0,230	0,170	0,477	0,587	0,460	0,577	0,605	0,594	0,470	0,115	0,639	0,173	0,585	0,475	0,207	0,619	0,254	0,102	0,302		0,683	0,572	0,413	0,637	0,332	0,685	0,458	0,791	0,705	0,426	0,924	0,803	0,460	0,626
26	0,478	0,466	0,129	0,576	0,544	0,656	0,474	0,266	0,708	0,089	0,053	0,186	0,410	0,441	0,149	0,377	0,559	0,748	0,347	0,081	0,433	0,402	0,365	0,071	0,473	0,420		0,765	0,642	0,525	0,605	0,314	0,935	0,707	0,888	0,706	0,650	0,696	0,427	0,513
27	0,332	0,697	0,305	0,677	0,375	0,623	0,478	0,551	0,446	0,393	0,517	0,801	0,507	0,433	0,318	0,209	0,169	0,334	0,790	1,205	0,305	0,441	0,427	0,302	0,623	0,585	0,374		0,726	0,686	0,953	0,810	0,796	0,857	0,723	0,632	0,672	0,880	0,492	0,523
28	0,276	0,397	0,683	0,611	0,858	0,483	0,764	0,329	0,516	0,492	0,353	0,528	0,701	0,760	0,746	0,232	0,510	0,232	0,522	0,680	0,484	0,684	0,475	0,535	0,817	0,588	0,304	0,324		0,685	0,704	0,844	0,706	0,754	0,639	0,595	0,808	0,576	0,618	0,654
29	0,294	0,508	0,409	0,673	0,357	0,508	0,582	0,306	0,368	0,095	0,171	0,26																												

EK-4 2006 yılında 122 nolu *Pseudomonas fluorescens* bakterisinin uygulandığı doğal parsellerden elde

edilen izolatların genetik benzerliği ve genetik farklılıkları

İzolat no	122	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
122		0,857	0,285	0,928	0,571	1,000	1,000	0,857	1,000	0,857	1,000	0,857	1,000	0,857	1,000	0,863	0,909	0,909	1,000	0,409	0,681	0,681	0,526	0,894	0,473	0,526	0,561	0,609	0,731	0,487	0,609	0,512	0,644	0,784	0,773	0,644	0,723	0,484	0,618	0,689	0,542	0,762	0,569	0,778	0,606	0,571	0,627	0,774	0,594	0,525	0,786	0,708	0,593	0,722							
1	0,154		0,452	0,928	0,428	0,857	0,857	1,000	0,712	0,727	0,503	0,534	0,660	0,639	0,915	0,627	0,666	0,865	0,792	0,776	0,954	0,605	0,495	0,525	0,729	0,890	0,550	0,684	0,700	0,489	0,609	0,512	0,644	0,784	0,773	0,644	0,723	0,484	0,618	0,689	0,542	0,762	0,569	0,778	0,606	0,571	0,627	0,774	0,594	0,525	0,786	0,708	0,593	0,722							
2	1,252	1,945		0,214	0,714	0,285	0,285	0,442	0,778	0,501	0,449	0,699	0,402	0,734	0,811	0,530	0,734	0,927	0,758	0,730	0,636	0,790	0,793	0,505	0,567	0,956	0,670	0,562	0,680	0,789	0,563	0,845	0,859	0,567	0,649	0,631	0,968	0,984	0,962	0,737	0,440	0,490	0,543	0,673	0,507	0,670	0,830	0,829	0,280	0,658	0,495	0,567	0,740	0,439	0,545	0,565	0,545	0,784	0,591	0,631	0,698
3	0,074	0,074	1,540		0,500	0,928	0,928	0,928	0,895	0,861	0,616	0,675	0,816	0,857	0,566	0,120	0,386	0,653	0,428	0,679	0,590	0,621	0,479	0,870	0,796	0,559	0,670	0,864	0,709	0,860	0,794	0,676	0,489	0,469	0,670	0,603	0,808	0,534	0,895	0,850	0,909	0,928	0,378	0,462	0,403	0,959	0,674	0,696	0,467	0,674	0,786	0,562	0,785	0,765	0,755	0,537	0,880	0,796	0,502	0,635	0,443
4	0,009	0,847	0,336	0,693		0,571	0,571	0,428	0,737	0,547	0,448	0,764	0,855	0,673	0,966	0,660	0,639	0,878	0,939	0,422	0,673	0,798	0,665	0,934	0,757	0,666	0,670	0,827	0,749	0,657	0,443	0,962	0,750	0,650	0,767	0,750	0,678	0,862	0,690	0,548	0,483	0,573	0,564	0,898	0,773	0,460	0,655	0,683	0,607	0,544	0,555	0,829	0,863								
5	0,559	0,154	1,252	0,074	0,559		1,000	0,857	0,892	0,669	0,740	0,575	0,739	0,944	0,636	0,402	0,734	0,811	0,512	0,942	0,705	0,678	0,717	0,806	0,682	0,528	0,759	0,827	0,950	0,540	0,714	0,501	0,718	0,876	0,506	0,813	0,526	0,990	0,401	0,598	0,502	0,412	0,750	0,724	0,513	0,864	0,505	0,747	0,863	0,931	0,611	0,861	0,648	0,807	0,945	0,575	0,528	0,691	0,924	0,739	0,414
6	0,000	0,154	1,252	0,074	0,559	0,000		0,857	0,779	0,890	0,713	0,861	0,778	0,749	0,540	0,566	0,888	0,895	0,555	0,619	0,786	0,723	0,683	0,356	0,545	0,480	0,642	0,837	0,847	0,631	0,757	0,765	0,447	0,624	0,801	0,792	0,623	0,684	0,902	0,843	0,588	0,953	0,702	0,951	0,735	0,617	0,651	0,466	0,567	0,475	0,535	0,956	0,631	0,771	0,899	0,694	0,890	0,553	0,795	0,952	0,679
7	0,154	0,000	1,945	0,074	0,847	0,154	0,154		0,868	0,576	0,873	0,578	0,554	0,707	0,660	0,543	0,977	0,635	0,618	0,553	0,576	0,806	0,809	0,554	0,935	0,737	0,812	0,970	0,715	0,533	0,493	0,719	0,540	0,437	0,765	0,555	0,586	0,461	0,522	0,774	0,626	0,829	0,508	0,614	0,533	0,650	0,340	0,778	0,796	0,656	0,528	0,769	0,584	0,830	0,626	0,85	0,674	0,653	0,758	0,714	0,723
8	0,000	0,305	0,441	0,336	0,381	0,380	0,444	0,251		0,409	0,509	0,509	1,000	1,000	1,000	0,877	0,860	0,631	0,512	0,756	0,338	0,543	0,856	0,585	0,864	0,680	0,311	0,682	0,716	0,612	0,900	0,782	0,652	0,794	0,590	0,845	0,678	0,743	0,772	0,535	0,447	0,675	0,996	0,646	0,835	0,403	0,656	0,647	0,757	0,533	0,598	0,672	0,455	0,819	0,504	0,266	0,874	0,744	0,408	0,785	0,704
9	0,893	0,484	0,684	0,284	0,469	0,417	0,177	0,475	0,893		0,181	0,409	0,409	0,409	0,409	0,685	0,458	0,791	0,705	0,426	0,924	0,803	0,460	0,626	0,492	0,635	0,443	0,715	0,686	0,897	0,508	0,285	0,603	0,876	0,582	0,686	0,819	0,703	0,708	0,427	0,839	0,490	0,905	0,424	0,417	0,817	0,552	0,421	0,770	0,969	0,658	0,613	0,624	0,958	0,734	0,946	0,743	0,888	0,741	0,476	0,497
10	0,093	0,576	0,601	0,514	0,495	0,539	0,313	0,541	0,693	1,704		0,590	0,500	0,500	0,500	0,314	0,935	0,707	0,888	0,706	0,660	0,696	0,532	0,513	0,575	0,829	0,863	0,815	0,872	0,706	0,877	0,558	0,984	0,513	0,917	0,823	0,643	0,733	0,668	0,709	0,892	0,859	0,867	0,633	0,552	0,446	0,500	0,428	0,545	0,626	0,444	0,824	0,901	0,888	0,828	0,775	0,814	0,801	0,964	0,615	0,770
11	0,095	0,705	0,601	0,695	0,471	0,391	0,516	0,507	0,095	0,893	0,526		0,909	0,909	0,909	0,810	0,796	0,857	0,723	0,632	0,672	0,880	0,492	0,414	0,604	0,605	0,680	0,880	0,799	0,627	0,950	0,910	0,745	0,848	0,696	0,355	0,521	0,838	0,788	0,714	0,880	0,924	0,659	0,932	0,707	0,269	0,935	0,847	0,616	0,528	0,403	0,917	0,646	0,425	0,288	0,730	0,627	0,666	0,736		
12	0,000	0,550	0,658	0,414	0,146	0,459	0,503	0,393	0,000	0,893	0,693	0,095		1,000	1,000	0,844	0,706	0,754	0,639	0,595	0,808	0,576	0,618	0,654	0,825	0,834	0,679	0,484	0,690	0,748	0,479	0,776	0,660	0,471	0,843	0,729	0,637	0,506	0,424	0,938	0,840	0,521	0,573	0,482	0,764	0,745	0,645	0,742	0,941	0,435	0,856	0,696	0,583	0,811	0,594	0,548	0,901	0,863	0,530	0,734	0,927
13	0,000	0,591	0,496	0,188	0,522	0,645	0,485	0,603	0,000	0,893	0,693	0,095	0,000		1,000	0,566	0,370	0,910	0,843	0,876	0,615	0,828	0,982	0,673	0,688	0,714	0,723	0,655	0,579	0,976	0,574	0,687	0,480	0,639	0,595	0,808	0,576	0,618	0,654	0,285	0,603	0,759	0,404	0,680	0,370	0,346	0,967	0,637	0,820	0,445	0,915	0,956	0,731	0,438	0,874	0,802	0,690	0,728	0,620	0,386	0,653
14	0,000	0,998	0,412	0,554	0,100	0,643	0,883	0,643	0,000	0,893	0,693	0,000	0,000		1,000	0,857	0,963	0,714	0,499	0,847	0,641	0,407	0,981	0,727	0,488	0,833	0,704	0,655	0,673	0,514	0,898	0,580	0,643	0,876	0,615	0,828	0,982	0,673	0,585	0,984	0,902	0,690	0,440	0,488	0,373	0,688	0,559	0,850	0,858	0,659	0,629	0,852	0,785	0,660	0,639	0,915					
15	0,146	0,596	0,493	1,110	0,550	0,658	0,623	0,383	0,655	0,866	0,509	0,400	0,254	0,574	0,284		0,954	0,863	0,863	0,454	0,545	0,818	0,590	0,927	0,741	0,476	0,497	0,741	0,732	0,838	0,867	0,838	0,760	0,499	0,874	0,641	0,407	0,791	0,987	0,672	0,590	0,773	0,582	0,795	0,532	0,882	0,779	0,727	0,852	0,962	0,750	0,750	0,727	0,640	0,846	0,950	0,922	0,649	0,402	0,734	0,811
16	0,095	0,564	0,496	0,627	0,591	0,496	0,213	0,348	0,772	0,295	0,274	0,364	0,384	0,993	0,307	0,046		0,909	0,909	0,409	0,590	0,863	0,545	0,772	0,779	0,566	0,847	0,980	0,672	0,932	0,763	0,742	0,870	0,620	0,318	0,706	0,951	0,432	0,452	0,776	0,660	0,660	0,943	0,775	0,564	0,559	0,892	0,865	0,680	0,687	0,543	0,490	0,353	0,942	0,695	0,432	0,384	0,392	0,816	0,825	0,566
17	0,005	0,288	0,333	0,467	0,098	0,412	0,575	0,554	0,299	0,383	0,243	0,456	0,456	0,140	0,336	0,146	0,095		0,909	0,318	0,590	0,863	0,545	0,772	0,677	0,543	0,860	0,750	0,749	0,941	0,878	0,448	0,605	0,551	0,586	0,816	0,392	0,347	0,664	0,68																					

EK-5 2006 yılında 173 nolu *Bacillus megaterium* bakterisinin uygulandığı doğal parsellerden elde edilen izolatların genetik benzerliği ve genetik farklılıkları

Izol atlar	173	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	
173		0,411	0,529	0,676	0,676	0,735	0,705	0,441	0,710	0,701	0,630	0,695	0,631	0,634	0,669	0,648	0,724	0,703	0,701	0,668	0,655	0,623	0,663	0,634	0,685	0,715	0,730	0,582	0,564	0,642	0,658	0,630	0,673	0,687	0,701	0,695	0,452	0,637	0,729	0,674	0,613	0,667	0,582	0,457	0,644	0,698	0,574	0,705	0,661	0,678	0,716	0,712	0,727	0,485	0,665	
1	0,639		0,857	0,743	0,953	0,810	0,706	0,592	0,609	0,791	0,987	0,767	0,666	0,863	0,450	0,878	0,822	0,796	0,577	0,86	0,519	0,633	0,552	0,446	0,500	0,428	0,545	0,626	0,444	0,824	0,901	0,888	0,828	0,775	0,631	0,512	0,756	0,338	0,543	0,856	0,585	0,864	0,680	0,311	0,682	0,716	0,612	0,900	0,814	0,706	0,414	0,419	0,722	0,731	0,845	
2	0,628	0,231		0,585	0,450	0,765	0,750	0,741	0,889	0,432	0,452	0,672	0,872	0,844	0,834	0,676	0,816	0,866	0,574	0,429	0,815	0,924	0,659	0,932	0,707	0,269	0,935	0,847	0,616	0,528	0,403	0,917	0,646	0,425	0,791	0,705	0,426	0,924	0,803	0,460	0,626	0,492	0,635	0,443	0,715	0,686	0,897	0,508	0,553	0,517	0,565	0,858	0,630	0,652	0,730	
3	0,515	0,304	0,579		0,412	0,850	0,624	0,364	0,736	0,347	0,664	0,853	0,654	0,605	0,841	0,777	0,808	0,883	0,924	0,758	0,594	0,482	0,764	0,745	0,645	0,742	0,941	0,435	0,960	0,696	0,583	0,811	0,594	0,548	0,707	0,888	0,706	0,650	0,696	0,532	0,513	0,575	0,829	0,863	0,815	0,872	0,706	0,877	0,989	0,546	0,576	0,570	0,787	0,859	0,830	
4	0,453	0,117	0,564	0,618		0,674	0,724	0,951	0,976	0,779	0,566	0,692	0,678	0,765	0,509	0,842	0,881	0,432	0,618	0,905	0,923	0,680	0,370	0,346	0,967	0,637	0,820	0,445	0,915	0,956	0,731	0,438	0,874	0,802	0,857	0,880	0,492	0,523	0,924	0,739	0,414	0,604	0,665	0,800	0,799	0,445	0,624	0,500	0,670	0,795	0,423	0,352				
5	0,382	0,400	0,293	0,226	0,548		0,722	0,463	0,463	0,500	0,684	0,631	0,710	0,458	0,704	0,009	0,597	0,881	0,466	0,707	0,506	0,440	0,488	0,873	0,463	0,559	0,850	0,850	0,659	0,628	0,679	0,962	0,697	0,850	0,754	0,639	0,595	0,908	0,576	0,618	0,854	0,825	0,834	0,679	0,484	0,690	0,748	0,479	0,802	0,627	0,521	0,793	0,537	0,746	0,891	
6	0,327	0,384	0,350	0,405	0,369	0,366		0,561	0,561	0,447	0,736	0,736	0,726	0,879	0,463	0,809	0,737	0,965	0,655	0,624	0,801	0,795	0,532	0,882	0,779	0,727	0,852	0,962	0,750	0,750	0,727	0,840	0,984	0,930	0,910	0,843	0,876	0,615	0,828	0,982	0,673	0,688	0,714	0,723	0,655	0,579	0,976	0,754	0,734	0,811	0,798	0,663	0,680	0,716	0,531	
7	0,382	0,458	0,309	0,060	0,579	0,578		0,404	0,342	0,736	0,684	0,592	0,609	0,865	0,914	0,988	0,716	0,545	0,437	0,765	0,775	0,564	0,589	0,892	0,865	0,680	0,687	0,543	0,490	0,353	0,942	0,695	0,432	0,714	0,499	0,874	0,641	0,407	0,791	0,987	0,408	0,833	0,704	0,593	0,673	0,514	0,898	0,458	0,714	0,643	0,857	0,506	0,813	0,526		
8	0,325	0,591	0,311	0,394	0,090	0,769	0,578	0,680		0,473	0,763	0,657	0,741	0,889	0,615	0,569	0,770	0,577	0,509	0,794	0,650	0,359	0,750	0,397	0,837	0,658	0,854	0,455	0,762	0,776	0,379	0,590	0,458	0,985	0,863	0,863	0,454	0,545	0,818	0,590	0,727	0,741	0,476	0,497	0,741	0,732	0,838	0,867	0,610	0,474	0,615	0,624	0,801	0,792	0,623	
9	0,436	0,419	0,778	0,863	0,228	0,693	0,804	1,072	0,747		0,846	0,547	0,592	0,879	0,463	0,809	0,877	0,514	0,913	0,917	0,823	0,634	0,890	0,570	0,668	0,750	0,673	0,588	0,379	0,886	0,548	0,909	0,909	0,909	0,590	0,863	0,545	0,772	0,779	0,566	0,847	0,980	0,672	0,932	0,763	0,674	0,505	0,626	0,437	0,765	0,555	0,586	0,561			
10	0,404	0,063	0,598	0,386	0,377	0,339	0,305	0,270	0,255		0,756	0,682	0,609	0,865	0,914	0,988	0,942	0,910	0,513	0,448	0,430	0,956	0,670	0,487	0,780	0,789	0,563	0,845	0,859	0,934	0,378	0,445	0,868	0,642	0,807	0,409	0,631	0,757	0,565	0,447	0,975	0,751	0,622	0,805	0,313	0,706	0,597	0,728	0,883	0,543	0,794	0,650	0,845	0,678		
11	0,548	0,523	0,618	0,437	0,583	0,459	0,305	0,379	0,418	0,587	0,352		0,803	0,889	0,615	0,569	0,770	0,967	0,471	0,843	0,729	0,890	0,559	0,670	0,864	0,709	0,860	0,794	0,726	0,489	0,865	0,780	0,569	0,442	0,812	0,970	0,715	0,353	0,493	0,719	0,540	0,956	0,941	0,833	0,261	0,850	0,897	0,588	0,684	0,782	0,898	0,678	0,582	0,686	0,819	
12	0,449	0,544	0,338	0,556	0,710	0,340	0,544	0,458	0,309	0,608	0,462	0,271		0,736	0,874	0,738	0,450	0,754	0,639	0,595	0,808	0,820	0,666	0,719	0,827	0,650	0,649	0,419	0,706	0,874	0,885	0,979	0,870	0,720	0,311	0,710	0,716	0,612	0,900	0,782	0,652	0,442	0,500	0,357	0,864	0,773	0,794	0,787	0,774	0,972	0,411	0,513	0,917	0,823	0,643	
13	0,484	0,367	0,386	0,625	0,411	0,742	0,251	0,591	0,311	0,278	0,452	0,311	0,394		0,742	0,545	0,332	0,910	0,843	0,876	0,615	0,579	0,528	0,759	0,649	0,974	0,540	0,744	0,501	0,718	0,476	0,868	0,470	0,570	0,485	0,969	0,332	0,665	0,700	0,815	0,858	0,415	0,412	0,997	0,918	0,860	0,925	0,942	0,730	0,956	0,957	0,810	0,745	0,848	0,636	
14	0,513	0,563	0,179	0,172	0,337	0,366	0,937	0,205	0,455	0,665	0,243	0,455	0,526	0,382		0,727	0,605	0,714	0,499	0,874	0,641	0,613	0,480	0,442	0,837	0,973	0,631	0,757	0,765	0,447	0,975	0,751	0,622	0,805	0,693	0,510	0,583	0,116	0,529	0,495	0,526	0,527	0,457	0,820	0,723	0,744	0,796	0,638	0,790	0,507	0,465	0,471	0,843	0,729	0,637	
15	0,441	0,342	0,544	0,443	0,588	1,201	0,360	0,296	0,641	0,241	0,085	0,641	0,331	0,612	0,372		0,548	0,947	0,620	0,318	0,706	0,530	0,737	0,812	0,970	0,715	0,353	0,493	0,719	0,540	0,956	0,941	0,833	0,261	0,799	0,754	0,770	0,784	0,817	0,391	0,648	0,550	0,891	0,642	0,851	0,950	0,779	0,597	0,881	0,466	0,857	0,506	0,813	0,526		
16	0,318	0,201	0,207	0,215	0,500	0,493	0,471	0,102	0,320	0,368	0,180	0,320	0,758	0,341	0,422	0,588		0,849	0,551	0,586	0,816	0,716	0,680	0,311	0,710	0,716	0,612	0,900	0,782	0,652	0,442	0,500	0,357	0,864	0,652	0,871	0,829	0,928	0,676	0,154	0,338	0,081	0,726	0,771	0,710	0,788	0,877	0,965	0,655	0,624	0,801	0,792	0,623	0,684		
17	0,382	0,434	0,364	0,347	0,764	0,329	0,220	0,494	0,633	0,831	0,108	0,083	0,456	0,140	0,336	0,103	0,201		0,591	0,473	0,707	0,504	0,976	0,767	0,421	0,414	0,419	0,406	0,721	0,548	0,670	0,577	0,404	0,890	0,907	0,932	0,676	0,715	0,843	0,796	0,126	0,690	0,514	0,581	0,174	0,758	0,336	0,988	0,717	0,505	0,626	0,437	0,765	0,555	0,586	0,561
18	0,482	0,683	0,686	0,338	0,432	0,584	0,395	0,505	0,541	0,500	0,380	0,819	0,411	0,357	0,701	0,580	0,649	0,618		0,783	0,524	0,662	0,754	0,528	0,600	0,565	0,858	0,735	0,874	0,754	0,675	0,489	0,605	0,767	0,889	0,885	0,399	0,778	0,627	0,749	0,855	0,516	0,699	0,753	0,276	0,208	0,635	0,770	0,577	0,509	0,794	0,650	0,845	0,678	0,743	
19	0,351	0,160	0,591	0,262	0,177	0,583	0,676	0,853	0,496	0,280	0,465	0,367	0,695	0,194	0,196	0,752	0,494	0,6																																						

EK-6 2006 yılında 118 nolu *Pseudomonas vesicularis* bakterisinin uygulandığı doğal parsellerden elde edilen izolatların genetik benzerliği ve genetik farklılıkları

Izol atlar	122	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48
122		0,558	0,701	0,744	0,453	0,611	0,590	0,744	0,734	0,619	0,664	0,807	0,550	0,442	0,427	0,754	0,584	0,630	0,717	0,844	0,786	0,700	0,593	0,601	0,720	0,632	0,719	0,492	0,471	0,580	0,830	0,726	0,555	0,709	0,681	0,691	0,773	0,734	0,672	0,761	0,727	0,567	0,814	0,470	0,735	0,772	0,586	0,727	0,563
1	0,553		0,745	0,728	0,432	0,452	0,672	0,550	0,668	0,750	0,673	0,588	0,379	0,635	0,808	0,499	0,757	0,934	0,837	0,768	0,925	0,745	0,502	0,635	0,443	0,736	0,874	0,738	0,450	0,802	0,524	0,678	0,582	0,686	0,819	0,651	0,708	0,792	0,565	0,820	0,668	0,693	0,674	0,853	0,69	0,586	0,783	0,872	0,873
2	0,375	0,323		0,572	0,347	0,664	0,853	0,670	0,487	0,780	0,789	0,563	0,845	0,512	0,684	0,575	0,760	0,970	0,713	0,907	0,849	0,678	0,575	0,829	0,863	0,709	0,995	0,527	0,762	0,501	0,514	0,513	0,917	0,823	0,643	0,733	0,668	0,444	0,630	0,524	0,418	0,480	0,969	0,323	0,797	0,674	0,759	0,382	0,537
3	0,330	0,352	0,515		0,779	0,566	0,692	0,670	0,864	0,709	0,860	0,794	0,676	0,490	0,486	0,714	0,643	0,837	0,429	0,732	0,760	0,615	0,924	0,739	0,414	0,879	0,808	0,627	0,561	0,973	0,942	0,810	0,514	0,688	0,696	0,355	0,654	0,888	0,895	0,555	0,619	0,786	0,723	0,707	0,356	0,771	0,877	0,096	0,856
4	0,606	0,778	0,863	0,228		0,482	0,791	0,719	0,827	0,650	0,649	0,419	0,706	0,781	0,610	0,474	0,615	0,613	0,723	0,559	0,610	0,431	0,795	0,952	0,679	0,852	0,962	0,750	0,750	0,727	0,640	0,984	0,930	0,922	0,649	0,402	0,734	0,977	0,635	0,618	0,553	0,576	0,806	0,809	0,554	0,814	0,706	0,414	0,419
5	0,457	0,598	0,386	0,377	0,673		0,372	0,759	0,649	0,974	0,540	0,744	0,501	0,822	0,674	0,505	0,626	0,582	0,797	0,500	0,926	0,894	0,758	0,714	0,723	0,680	0,687	0,543	0,490	0,353	0,942	0,695	0,432	0,384	0,392	0,816	0,825	0,860	0,631	0,512	0,756	0,338	0,543	0,856	0,585	0,553	0,517	0,565	0,858
6	0,594	0,618	0,437	0,583	0,313	0,648		0,642	0,837	0,973	0,631	0,757	0,765	0,597	0,728	0,883	0,543	0,971	0,705	0,477	0,743	0,600	0,408	0,833	0,704	0,854	0,455	0,762	0,776	0,379	0,590	0,458	0,985	0,464	0,558	0,855	0,673	0,458	0,791	0,705	0,426	0,924	0,803	0,460	0,626	0,989	0,546	0,576	0,570
7	0,344	0,453	0,423	0,494	0,100	0,101	0,359		0,506	0,821	0,620	0,318	0,706	0,588	0,684	0,782	0,788	0,743	0,814	0,991	0,624	0,807	0,741	0,476	0,497	0,673	0,588	0,379	0,886	0,548	0,670	0,809	0,485	0,537	0,901	0,739	0,944	0,935	0,707	0,888	0,706	0,650	0,696	0,427	0,513	0,445	0,624	0,500	0,670
8	0,325	0,735	0,619	0,548	0,695	0,604	0,882	0,628		0,724	0,551	0,586	0,816	0,787	0,774	0,972	0,411	0,741	0,891	0,720	0,580	0,788	0,844	0,615	0,770	0,789	0,563	0,845	0,859	0,934	0,378	0,445	0,868	0,679	0,442	0,778	0,749	0,796	0,857	0,723	0,632	0,672	0,880	0,492	0,523	0,802	0,627	0,521	0,793
9	0,457	0,509	0,534	0,303	0,559	0,546	0,537	0,227	0,384		0,765	0,748	0,371	0,942	0,739	0,956	0,957	0,522	0,896	0,781	0,667	0,804	0,627	0,666	0,865	0,860	0,794	0,726	0,489	0,865	0,780	0,569	0,442	0,780	0,752	0,554	0,707	0,706	0,754	0,639	0,595	0,808	0,576	0,618	0,654	0,734	0,811	0,798	0,663
10	0,485	0,718	0,252	0,371	0,719	0,297	0,352	0,580	0,649	0,357		0,310	0,725	0,638	0,867	0,507	0,465	0,943	0,420	0,708	0,844	0,682	0,530	0,734	0,927	0,649	0,419	0,706	0,874	0,885	0,979	0,870	0,720	0,360	0,626	0,563	0,817	0,370	0,910	0,843	0,876	0,615	0,828	0,982	0,673	0,707	0,500	0,819	0,676
11	0,220	0,211	0,238	0,608	0,316	0,893	0,750	0,752	0,484	0,194	0,782		0,637	0,622	0,741	0,635	0,915	0,989	0,005	0,465	0,552	0,453	0,120	0,386	0,653	0,540	0,744	0,501	0,718	0,476	0,868	0,470	0,570	0,344	0,412	0,614	0,746	0,963	0,714	0,499	0,874	0,641	0,407	0,791	0,987	0,767	0,666	0,863	0,450
12	0,529	0,549	0,633	0,232	0,663	0,125	0,355	0,504	0,394	0,595	0,325	0,413		0,515	0,833	0,686	0,965	0,777	0,785	0,726	0,474	0,585	0,620	0,639	0,515	0,631	0,757	0,565	0,441	0,975	0,511	0,622	0,805	0,313	0,706	0,440	0,832	0,925	0,947	0,620	0,318	0,706	0,951	0,432	0,452	0,672	0,872	0,844	0,834
13	0,653	0,575	0,698	0,720	0,339	0,388	0,533	0,542	0,382	0,128	0,572	0,428	0,506		0,707	0,618	0,750	0,741	0,889	0,577	0,793	0,866	0,710	0,788	0,646	0,353	0,493	0,719	0,540	0,956	0,941	0,833	0,261	0,850	0,897	0,519	0,780	0,444	0,849	0,551	0,586	0,816	0,392	0,347	0,664	0,853	0,654	0,605	0,841
14	0,677	0,422	0,546	0,772	0,620	0,556	0,542	0,586	0,434	0,471	0,300	0,279	0,217	0,355		0,549	0,624	0,364	0,736	0,610	0,569	0,779	0,566	0,847	0,980	0,612	0,900	0,782	0,652	0,442	0,500	0,357	0,864	0,773	0,794	0,676	0,578	0,650	0,692	0,658	0,789	0,918	0,946	0,786	0,741	0,585	0,782	0,628	0,565
15	0,347	0,514	0,438	0,299	0,539	0,508	0,347	0,448	0,213	0,189	0,703	0,415	0,514	0,483	0,522		0,724	0,951	0,951	0,809	0,597	0,677	0,543	0,860	0,752	0,419	0,406	0,721	0,548	0,670	0,577	0,404	0,890	0,615	0,983	0,875	0,596	0,280	0,658	0,495	0,567	0,740	0,439	0,545	0,565	0,545	0,784	0,591	0,631
16	0,569	0,587	0,460	0,577	0,695	0,594	0,470	0,115	0,639	0,173	0,585	0,475	0,207	0,350	0,405	0,369		0,628	0,845	0,785	0,718	0,470	0,877	0,458	0,780	0,858	0,735	0,874	0,754	0,675	0,489	0,605	0,767	0,876	0,892	0,623	0,714	0,467	0,674	0,786	0,562	0,785	0,765	0,755	0,537	0,880	0,796	0,502	0,635
17	0,425	0,089	0,053	0,186	0,410	0,441	0,149	0,377	0,559	0,748	0,347	0,081	0,433	0,309	0,906	0,050	0,471		0,722	0,413	0,637	0,332	0,605	0,935	0,710	0,570	0,422	0,967	0,929	0,706	0,624	0,742	0,883	0,965	0,818	0,554	0,676	0,483	0,573	0,564	0,898	0,773	0,460	0,655	0,683	0,607	0,454	0,555	0,829
18	0,358	0,393	0,517	0,801	0,507	0,433	0,318	0,209	0,169	0,334	0,720	1,205	0,305	0,311	0,394	0,090	0,189	0,402		0,642	0,525	0,605	0,314	0,796	0,726	0,670	0,867	0,791	0,663	0,498	0,406	0,622	0,635	0,808	0,499	0,633	0,934	0,863	0,931	0,611	0,861	0,648	0,807	0,945	0,575	0,528	0,691	0,924	0,739
19	0,269	0,492	0,353	0,528	0,701	0,760	0,746	0,232	0,510	0,232	0,522	0,680	0,484	0,440	0,461	0,535	0,817	0,350	0,441		0,738	0,436	0,374	0,547	0,448	0,281	0,981	0,540	0,845	0,227	0,681	0,595	0,512	0,684	0,575	0,760	0,970	0,567	0,475	0,535	0,565	0,631	0,771	0,899	0,694	0,890	0,553	0,795	0,552
20	0,337	0,095	0,171	0,260	0,410	0,094	0,487	0,606	0,643	0,453	0,169	0,578	0,576	0,631	0,533	0,435	0,514	0,675	0,334	0,302		0,843	0,892	0,669	0,740	0,816	0,587	0,531	0,633	0,482	0,512	0,934	0,490	0,458	0,714	0,643	0,837	0,796	0,656	0,528	0,769	0,584	0,830	0,626	0,85	0,674	0,653	0,758	0,714
21	0,347	0,305	0,481	0,635	0,619	0,156	0,553	0,235	0,442	0,219	0,538	0,817	0,705	0,291	0,723	0,850	0,688	0,445	0,197	0,673	0,233		0,779	0,890	0,713	0,808	0,897	0,826	0,880																				

ÖZGEÇMİŞ

Araştırıcı 1972 yılında Bursa'da doğdu. İlk. orta ve lise öğrenimini Bursa'da tamamladı. Lisans öğrenimini Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde 1997 yılında. Yüksek Lisans öğrenimini Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Fitopatoloji Bilim Dalı'nda 2001 yılında tamamladı. 2000-2003 yılları arasında Antalya'da Ziraat İlaç Bayiliği yaptı. 2003 yılında Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Fitopatoloji Bilim Dalı'nda doktora öğrenimine başladı. Halen Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde Öğretim Görevlisi olarak çalışmakta olup evli ve iki çocuk sahibidir.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sırasında yardımlarından dolayı değerli hocam sayın Doç.Dr. Özgür KARABULUT başta olmak üzere bölümümüz öğretim üyelerinden sayın Doç.Dr. Himmet TEZCAN'a teşekkürü borç biliyorum. Ayrıca antagonist bakteriler ve biyolojik savaş konusundaki değerli görüş ve deneyimlerini benimle paylaşan Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi öğretim üyelerinden sayın Prof.Dr. Hatice ÖZAKTAN'a teşekkür ediyorum. DNA izolasyonu ve RAPD-PCR tekniğinin uygulanmasında bana yol göstererek görüş ve deneyimlerini paylaşan Uludağ Üniversitesi Zootekni Bölümü öğretim üyelerinden sayın Prof.Dr. Cengiz ELMACI'ya ve Araştırma Görevlisi Yasemin ÖNER'e teşekkür ederim. Çalışmam sırasında arazideki uygulamalar ve meyvelerin hasadında emeği geçen tüm yüksek lisans ve lisans öğrencisi olan arkadaşlarıma da teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında yakın desteği ve anlayışından dolayı eşim Nurcan İLHAN'a minnettarım.