

Farklı *Bacillus* ve *Trichoderma* Türlerini İçeren Ticari Bir Preparat İle Domateste Bakteriye Leke ve Bakteriye Solgunluk Hastalıklarının Biyolojik Mücadelesi

Benian Pınar AKTEPE^{1*}, Merve OKUR², Beykan ESGİCİOĞLU³, Yeşim AYSAN⁴

¹Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadiri Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, Kadiri, Osmaniye

^{2,4}Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Sarıçam, Adana

³Greenza, Bursa, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-4731-9954>

²<https://orcid.org/0009-0009-8832-2488>

³<https://orcid.org/0009-0003-3052-557X>

⁴<https://orcid.org/0000-0003-2647-5111>

*Sorumlu yazar: benianaktepe@osmaniye.edu.tr

Araştırma Makalesi

Makale Tarihi:

Geliş tarihi: 06.01.2024

Kabul tarihi: 06.03.2024

Online Yayınlanma: 25.06.2024

Anahtar Kelimeler:

Mikrobiyal gübre
Biyolojik mücadele
Organik tarım
Bacillus spp.
Trichoderma spp.

ÖZ

Bitki hastalıklarıyla mücadelede, dost mikroorganizmalar adeta doğanın kendi koruyucuları gibi görev yapmaktadır. Bu minik mucizeler sahip olduğu etkileyici mekanizmaları sayesinde bitkileri hastalıklardan korurken aynı zamanda doğal dengenin korunmasına ve sürdürülebilir tarımsal uygulamalara katkı sağlamaktadırlar. Çevre dostu özellikleri ve yüksek etkinlikleri nedeniyle biyolojik mücadele elemanlarının bitki hastalıklarının yönetiminde yer alması kimyasal mücadeleye alternatif bir strateji haline gelmekte ve giderek daha fazla ilgi görmektedir. Bu amaç doğrultusunda, *Xanthomonas euvesicatoria*'nın neden olduğu Bakteriye Leke ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in neden olduğu Bakteriye Solgunluk hastalıklarının biyolojik mücadelesinde farklı *Bacillus* (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus Subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*) ve *Trichoderma* (*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma konigii*) türlerini içeren ticari bir ürünün bu hastalıkları baskılayıcı etkisi araştırılmıştır. Biyolojik preparat bitkilere yeşil aksama püskürtme ve kök daldırma şeklinde uygulanmıştır. Mikrobiyal gübre ruhsatlı bu ürün Bakteriye Solgunluk hastalığını istenilen düzeyde azaltamazken Bakteriye Leke hastalığını %51 oranında oldukça başarılı bir şekilde engellemiştir. Sonuç olarak bu çalışma, çeşitli antagonistleri içeren ürünlerin, verim artırıcı özelliklerinin yanı sıra hastalıkları baskılama amacıyla da kullanıldığını bir kez daha vurgulamaktadır.

Biological Control of Bacterial Spot (*Xanthomonas euvesicatoria*) and Bacterial Wilt (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Diseases on Tomato with Different *Bacillus* and *Trichoderma* species

Research Article

Article History:

Received: 06.01.2024

Accepted: 06.03.2024

Published online: 25.06.2024

Keywords:

Microbial fertilizer
Biological control
Organic Agriculture
Bacillus spp.
Trichoderma spp.

ABSTRACT

In plant disease control, friendly microorganisms act as nature's own protectors. These tiny miracles, with their impressive mechanisms, not only protect plants from diseases but also contribute to the preservation of natural balance and sustainable agricultural practices. Due to their environmentally friendly characteristics and high effectiveness, the using of biological control agents in managing plant diseases is becoming an alternative strategy to chemical control, and is gaining increasing attention. In pursuit of this objective, the suppressive effects of a commercial product containing different *Bacillus* species (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*) and *Trichoderma* species (*Trichoderma harzianum*, *Trichoderma konigii*) in the biological control of Bacterial Spot caused by *Xanthomonas euvesicatoria* and Bacterial Wilt caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* have been investigated. The bioproduct was applied to the plants by spraying the foliage of the plants and root dipping. While this microbial

fertilizer licensed product didn't achieve the desired reduction in Bacterial Wilt, it significantly prevented Bacterial Spot by 51%. As a result, this study once again emphasizes that products containing various antagonists are used not only for their productivity-enhancing features but also for the purpose of suppressing diseases.

To Cite: Aktepe BP., Okur M., Esgicioğlu B., Aysan Y. Farklı *Bacillus* ve *Trichoderma* Türlerini İçeren Ticari Bir Preparat İle Domateste Bakteriyel Leke ve Bakteriyel Solgunluk Hastalıklarının Biyolojik Mücadelesi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2024; 7(3): 1281-1292.

1. Giriş

Artan dünya nüfusuna bağlı olarak her yıl daha fazla tarım ürününe ihtiyacı duymaktayız. Modern tarımda bitkisel ürünlerin yetiştiriciliğinde yoğun miktarda kimyasal bitki besleme uygulamaları yapılmak zorundadır. Tohum ekiminden hasada kadar olan evrede hatta hasat sonrasında bile bu ürünlerde hastalık ve zararlılardan dolayı verim kayıpları ortaya çıkmaktadır. Bunlarla mücadelede pek çok sentetik bitki koruma ürünleri kullanılmaktadır. Tarım zehiri olarak bilinen bu kimyasallar insana, doğaya ve kullanıldığı bitkiye zarar vermektedir (Raza ve ark., 2017; Morales-Cedeno ve ark., 2021). Biz bitki korumacılar, bitki hastalık ve zararlıların mücadelesinde kimyasal mücadeleye alternatif stratejileri geliştirmek üzerine pek çok araştırma yapmaktayız. Bunun en önemlisi çevreye dost insan vücuduna zarar vermeyen tarımı sürdürülebilir kılan biyolojik mücadele yöntemleridir. Bu alternatifler arasında faydalı mikroorganizmalar yoluyla biyolojik mücadele büyük önem kazanmış olup, aralarında *Bacillus*, *Pantoea*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* cinslerine ait bakteriler, *Trichoderma* ve *Clonostachys* cinslerine ait funguslar ve bazı mayaların da bulunduğu çeşitli biyolojik mücadele elemanları çalışmalara dahil edilmiştir. Günümüzde yaprak hastalıkları, kök ve gövde hastalıkları veya meyve depo hastalıklarıyla mücadele etmek için biyolojik preparatlar geliştirilmekte ve pazarlanmaktadır (Lahlali ve ark., 2022).

Biyolojik mücadelede kullandığımız dost mikroorganizmalar topraktaki fosforu çözümlenerek ve azotu fikse ederek bitkinin topraktan besin elementi alımını arttırmaktadır. Bunun yanında bitkiyi tuzluluk, kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerinden korur ve patojenik mikroorganizma saldırıları sonucu meydana gelen hastalıklarla (biyotik stres) mücadele etmesine yardım eder. Bu dost mikroorganizmalar toprakta bitkinin kök bölgesinde (rizosfer), bitkinin yeşil aksam yüzeyinde (epifitik) ve iletim demetlerinde (endofitik) olarak yaşamlarını devam ettirirler. Bunlar içerisinde en başarılı ve baskın bakteri cinsi *Bacillus* türleridir. Hem metabolik hem de genetik açıdan son derece çeşitliliğe sahip olan bu cinse ait türler, uzun ömürlü, strese dayanıklı sporlar oluşturabilme yetenekleri nedeniyle olumsuz çevre koşullarında uzun süre hayatta kalabilmektedirler. *Bacillus* türleri bitki büyümesini tetikleyen ve bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı toleransını artıran antimikrobiyal maddeler, enzimler, pigmentler ve toksinler gibi çeşitli hücre dışı metabolitler salgılamaktadırlar. Bu türlerin bazıları fitostimulanlar, biyopestisitler ve biyogübreler olarak ticari olarak mevcuttur. Bu işlevsel yönüyle *Bacillus* türleri tarımsal biyoteknoloji endüstrisinde en yaygın kullanılan türlerden biridir. Ancak potansiyeli henüz yeterince fark edilememiş olup, laboratuvar ortamından sahadaki uygulamalarına aktarılmasının üzerinde durulması gerekmektedir (Etesami ve

ark., 2023; Zhang ve ark., 2023).

Son yıllarda ticari *Bacillus* bazlı preparatların kullanımı dünya çapında önemli ölçüde artmaktadır. Bitkiler üzerindeki faydalı etkilerinin yanı sıra *Bacillus* türlerinin ortamda kalıcı olabilmesi ve uzun süreli depolama ve sahada amaca yönelik kullanım için stabil ve geçerli olması da aranan özelliklerindedir. Bu bakteriler çeşitli metabolitleri salgılayabilmeleri, endospor üretebilmeleri ve farklı ortamlarda hızla çoğalabilmeleri nedeniyle ticarileştirilmeye uygundur (Czaja ve ark., 2015; Bhattacharyya ve ark., 2016; Radhakrishnan ve ark., 2017). *Bacillus* endosporları yalnızca olumsuz çevresel koşullara dayanmakla kalmaz, aynı zamanda üretim sırasındaki tüm işlem aşamalarında da hayatta kalabilmektedir (Stamenkovi'c Stojanovi'c ve ark., 2019). Tarımsal sürdürülebilirlik için tarımsal ekosistemlerde doğal koşullar altında *Bacillus*'un çeşitliliğini ve dinamiklerini ve *Bacillus* ile patojen etkileşimin nasıl modüle edildiğini anlamak için doğal şartlarda daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir.

Trichoderma türleri bitkide sağlıklı büyümeyi teşvik eden, çeşitli bitki patojenlerine karşı koruma sağlayan ve tarımda yaygın kullanımından dolayı iyi bilinen bir fungus cinsidir (Martinez ve ark., 2023). *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma polysporum* ve *Trichoderma asperellum* biyolojik mücadele çalışmalarında yaygın olarak kullanılan *Trichoderma* türleridir (Di Marco ve ark., 2022). Birden fazla bitki patojenine karşı oldukça etkilidir, çevreyi kirletmez ve hedef patojenlerde direnç gelişimini ortaya çıkarmazlar (Keswani ve ark., 2016). Farklı ortamları kolonize etme konusunda olağanüstü bir yetenekle karakterize edilen ve neredeyse tüm toprak habitatlarında bulunabilen mezofilik fungusları içeren *Trichoderma* türleri en yaygın olarak araştırılan biyolojik mücadele elemanlarından (Druzhinina ve ark., 2018). Çeşitli çalışmalar, *Trichoderma* türleri tarafından kullanılan parazitizm, antibiyosis, besin ve yer rekabeti, bitki köklerinde kolonize olarak büyüme ve besin adsorpsiyonu, hastalıklara karşı dayanıklılığın uyarılması ve enzim inaktivasyonu gibi biyolojik mücadele mekanizmalarına sahip olduğunu ortaya koymuştur (Manzar ve ark., 2022). *Trichoderma*'lar miselyumu doğrudan istila ederek veya hücrelerin genişlemesine, deforme olmasına, kısılmasına, yuvarlaklaşmasına, protoplazmanın küçülmesine ve hücre duvarının kırılmasına neden olurlar (Shaw ve ark., 2016). Saksirirat ve ark. (2009), *Trichoderma* türlerinin *Xanthomonas vesicatoria*'nın neden olduğu Bakteriyel Leke Hastalığı da dahil olmak üzere domateslerde farklı hastalıklara karşı dayanıklılığın uyarılması uyarılmasında etkili olduğunu göstermiştir. Güncel çalışmalarda, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Pseudocercospora* türleri ve *Colletotrichum* türleri gibi çeşitli bitki patojeni funguslar üzerinde paraziter etkiye sahip olduğu da rapor edilmiştir (Andrade-Hoyos ve ark., 2020; Dugassa ve ark., 2021; Aswani ve ark., 2022; Zhang ve ark., 2022; Yao ve ark., 2023).

Bu çalışmada ülkemizde mikrobiyal gübre olarak ruhsat almış farklı *Bacillus* ve *Trichoderma* türlerini içeren bir ticari ürünün domatesteste *Xanthomonas euvesicatoria*'nın neden olduğu Bakteriyel Leke ve

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*'in neden olduğu Bakteriyel Solgunluk hastalıklarına etkisi iklim odasında yürütülen saksı çalışmalarıyla ortaya konmuştur.

2. Materyal ve Metot

Materyal

Çalışmamızda patojen bakteri olarak, Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan ve daha önceki araştırmalar kapsamında tür ve alt tür düzeyinde tanısı yapılmış patojenik izolatlar (YA-611 kodlu *Xanthomonas euvesicatoria*; (Horuz ve ark., 2018), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*; Cmm3/1A (Çetinkaya Yıldız ve Aysan, 2008) kullanılmıştır.

Denemede kullanılan biyolojik preparat, Bontera Türkiye (Turanköy Mah. Doğa Sokak No:8 Kestel, Bursa) firmasından tedarik edilmiştir. Ticari mikrobiyal gübre olarak ruhsat alınan bu organik karışım *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Trichoderma harzianum* ve *Trichoderma konigii* türlerini içermektedir.

Denemede Atlas Fide'den 3-5 yapraklı dönemde temin edilen Tutku F1 çeşidi domates fideleri çalışmada kullanılmıştır.

Çalışma, Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü'nde klima ile ısıtılıp soğutulan, 25±2°C'deki %70 neme sahip, gündüz 16 saat aydınlık ve gece 8 saat karanlık koşullara sahip iklim odasında yürütülmüştür.

Patojen bakteri izolatının geliştirilmesi ve virülensliğinin artırılması

Patojen bakterilerin uzun süre derin dondurucuda saklanması nedeniyle, izolatların virülenslik düzeyini artırmak için domateste patojenite testi gerçekleştirilmiştir (Lelliott ve Stead, 1987). YA-611 kodlu izolatın 48 saatlik kültüründen hazırlanan 10⁶ hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon, domates fidelerine el pülverizatörü ile yapraklarına püskürtülerek bulaştırılmıştır (Mirik ve ark., 2008). İklim odasında muhafaza edilen domates bitkilerinin yapraklarında bakteriyel leke belirtileri gözlemlendikten sonra bakteriyolojik tekniklere göre tek bir lekeden re-izolasyon yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Cmm3/1A kodlu izolatın 48 saatlik kültüründen hazırlanan 10⁶ hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon, domates fidelerinin kök boğazına yakın gövdesine steril bir şırınga yardımıyla inokule edilmiştir. İklim odasında muhafaza edilen domates bitkilerinde tipik hastalık belirtisi solgunluk gözlemlendikten sonra domates fideleri kesilerek iletim demetlerinde enfekteli kısımdan re-izolasyonlar yapılmıştır. Koch postulatı aşamalarının tamamlanmasının ardından, virülensliği artırılmış YA-611 ve Cmm3/1A re-izolatlarının gram reaksiyonu ve LOPAT karakterleri belirlenmiştir (Lelliott ve Stead, 1987).

Domateste Bakteriyel Leke (*Xanthomonas euvesicatoria*) ve Bakteriyel Solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) hastalıklarının biyolojik mücadelesi

Biyolojik preparat bitkilere yeşil aksam ve kök daldırma şeklinde iki uygulama olarak yapılmış ve uygulama dozu (100 gramlık toz ambalaj 1 litre klorsuz suda sıvı hale getirilip içerisinden 2 ml

alınmıştır) firmanın önerileri doğrultusunda belirlenmiştir. Birinci uygulama 3 kg'lık saksılara dikimle beraber 5-6 yapraklı dönemdeki domates fidelerine kök daldırma şeklinde yapılmıştır. İkinci uygulama üç gün sonra yeşil aksama püskürtme şeklinde uygulanmıştır (Tablo 1). İki biyolojik preparat uygulamasından üç gün sonra patojen uygulamaları yapılmıştır. YA-611 kodlu *Xanthomonas euvesicatoria* izolatının 48 saatlik taze kültüründen 2.9×10^6 hücre/ml (dansiyometre 1,27 değerinde) yoğunluğunda patojen süspansiyonu hazırlanmış (Tümen ve ark., 2022) ve yeşil aksama püskürtme şeklinde uygulanmıştır. Cmm3/1A kodlu izolatın 48 saatlik kültüründen hazırlanan 10^6 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon (Çetinkaya Yıldız ve Aysan, 2008), domates fidelerinin kök boğazına yakın gövdesine steril bir şırınga yardımıyla inokule edilmiştir. Pozitif kontrol olarak fidelere sadece patojen, negatif kontrol olarak ise sadece steril su uygulaması yapılmıştır. Çalışma, tesadüf blokları deneme desenine göre düzenlenmiş olup her uygulama 10 tekrara sahiptir. Her tekrarda 1 domates fidesi bulunmak üzere toplam 60 bitki içeren bir deneme kurulmuştur (Tablo 2). Patojen uygulamalarından 20 gün sonra hastalık belirtileri *Xanthomonas euvesicatoria* için 0-3 skalasına göre (0: yapraklarda leke yok, 1: yapraklarda 1 leke, 2: yapraklarda 2-3 leke, 3: yapraklarda 4 ve 4'ten fazla leke) (Horuz ve ark., 2019), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* için ise 0-4 skalası kullanılarak değerlendirilmiştir (Tablo 3) (Klement ve ark., 1990). Biyolojik preparatın hastalığa % etkisi Abbott formülüne ($\% \text{ etki} = (\text{kontrol-uygulama}) / \text{kontrol} \times 100$) göre hesaplanmıştır (Karman, 1971; Zhou ve ark., 2023).

Tablo 1. Patojenlerin ve biyolojik preparatın uygulanma yöntemi ve zamanı

Uygulama zamanı	Uygulama	Uygulama yöntemi
1.Uygulama	Ticari preparat	Kök daldırma
1.Uygulamadan 3 gün sonra	Ticari preparat	Yeşil aksama püskürtme
1.Uygulamadan 6 gün sonra	Patojen izolat <i>Xanthomonas euvesicatoria</i>	Yeşil aksama püskürtme
1.Uygulamadan 6 gün sonra	Patojen izolat <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	Gövdeye enjeksiyon

Tablo 2. Çalışmada yapılan uygulamalar

No	Uygulama	Uygulama yöntemi	Patojen
1	Ticari preparat+patojen	Püskürtme	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>
2	Pozitif Kontrol	Püskürtme	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>
3	Negatif Kontrol	Püskürtme	Saf su
4	Ticari preparat + patojen	Enjeksiyon	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.
5	Pozitif Kontrol	Enjeksiyon	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.
6	Negatif Kontrol	Enjeksiyon	Saf su

Tablo 3. Bakteriyel Solgunluk hastalığının değerlendirmesinde kullanılan skala

Skala Değeri	Hastalık Belirtisi
0	Hastalık yok
1	Bitkide % 1-25 solgunluk
2	Bitkide % 26-50 solgunluk
3	Bitkide % 51-75 solgunluk
4	Bitkide % 76-100 solgunluk ve bitkinin ölümü

İstatistikî analizler

Skala değerleri, CoStat İstatistik Yazılımında (CoHort Software, Pacific Grove, CA, ABD, Sürüm 6.4) varyans analizi (ANOVA) kullanılarak LSD çoklu karşılaştırma testiyle $p < 0,05$ önem düzeyine göre uygulamalar arasındaki farklılıklar ortaya konulmuştur

3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

Patojen bakteri izolatlarının geliştirilmesi ve virülensliklerinin artırılması

Domates fidelerine püskürtülerek uygulanan *Xanthomonas euvesicatoria*'nın patojenite testi sonuçlarına göre, uygulamadan 20 gün sonra bitkinin yapraklarında tipik hastalık belirtisi olan etrafi sarı bir hale ile çevrili merkezi kahverengimsi lekeler oluşmuştur. Koch postulatları tamamlanarak virülensliği artırılmış olan YA-611 kodlu izolat %0,85'lik NaCl içeren sıvı besi yerinde karanlıkta oda sıcaklığında bir sonraki çalışma için saklanmıştır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in domates fidelerine enjekte edilerek uygulanmasından 20 gün sonra bitkinin yapraklarında ve dallarında solgunluk belirtileri gözlemlenmiş ve iletim demetlerinde kahverengileşme ortaya çıkmıştır. Koch postulatları tamamlanarak virülensliği artırılmış olan Cmm3/1A kodlu izolat bir sonraki çalışmada kullanılmak üzere eğik besi yerinde +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Biyolojik preparatın domateste Bakteriyel Leke ve Bakteriyel Solgunluk hastalıklarına etkisi

Çalışmanın bu kısmında biyolojik ticari bir preparatın *in vivo* koşullarında domates fidelerinde Bakteriyel Leke ve Bakteriyel Solgunluk hastalığını engelleme potansiyelleri belirlenmiştir. Sadece hastalık etmenlerinin uygulandığı kontrol fidelerinde en yüksek oranda hastalık belirtisinin olduğu 20. günde yapılan değerlendirme sonucunda ticari preparat, Bakteriyel Solgunluk hastalığını istenilen düzeyde baskılayamazken Bakteriyel Leke hastalığını başarılı bir şekilde engellemiştir. Çalışma bulgularına göre biyolojik preparatın domates fidesinin yapraklarındaki Bakteriyel Leke Hastalığını %51 oranında oldukça başarılı bir şekilde baskıladığı belirlenmiştir. Biyolojik preparatın Bakteriyel Solgunluk hastalığına etkisinde pozitif kontrole göre istatistiksel olarak fark olmasa da hastalığı %20,12 oranında baskıladığı görülmektedir (Tablo 4).

Yapılan birçok çalışmada antagonistik izolatların antimikrobiyal bileşenler üreterek bitki gelişiminin ve dayanıklılığın teşvik edilmesi gibi mekanizmalarla toprak, tohum ve depo kökenli bakteriyel ve fungal hastalık etmenlerin engellenmesinde etkili oldukları bildirilmiştir (Sülü ve ark., 2016; Soylu ve ark., 2022; Özkaya ve Soylu, 2022). Byrne ve ark. (2005), farklı biyopreparatların domateste Bakteriyel Leke hastalığı baskılayıcı etkisini araştırdıkları çalışmada *Pseudomonas syringae* Cit7 (%36,4) ve *Pseudomonas putida* B56 (%23,1)'nın hastalığı başarılı bir şekilde azalttığını rapor etmişlerdir. *Bacillus* cinsine ait bakterilerin bitki gelişim hormonlarını sentezleyerek toprak yapısını iyileştirdiği ve topraktaki organik maddenin parçalanmasına katkıda bulunarak bitki ağırlığını artırmanın yanı sıra bitki dokusu içinde azot ve fosfor miktarını da artırdığı bilinmektedir. Bitkilerin bağışıklık sistemini uyararak patojenlere karşı dayanıklılık geliştirmelerine yardımcı olabilir (Amer ve Utkheda, 2000). Chien ve Huang (2020), domates bitkilerinin yeşil aksamına uygulanan *Bacillus*

amyloliquefaciens ve *Trichoderma asperellum*'un kombine ve bireysel kullanımının domates bitkilerinin besin elementi içerik düzeyini ve *Xanthomonas perforans*'ın neden olduğu hastalığa etkisini incelenmişlerdir. Çalışma sonucunda *B. amyloliquefaciens* ve *T. asperellum* uygulamalarının domates bitkilerinde hem P, K ve Mg içeriklerini önemli ölçüde artırdığını hem de bakteriyel hastalık şiddetini %26-56 düzeyinde azalttığını rapor etmişlerdir. Biyolojik mücadele uygulamalarının bu bakteriyel hastalığın mücadelesinde baskılayıcı etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Tokmak (2020), mikroorganizma içeren bazı ticari preparatların domateste sorun olan Bakteriyel Leke ve Bakteriyel Benek Hastalıklarına etkisini araştırdıkları çalışmada Blightban A506 (*Pseudomonas fluorescens* A506 izolatu)'nın her iki hastalığın biyolojik mücadelesinde oldukça etkili ticari preparat olduğunu bildirmiştir. Ayrıca uygulamaların bitki gelişimine etkisine baktığı çalışmasında patojen baskısı varlığında ve yokluğunda *Bacillus subtilis* QST713'ün en etkili uygulama olduğu ve patojen inokulasyonundan önce uygulandığında Bakteriyel Leke hastalığını %65 oranında oldukça başarılı bir şekilde baskıladığını tespit etmiştir. Pajcin ve ark. (2020), peynirden izole ettikleri *Bacillus velezensis* IP22'nin *in vitro* koşullarda *Xanthomonas euvesicatoria*'nın gelişimini baskıladığını saptadıkları çalışmada bu baskılayıcı mekanizmanın *B. velezensis*'in ürettiği lipopeptitlerden fengisin ve losilomisinin etkili olduğunu bildirmişlerdir. Silva ve arkadaşları (2021), domateste *Xanthomonas euvesicatoria*'nın neden olduğu Bakteriyel Leke Hastalığının mücadelesinde patojeni bitkiye bulaştırmadan önce hümik asit ve/veya biyolojik uyarıcı olarak *Herbaspirillum seropedicae* (10^8 hücre/ml) uygulamışlar ve hastalığın şiddetinin %50 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Yapılan önceki çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da farklı mikrobiyal içeriğe sahip biyolojik preparat uygulaması domates fidelerinin yeşil aksamında Bakteriyel Leke Hastalığını önemli ölçüde baskılamaktadır. Gautam ve ark. (2019), yaptıkları çalışmada *Bacillus amyloliquefaciens* S1 izolatının Domates Solgunluk Hastalığına neden olan *Clavibacter michiganensis*'e karşı potansiyel biyolojik mücadele elemanı olarak vurgulamaktadır. *Bacillus amyloliquefaciens* S1 izolatının hastalığı yüksek oranda baskılamasını antagonistik bakterinin antibakteriyel metabolit, siderofor ve litik enzimler üretme yeteneğiyle ilişkilendirmişlerdir. Bizim çalışmamızda biyolojik preparatın Bakteriyel Solgunluk hastalığına etkisinde pozitif kontrol ile aynı istatistiki grupta yer alsa da hastalığı %20,12 oranında baskıladığı görülmektedir. Bu tür araştırmalar, kimyasal mücadele yerine biyolojik mücadele yöntemlerini öne çıkarmaktadır. Bu yöntemler sayesinde, bitkilerin doğal savunma mekanizmalarını destekleyen mikroorganizmaları kullanarak hem bitki patojenleriyle mücadelede başarı şansı artırılabilir hem de ekosistem dengesi korunarak sürdürülebilir tarım yapılabilir.

Tablo 4. Biyolojik preparatın Domateste Bakteriyel Leke ve Bakteriyel Solgunluk hastalıklarına etkisi

Uygulama	No	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>			<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>		
		İndeks değeri	Ortalama	% Etki	İndeks değeri	Ortalama	% Etki
Ticari preparat +patojen	1	1,57	1,27 b*	51,10	2,00	3,27 a	20,12
	2	1,14			3,50		
	3	1,29			4,25		
	4	1,71			3,25		
	5	1,71			3,00		
	6	1,71			4,00		
	7	0,57			4,25		
	8	1,29			2,50		
	9	0,86			2,00		
	10	0,86			4,00		
Pozitif kontrol (sadece patojen)	1	2,71	2,60 a	-	4,25	4,10 a	-
	2	1,29			4,25		
	3	2,43			3,75		
	4	2,14			4,25		
	5	3,00			4,25		
	6	2,71			4,25		
	7	2,71			4,00		
	8	3,00			4,00		
	9	3,00			3,75		
	10	3,00			4,25		
Negatif kontrol (saf su)	1	0,00	0,00	-	0,00	0,00	-
	2	0,00			0,00		
	3	0,00			0,00		
	4	0,00			0,00		
	5	0,00			0,00		
	6	0,00			0,00		
	7	0,00			0,00		
	8	0,00			0,00		
	9	0,00			0,00		
	10	0,00			0,00		

*: Aynı sütunda farklı harfi içeren ortalamalar LSD ($p \leq 0,05$) testine göre istatistiksel olarak farklıdır

4. Sonuç

Biyolojik kökenli, çevre dostu mikroorganizmaların kullanımı pestisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini azaltarak tarımın daha sürdürülebilir hale gelmesine katkıda bulunabilir. Bu mikroorganizmalar aktif organizmalar olduğundan dolayı uygulandıkları alanda çoğalmaya ve gelişmeye çalışmaktadırlar. Bu nedenle bu mucizevi mikroorganizmaların bitkilerin içinde nasıl çoğaldığının daha derinlemesine anlaşılması için daha fazla çalışmaların yapılması gereklidir. Kontrollü şartlarda yapılan çalışmalardan sonra biyolojik preparatların tarla koşullarında uygulanabilmesi, kimyasal gübrelere olan ihtiyacı önemli ölçüde azaltarak sürdürülebilir mahsul verimini artıracaktır. Ülkemiz dost mikroorganizmaların kullanılmasının daha çok pratiğe aktarılmasıyla, organik tarıma önem veren gelişmiş ülkelere sebze-meyve ihracatının da önünü açacaktır. Sonuç olarak biyolojik mücadele yöntemlerinin uygulanması, ekosistem sağlığını koruyarak biyolojik çeşitliliği destekler, tarım sektöründe sürdürülebilirliği artırır ve kimyasal gübre ve pestisit

kullanımını azaltarak çevresel etkileri minimize eder, böylece hem ekosistemlere hem de ülke ekonomisine uzun vadeli faydalar sağlar.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Kaynakça

- Amer GA., Utkheda RS. Development of formulation of biological agents for management of root rots of lettuce and cucumber. *Canadian Journal of Microbiology* 2000; 46(9): 809-816.
- Andrade-Hoyos P., Silva-Rojas HV., Romero-Arenas O. Endophytic *Trichoderma* species isolated from *Persea americana* and *Cinnamomum verum* roots reduce symptoms caused by *Phytophthora cinnamomi* in avocado. *Planting Theory* 2020; 9: 1220.
- Aswani R., Roshmi T., Radhakrishnan EK. Induction of plant defense response by endophytic microorganisms. In *Biocontrol Mechanisms of Endophytic Microorganisms*. Academic Press 2022; 89-115.
- Bhattacharyya PN., Goswami MP., Bhattacharyya LH. Perspective of beneficial microbes in agriculture under changing climatic scenario. A review *Journal of Phytology* 2016; 8: 26-41.
- Byrne JM., Dianese AC., Ji P., Campbell HL., Cuppels DA., Louws FJ., Miller SA., Jones JB., Wilson M. Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. *Biological Control* 2005; 32(3): 408-418.
- Chein YC., Huang CH. Biocontrol of bacterial spot on tomato by foliar spray and growth medium application of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma asperellum*. *European Journal Plant Pathology* 2020; 156: 995-1003.
- Czaja K., Góralczyk K., Struciński P., Hernik A., Korcz W., Minorczyk M., Łyczewska M., Ludwicki JK. Biopesticides—towards increased consumer safety in the European Union. *Pest Management Science* 2015; 71(1): 3-6.
- Çetinkaya Yıldız R., Aysan Y. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (smith) Davis et. al.]’nin izolasyonu, geleneksel, serolojik ve moleküler yöntemlerle tanınması. *Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2008; 19(1): 113-122.
- Di Marco S., Metruccio EG., Moretti S., Nocentini M., Carella G., Pacetti A., Battiston E., Osti F., Mugnai L. Activity of *Trichoderma asperellum* strain ICC 012 and *Trichoderma gamsii* strain ICC 080 toward diseases of esca complex and associated pathogens. *Frontiers in Microbiology* 2022; 12: 813410.

- Druzhinina IS., Chenthamara K., Zhang J., Atanasova L., Yang D., Miao Y., Rahimi MJ., Grujic M., Cai F., Pourmehdi S., Salim KA., Pretzer C., Kopchinskiy AG., Henrissat B., Kuo A., Hundley H., Wang M., Aerts A., Salamov A., Lipzen A., LaButti K., Barry K., Grigoriev IV., Shen Q., Kubicek CP. Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall-degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. *PLoS Genetics* 2018; 14(4): e1007322.
- Dugassa A., Alemu T., Woldehawariat Y. In-vitro compatibility assay of indigenous *Trichoderma* and *Pseudomonas* species and their antagonistic activities against black root rot disease (*Fusarium solani*) of faba bean (*Vicia faba* L.). *BMC Microbiology* 2021; 21: 115.
- Etesami H., Jeong BR., Glick BR. Potential use of *Bacillus* spp. as an effective biostimulant against abiotic stresses in crops-A review. *Current Research in Biotechnology* 2023; 100128.
- Gautam S., Chauhan A., Sharma R., Sehgal R., Shirkot CK. Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* for biocontrol of bacterial canker of tomato incited by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. *Microbial Pathogenesis* 2019; 130: 196-203.
- Horuz S., Ocal A., Aysan Y. Efficacy of hot water and chemical seed treatments on bacterial speck of tomato in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin* 2018; 27(5): 3185-3190.
- Horuz S., Aktepe BP., Aysan Y. Identification of bacterial spot (*Xanthomonas euvesicatoria*) on pepper and tomatoes. 1st International Molecular Plant Protection Congress, Adana, Turkey. 2019; 92.
- Karman M. Bitki koruma araştırmalarında genel bilgiler. Demelerin kuruluşu ve değerlendirme esasları. T. C. Tarım Bakanlığı Ziraı Mücadele ve Karantina Genel Müdürlüęü Yayınları, 1971; 279 s
- Keswani C., Bisen K., Singh V., Sarma BK., Singh HB. Formulation technology of biocontrol agents: present status and future prospects. In: Arora N, Mehnaz S, Balestrini R (eds) *Bioformulations: for sustainable agriculture*. Springer, New Delhi. 2016.
- Klement Z., Mavridis A., Rudolph K., Vidaver A. Inoculation of plant tissue. In: Klement, Z., Ruholph, K., and Sands, D. C (Edts) *Methods in Phytobacteriology*, Budapest: Akadémiai Kaidó, 1990; 99s.
- Lahlali R., Ezrari S., Radouane N., Kenfaoui J., Esmaeel Q., El Hamss H., Belabess Z., Barka EA. Biological control of plant pathogens: a global perspective. *Microorganisms* 2022; 10: 596.
- Lelliott RA. Stead DE. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. *methods in plant pathology*. (T. F. Preece, Series editor), Volume 2, Published on behalf of the British Society for Plant Pathology by Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK., 1987; 219p.
- Manzar N., Kashyap AS., Goutam RS., Rajawat MVS., Sharma PK., Sharma SK., Singh HV. *Trichoderma*: advent of versatile biocontrol agent, its secrets and insights into mechanism of biocontrol potential. *Sustainability* 2022; 14: 12786.

- Martinez Y., Ribera J., Schwarze FW., De France K. Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2023; 107(18): 5595-5612.
- Mirik M., Aysan Y., Cinar O. Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* strains. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 2008; 32(5): 381-390.
- Morales-Cedeno LR., Orozco-Mosqueda MDC., Loeza-Lara PD., Parra-Cota FI., de Los Santos-Villalobos S., Santoyo G. Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre- and post-harvest diseases: fundamentals, methods of application and future perspectives. *Microbiological Research* 2021; 242: 126612.
- Özkaya S., Soylu EM. Kompostlardan elde edilen antagonist bakteri izolatlarının kavun solgunluk hastalığı etmeni *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*'e karşı *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 2022; 27(3): 565-577.
- Pajcin I., Vljakov V., Frohme M., Grebinyk S., Grahovac M., Mojicevic M., Grahovac J. Pepper bacterial spot control by *Bacillus velezensis*: Bioprocess Solution. *Microorganisms* 2020; 8: 1463.
- Radhakrishnan R., Lee IJ. Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry* 2016; 109: 181-189.
- Raza W., Ling N., Zhang R., Huang Q., Xu Y., Shen Q. Success evaluation of the biological control of *Fusarium* wilts of cucumber, banana, and tomato since 2000 and future research strategies. *Critical Reviews in Biotechnology* 2017; 37: 202-212.
- Saksirirat W., Chareerak P., Bunyatrachata, W. Induced systemic resistance of biocontrol fungus, *Trichoderma* spp. against bacterial and gray leaf spot in tomatoes. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2009; 2: 99-104.
- Shaw S., Le Cocq K., Paszkiewicz K., Moore K., Winsbury R., de Torres Zabala M., Studholme DJ., Salmon D., Thornton CR., Grant MR. Transcriptional reprogramming underpins enhanced plant growth promotion by the biocontrol fungus *Trichoderma hamatum* GD12 during antagonistic interactions with *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. *Molecular Plant Pathology* 2016; 17: 1425–1441.
- Silva A., Olivares FL., Sudré CP., Peres P., Canellas NA, Silva RM., Cozzolino V. Canellas LP. Attenuations of bacterial spot disease *Xanthomonas euvesicatoria* on tomato plants treated with biostimulants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 2021; 8: 42.
- Soylu S., Kara M., Soylu EM., Uysal A., Kurt Ş. *Geotrichum citri-aurantii*'nin sebep olduğu turunçgil ekşi çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde endofit bakterilerin biyokontrol potansiyellerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 2022; 19(1): 177-191.

- Stamenkovi'c Stojanovi'c S., Karabegovic Stanisavljevic I., Be'skoski V., Nikolic N., Lazic M. *Bacillus* based microbial formulations: Optimization of the production process. *Hemijaska industrija* 2019; 73: 14.
- Sülü SM., Bozkurt İA., Soylu S. Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2016; 21: 103-111.
- Tokmak AT. Bazı biyopreparatların domateste bakteriyel leke (*Xanthomonas euvesicatoria*) ve bakteriyel benek (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) hastalık etmenlerine etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, sayfa no: 46, İzmir, Türkiye, 2020.
- Tümen İB., Aktepe BP., Aysan Y. Tohuma uygulanan bakteriyel antagonistlerin biberde bakteriyel leke hastalığına etkisi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi* 2022; 37(2): 198-210.
- Yao X., Guo H., Zhang K., Zhao M., Ruan J., Chen J. *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 2023; 14: 1160551.
- Zhang Y., Xiao J., Yang K., Wang Y., Tian Y., Liang Z. Transcriptomic and metabonomic insights into the biocontrol mechanism of *Trichoderma asperellum* M45a against watermelon Fusarium wilt. *PLoS One* 2022; 17: e0272702.
- Zhang N., Wang Z., Shao J., Xu Z., Liu Y., Xun W., Miao Y., Shen O., Zhang R. Biocontrol mechanisms of *Bacillus*: Improving the efficiency of green agriculture. *Microbial Biotechnology* 2023; 16: 2250–2263.
- Zhou H., Li QX., Zeng L., Cao C., Zhang T., Zhou Y., He H. Uracil hydrazones: Design, synthesis, antimicrobial activities, and putative mode of action. *Pest Management Science* 2023; 1-12.