

Özgün makale (Original article)

Bağda Kurşuni Küf Hastalığı (*Botrytis cinerea* Pers.)'na karşı antagonist bakterilerle biyolojik mücadele

Biological control of Gray Mold Disease (*Botrytis cinerea* Pers.) of grapevine by antagonistic bacteria

Mehmet YILDIZ¹, Ümit ÖZYILMAZ^{2*}

Abstract: This study focused on isolating antagonistic bacteria from vineyard areas in Sarıgöl/Manisa Province and using them for biological control against Gray Mold Disease caused by *Botrytis cinerea*. Biological efficiencies of antagonists were investigated by *in-vitro* and *in-vivo* studies. The compatibilities of the antagonists with azoxystrobin and cyprodinil + fludioxonil, which are active ingredients of fungicides, were also examined. A total of 11 *B. cinerea* strains were isolated, and the B33 isolate was used as the most virulent disease isolate across the study. A total of 160 putative antagonistic bacterial isolates were obtained from healthy grape plants. Among them, 17 bacterial isolates inhibited mycelial growth of the fungal agent by between 6.8% and 80.1% in *in-vitro* dual culture tests. The antagonistic bacteria were *Bacillus halotolerans*, *B. licheniformis*, *B. safensis*, *B. subtilis*, *B. velezensis*, *Kosakonia cowanii* and *Pseudomonas aeruginosa*. Of the 17 antagonists, 13 were *Bacillus* species, while seven of them were strains of *B. velezensis*. In plant studies conducted with the A7Len4, A1Len4 and A8Len1 isolates, an efficacy of between 71.43% and 80.96% against the disease was determined. All three antagonists were compatible with up to two applications of azoxystrobin.

Keywords: *Botrytis cinerea*, biological control, antagonist bacteria, *Bacillus velezensis*

Öz: Bu çalışmada; Manisa ili Sarıgöl ilçesi bağ alanlarından antagonist bakterilerin izolasyonu ve Kurşuni Küf Hastalığına (*Botrytis cinerea*) karşı biyolojik mücadelede kullanılabilen olanakları araştırılmıştır. *In-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarla biyolojik etkinliği araştırılan antagonistlerin ayrıca azoxystrobin ve cyprodinil + fludioxonil etkili maddeli fungisitler ile uyumluluğuna da bakılmıştır. Çalışmada 11 adet *B. cinerea* izolatu elde edilmiş ve en virulent B33 izolatu çalışmanın tamamında hastalık etmeni olarak kullanılmıştır. Sağlıklı bitkilerden 160 antagonist adayı bakteri izole edilmiştir. Aday bakteri izolatları arasında 17 bakteri izolatu *in-vitro* ikili kültür testlerinde fungal etmenin misel gelişimini %6.8-%80.1 arasında engellemiştir. Antagonist bakteri izolatları *Bacillus halotolerans*, *B. licheniformis*, *B. safensis*, *B. subtilis*, *B. velezensis*, *Kosakonia cowanii* ve *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanımlanmıştır. On yedi antagonistten 13 tanesi *Bacillus* türleriyken, 7 tanesinin *B. velezensis* olduğu belirlenmiştir. A7Len4, A1Len4 ve A8Len1 izolatları ile yapılan bitki çalışmalarında, *B. cinerea*'a karşı %71.43-%80.96 arasında etki

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, Türkiye

² Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Aydın, Türkiye

*Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: uozyilmaz@adu.edu.tr

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0003-3193-3324; 0000-0003-2314-9118

Alınış (Received): 23 Temmuz 2023

Kabul edilmiş (Accepted): 15 Eylül 2023

saptanmıştır. Bu üç antagonistin de azoxystrobin etkili fungusit ile arazi dozunun iki katına kadar uyumlu olduğu bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Botrytis cinerea*, biyolojik savaş, antagonist bakteri, *Bacillus velezensis*

Giriş

Kurşuni Küf Hastalığı bağ dahil birçok bitkide verim kaybına neden olan ve *Botrytis cinerea* Pers (teleomorph: *Botryotinia fuckeliana*)'in neden olduğu fungal bir hastalıktır. Üzerinde birçok çalışmanın yapıldığı bu hastalık hem sofralık hem de şaraplık üzümlerde ciddi ürün kayıplarına neden olmakla birlikte sofralık üzümlerin ve şarapların kalitesini de bozmaktadır (Bavaresco et al. 1997; Kurt 2016).

Dünyada farklı sıcaklıktaki üzüm üretim bölgeleri de dahil olmak üzere, hem hasat öncesi hem de hasat sonrası verim kayıplarına neden olan en önemli hastalıklardan biridir (Elmer & Reglinski 2006). Hastalık ile mücadelede çok sayıda fungusit (Cyprodinil, Boscalid, Pyrimethanil, Cyprodinil + Fludioxonil, Fenhexamid, Folpet) kullanılmaktadır. Aynı etken maddelerin sık kullanılması sonucunda etken maddelere karşı hastalık etmenlerinin geliştirdiği direnç bilinen bir gerçektir (Leroux 2007). Buna ek olarak özellikle meyvesi tüketilen tarım ürünlerinde, ilaçlamaların sıklıkla yapılması bazı kalıntı problemlerini de beraberinde getirmektedir. İnsan ve çevre sağlığı düşünüldüğünde ülkeler bazı düzenlemeler yaparak etken maddeleri ruhsatlandırmalarından çıkarabilmektedir. Hatta bazı etken maddeler bir takvime bağlanarak dünyada kullanımı zaman içinde yasaklanmaktadır (Pal & Mc Spadden Gardener 2006; Compant et al. 2013). Bu konular düşünüldüğünde bilim insanları alternatif mücadele yöntemleri üzerine odaklanmaktadır. Bunlardan en popüler olanlarından biri de biyolojik mücadeledir. Bağda Kurşuni Küf Hastalığına karşı antagonist bakterilerin kullanımı, bitki gelişimini arttıran kök bakterileri ve uyarılmış dayanıklılık ile ilgili birçok çalışma yürütülmüştür (Ferreira 1990; Paul et al. 1998; Whiteman & Stewart 1998; Ait Barka et al. 2000; Rabosto et al. 2006; Magnin-Robert et al. 2007; Trotel-Aziz et al. 2008; Loqman et al. 2009; Furuya et al. 2011; Boubakri et al. 2015; Gruau et al. 2015; Haidar et al. 2016a; Kasfi et al. 2018; Nigris et al. 2018; Calvo-Garrido et al. 2019). Ülkemizde ise Kurşuni Küf Hastalığına karşı yapılan biyolojik mücadele çalışmaları domates (Yıldız 2000; Yıldız et al. 2007), patlıcan (Akça & Tozlu 2022), çilek (Çelik & Yıldız 2021; Genç Kesici & Dönmez 2022) gibi bitkiler üzerinde yapılmış, ayrıca *in-vitro* etkinlik denemeleri yürütülmüştür (Yıldız 1991; Tekiner et al. 2020). Bağda ise mayaların değerlendirildiği çalışmalar bulunmaktadır (Nağme 2005; Yıldız et al. 2009). Bakteriler biyolojik kontrol ajanları (BKA) içinde sıklıkla kullanılan mikroorganizma grubudur ve araştırmacılar çalışmaları sırasında *Bacillus* ve *Pseudomona* türleri ile sıklıkla karşılaşmaktadırlar. Birçok etki mekanizması ile hastalıkları doğrudan ya da dolaylı kontrol edebilen bu BKA'lar aynı zamanda

bitkilerin mineral ve su alımını arttırarak ya da birtakım bileşikler üreterek bitki büyümesini de teşvik etmektedir (Elad & Stewart 2007; Compant et al. 2013; Bonaterra et al. 2022). Antagonist bakterilerin hedef mikroorganizmalara olan en bilinen ve sıklıkla karşılaşılan etkileri ürettikleri metabolitleri sayesinde olmaktadır. Bu metabolitlerin büyük bir çoğunluğu ikincil metabolit olarak adlandırılır ve antibiyotik, siderofor vb. gibi işlevler olarak karşımıza çıkarlar (Sharrar et al. 2020). Hem uçucu hem uçucu olmayan bileşikler olan bu metabolitler aynı türün bireyleri arasında dahi büyük bir farklılık gösterebilmekte ve izolata özgü davranışlar sergileyebilmektedir (Kai 2020). Bu bağlamda piyasada aynı türe ait farklı antagonistlerden yapılan preparatların bulunması, biyolojik mücadele çalışmalarında farklı izolatların elde edilmeye çalışılması ve bunlar üzerine çalışmalar yürütülmesi konunun ne kadar özel bir noktada olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada bağın en önemli hastalıklarından biri olan Kurşuni Küf Hastalığına karşı etkili olabilecek antagonistik bakterilerin bulunması hedeflenmiştir. Bu amaçla elde edilen türlerin tanımlanması, *in-vitro* ve *in-vivo* testlerle biyolojik etkinlikleri araştırılmış ve bazı fungusitlerle olan uyumlulukları da incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışmada; Ekim 2021'de Manisa ilinin Sarıgöl ilçesinden izole edilen antagonist bakteri ve *Botrytis cinerea* izolatları kullanılırken, laboratuvar çalışmalarında Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitobakteriyoloji Laboratuvarı olanaklarından yararlanılmıştır. Bitki çalışmaları ise yine aynı bölüme ait 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ve ortalama 25 °C'ye ayarlı iklim odasında yürütülmüştür. Ayrıca çalışmanın tamamında Sultani Çekirdeksiz asma çeşidi kullanılmış ve meyveler ile bağ çubukları yine Manisa Sarıgöl'den temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan hastalık etmeni *B. cinerea* üzüm meyvelerinden izole edilmiştir. Bunun için Manisa Sarıgöl'den 10 farklı bağ alanından hastalık etmeni ile bulaşık olduğu tahmin edilen meyveler buz kutusu içinde laboratuvara getirilmiş ve zaman kaybetmeden izolasyon yapılmıştır. İlk önce %2'lik NaClO içinde 2 dakika bekletilerek yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ve ardından üç kere steril damıtık su ile durulanmıştır. Kurutma kağıtlarında fazla nemi alınan parçalar daha sonra Su Agar besisi yerine ekilmiş, bir hafta 20 °C'de inkübasyona bırakılmış ve gelişen fungal kolonilerin kenarlarından alınarak PDA besisi yerine aktarılmıştır (Burçak & Delen 2000). PDA besisi yerinde gelişen fungal izolatlar daha sonra mikroskop (Leica DMLS) altında incelenerek; hif, salkım şeklindeki tipik konidiospor formasyonu ve konidiosporlar araştırılmıştır (Anonymous 2008; Törün 2018). Daha sonra izolatların tek spor çalışmaları yapıp 4 °C'deki buzdolabına kaldırılarak sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir (Kızılırmak 2019).

B. cinerea şüphesi ile saklanan izolatların patojenisite testleri yapılarak izolatların virülensi belirlenmiştir. Bunun için Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidi meyveleri kullanılmıştır. Denemeye alınmadan önce meyveler 5 dakika boyunca

%2'lik NaClO içinde bekletilerek yüzey dezenfeksiyonu yapılmış, üç kere steril damıtık su ile durulanmış ve steril kurutma kağıtları üzerine alınarak kuruması için beklenmiştir. Her meyve üzerine 3 mm çapında ve 3 mm derinliğinde bir delik açılmış ve bu meyveler dibinde steril damıtık su ile nemlendirilmiş kurutma kağıtları bulunan plastik kaplara yerleştirilmiştir. Yüzeyle teması engelleyecek şekilde silikon halkalar üzerine yerleştirilen meyveler üzerindeki deliklere 15 µl olacak şekilde 1×10^5 konidi/ml yoğunluğundaki konidi süspansiyonu damlatılmıştır. Denemeler 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. 20 °C'deki bir haftalık inkübasyonun ardından lezyon çapları kumpas yardımıyla ölçülmüş ve izolatlar arasındaki farklar hesaplanmıştır (Kasfi et al. 2018).

Patojenisite çalışmalarında ve diğer spor sayımı gerektiren çalışmalarda spor konsantrasyonları Thoma lamı kullanılarak yapılmıştır. Gerek süspansiyonu oluşturulacak izolat sayısının fazla olması durumunda, gerekse seyreltmelerin hesaplanması sırasında, çalışmaları kısmen yavaşlatan bu işlemi hızlandırmak ve hesaplama hatalarını ortadan kaldırıp sporları fazla bekletmeden hızlıca çalışmaya dahil etmek amacıyla JavaScript (ECMA 2023) bilgisayar dili kullanılarak TAROT adıyla ufak bir bilgisayar programı oluşturulmuştur (ver 1.1). HTML (HyperText Markup Language) tabanlı olarak tasarlanan bu program; bilgisayara kurulum gerektirmeyen ve sadece tarayıcı kaynaklarını kullanan kodlar ile yazılmış olup, lam lamel arasındaki yükseklik, Thoma lamındaki karenin büyüklüğü, sayım yapılan kare sayısı gibi parametreleri de kullanıcının istediği gibi ayarlayabileceği şekilde tasarlanmış bir Web sayfası altında çalışmaktadır. Çok sayıda sayımın ortalamasını kendi alabilen ve istenen bir konsantrasyona seyreltme hesabını otomatik yapan programa internete erişebilen her cihaz ile <https://uozyilmaz.com/thoma/> adresinden ulaşılabilmektedir (Bu çalışmada kodlar verilmemiştir. Ancak program server tarafında çalışan bir öge içermediği için web sitesinden tüm kaynak kodlara erişilebilir).

Antagonist bakteri izolasyonu

Araziden hastalıklı meyvelerin alınması sırasında, bunların arasında en sağlıklı görülen asmaların orta kısmından, salkım ve yapraklardan örnekler toplanarak buz kutusunda laboratuvara getirilmiştir. Hem yaprak hem de meyvelerden epifitik ve endofitik antagonist bakteri izolasyonu yapılmıştır. Her yaprak örneği 2×2 cm büyüklüğünde bir parçadan, her meyve örneği ise 4 adet üzüm meyvesinden oluşmuştur (İşlem öncesi ağırlıkları alınmıştır). Her bir örnekten 2 tekerrür olarak izolasyon yapılmıştır. Epifitik bakterilerin izolasyonu için örnekler 50 ml steril fizyolojik serum (%0.85 NaCl) içerisinde 15 dakika boyunca karıştırılmış ve daha sonra oluşan süspansiyon 5 kere 1/10 olacak şekilde seyreltilmiştir (0 ana solüsyon). Endofitik bakterilerin izolasyonunda ise; örneklere %2'lik NaClO ile 2 dakika yüzey dezenfeksiyonu yapılmış ve steril damıtık su ile üç kere durulandıktan sonra 5 ml fizyolojik serum içerisinde havanda ezilmiştir. Bu aşamada yüzey dezenfeksiyonu sonunda, 3. durulama suyundan 50 µl alınarak KingB (King et al. 1954) besi yerine yayarak ekilmiş ve yüzey dezenfeksiyonu kontrol edilmiştir. Ezilerek oluşturulan süspansiyon 5 kere 1/10 olacak şekilde seyreltilmiştir (0 ana solüsyon). Hem epifitik hem de endofitik süspansiyon serilerinden 50'şer µl alınarak KingB besi yeri yüzeyine yayılarak ekilmiş, 20

°C’de 3 gün inkübasyona bırakılmış, gelişen koloniler sayılmış ve birim bitki dokusundaki toplam bakteri miktarı hesaplanmıştır. Daha sonra farklı koloni morfolojisine göre seçilen bakteriler saflaştırılmıştır.

Antagonist adayı bakterilerin *B. cinerea*’ya olan antagonistik etkilerinin belirlenmesi amacıyla ikili kültür testleri yapılmıştır. İkili kültür testlerinde patojenisite testlerine göre en virulent olan B33 kodlu *B. cinerea* izolatu kullanılmıştır. Bunun için; PDA (pH = 7.0) besi yerinin merkezinden 2.5 cm uzaklıktaki 4 noktaya, aynı antagonist bakteri 5 mm çap oluşturacak şekilde ekilmiş, 24 saat sonra aktif gelişim gösteren hastalık etmeni izolatının PDA kültürünün kenarından 1 cm çaplı agar plağı alınarak antagonist adayı bakterilerin ekildiği petrilerin tam ortasına miseller aşağı gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Denemeler 4 tekerrürlü olarak kurulmuş ve antagonist bakteri bulunmayan ancak patojen inokulasyonu yapılan bir de kontrol grubu denemeye eklenmiştir. Petriler 20 °C’deki inkubatore kaldırılmış ve kontrol petrilerindeki fungal gelişim çapı 5 cm’ye ulaştığında engelleme zonları hesaplanmıştır (Buhur & Özyılmaz 2013). İkili kültür testinden az ya da çok engelleme zonu oluşturan antagonist bakteriler %20 gliserin içeren Nutrient Broth besi yerinde –80 °C’deki derin dondurucuya yedeklenmiştir.

Antagonist bakterilerin tanılaması ve bazı özelliklerinin belirlenmesi

Antagonist bakterilerin tanılanmasında 16s rRNA sekans analizinden yararlanılmıştır. Bunun için öncelikle DNA ekstraksiyonu işlemleri gerçekleştirilmiştir. Yirmidört saatlik antagonist bakteri kültürlerinden mikrosantrifüj tüpleri içine hafif süspansiyon olacak şekilde su süspansiyonları hazırlanmış, kaynatılmış, santrifüj edilmiş ve süpernatant kalıp DNA olarak kullanılmıştır. Daha sonra 27F (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) / 1492R (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T) primer çiftleri (Lane 1991) kullanılarak PCR işlemi uygulanmıştır. Oluşan PCR ürünlerinin MacroGen firmasına hizmet alımı şeklinde sekansı yaptırılmıştır (27F primeri ile tek yönlü). Gelen sekans ham dosyalarının kalitesinin incelenmesinden sonra diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) gen bankasında taranarak eşleşmelere bakılmıştır (Blastn, Megablast) (Zhang et al. 2000; Morgulis et al. 2008).

Ayrıca bu antagonist bakterilerin hedef dışı canlılara olabilecek olumsuz etkilerini de değerlendirmek üzere bazı özelliklerinin araştırılması için 37 °C’de gelişimi (Özyılmaz 2007), pektolitik enzim aktivitesi (Bradbury 1970) ve tütün aşırı duyarlılık (Klement 1968) testlerinin yanında etki mekanizmalarını ortaya koyan kitinaz (Berg et al. 2000; 2001), proteaz (Krechel et al. 2002) ve DNase (Jeffries et al. 1957) aktive testleri yapılmıştır.

Üzüm meyveleri üzerinde biyolojik etkinlik testi

İkili kültür testlerine göre seçilen toplam 17 antagonist bakteri, *B. cinerea* izolatlarından en virulent olan B33 izolatu ve Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidi meyveleri biyolojik etkinlik testi için kullanılmış ve patojenisite testindeki aşamalar sırasıyla takip edilmiştir. Ancak bu testlerde antagonist bakterilerin 1×10^7 CFU/ml süspansiyonundan 15 µl olacak şekilde yaralara damlatılmış, iki saat sonra *B. cinerea*’nın 1×10^5 konidi/ml oranındaki konidial süspansiyonundan aynı yara

üzerine 15 µl konularak hastalık inokulasyonu yapılmıştır. Meyveler 20 °C'de 7 gün inkubasyona bırakılmıştır. Değerlendirme 7. günde lezyon çapları ölçülerek yapılmıştır (Kasfi et al. 2018).

İklim odasında biyolojik etkinlik testi

Bu amaçla iklim odası çalışmalarında kullanılmak üzere seçilen A7Len4, A1Len4 ve A8Len1 antagonist bakterileri ve ocak ayında ve 5-6 gözlü olacak şekilde toplanmış olan bağ çubukları kullanılmıştır. Dört santigrat derecede 10 gün bekletilen bağ çubukları 3-4 gözlü kalacak şekilde kesilmiş, üst kısmı su kaybını engellemek için eritilmiş parafin ile kapatılmış, alt kısmı 3000 ppm IBA'ya daldırılmış ve ardından içinde nemlendirilmiş perlik bulunan yüksek plastik kaplara yerleştirilmiştir (Tekeli 2014). Daha sonra çubuklar iklim odasında 55 gün bekletilerek hem köklenmesi hem de yaprakların oluşması sağlanmış ve torf bulunan saksılara aktarılmıştır. Bitkilere 1×10^8 CFU/ml antagonist bakteri süspansiyonu el pülverizatörü yardımıyla tüm yeşil aksamın ıslatılması şeklinde püskürtülmüş, bir gün sonra yine buna benzer olarak bu sefer 1×10^6 konidi/ml olacak şekilde konidi süspansiyonu ile *B. cinerea* inokulasyonu yapılmıştır. Bitkiler polietilen torbalarla deneme süresince örtülmüştür. Deneme üç tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür. Denemeye sadece hastalık uygulaması yapılmış bir pozitif kontrol, hiçbir uygulama yapılmamış bir negatif kontrol ve ayrıca bir de karşılaştırma amaçlı kimyasal (%37.5 cyprodinil + %25 fludioxonil) kontrol karakterleri eklenmiştir. Uygulamadan 20 gün sonra bitkiler üzerindeki (inokulasyondan sonra yeni yeşerenler hariç) tüm yapraklar uyarılma yapılan 0-4 skalası (0: yaprak ayası sağlıklı, 1: yaprak ayası %0.1-5'i lezyonlu, 2: yaprak ayası %5.1-20'si lezyonlu, 3: yaprak ayası %20.1- 40'ı lezyonlu ve 4: yaprak ayası %40.1-100'ü lezyonlu) kullanılarak değerlendirilmiştir (Kim et al. 2007). Uygulamalara ait skala değerleri hastalık şiddetine Towsend-Heuberger (Towsend & Heuberger 1943) formülü kullanılarak çevrilmiştir. Ayrıca uygulamaların etki oranları ise Abbott (Abbott 1925) formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

Antagonistlerin bazı fungusitlerle uyumluluğu

Bu çalışmalar antagonist bakterilerin iki farklı fungusit (azoxystrobin [Hektaş, Caira SC]; 75 ml/100 L ve %37.5 cyprodinil + %25 fludioxonil [Syngenta, Switch 62.5 WG]; 50 g/100 L) ile entegre edilebilme imkanını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışmalarda MGY besi yeri (mannitol %2, sodium L-glutamate %0.4, KH_2PO_4 %0.1, sodium chloride %0.04, magnezyum sülfat %0.04, yeast ekstrakt %0.05, pH = 7.0) kullanılmıştır (Cha et al. 1997). Fungisitler sıvı olarak hazırlanan besi yerine tam (1×), yarı (0.5×) ve iki katı (2×) doz oluşturacak şekilde karıştırılmıştır. Konsantre (2×) besi yeri 121 °C'de 15 dk otoklav edilmiş ve fungusitler soğuyan besi yerine sonradan eklenmiştir. Tüpler içine hazırlanan fungusitli besi yerleri antagonist bakteriler (A7Len4, A1Len4 ve A8Len1) ile hazırlanan 1×10^8 CFU/ml yoğunluktaki süspansiyonlardan 20 µl olarak inokule edilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Fungisitli MGY besi yeri içeriği.
Table 1. Content of MGY medium with fungicide.

2 ml 1× MGY besi yeri için konulan miktarlar (µl)				
Doz	0×	0.5×	1×	2×
MGY (2×)	980	980	980	980
Fungisit (4×)	0	250	500	1000
Damıtık su	1000	750	500	0
Bakteri süspansiyonu*	20	20	20	20

*MGY (2×) besi yeri içine hazırlanmıştır.

Besi yerleri 25 °C’de 48 saat boyunca çalkalayıcıda inkubasyona bırakılmış ve süre sonunda tüplerdeki bulanıklık (bakteri gelişimi) incelenerek kaydedilmiştir. Daha sonra her tüpten alınan 20 µl besi yeri KingB agarlı besi yerine nokta şeklinde ekilmiştir. Bakteriler gelişmeleri için yine 48 saat inkubasyona bırakılmış ve ardından petride bakterilerin gelişimleri kaydedilmiştir (Benlioğlu & Benlioğlu 1998). Bu çalışmaya ek olarak yapılan ikinci bir çalışma ile fungusitler yine aynı dozlarda bu sefer PDA ile karıştırılarak agarlı besi yeri oluşturulmuş ve petrilere dökülmüştür (Besi yeri ve fungusit son konsantrasyonları yukarıdakine benzer olarak hesaplanmıştır). Petrilere kuruduktan sonra antagonist bakteriler nokta şeklinde ekilmiş ve 25 °C’de inkubasyona bırakılmıştır. Ekim işleminden 48 saat sonra bakterilerin gelişme durumları değerlendirilmiştir (Mohiddin & Khan 2013; Hanuman & Bindu Madhavi 2018).

İstatistik analizler

Çalışmada yapılan tüm testler/denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre en az 3 tekerrürlü olacak şekilde tasarlanmış olup, ortalamaların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır (ANOVA, Fisher-LSD, $p < 0.05$). Analiz işlemlerinde R istatistik paket programı ve alt kütüphanesi agricolae’dan yararlanılmıştır (de Mendiburu 2021; R Core Team 2022).

Bulgular ve Tartışma

Botrytis cinerea izolatlarının elde edilmesi

Manisa Sarıgöl ilçesindeki Sultani Çekirdeksiz çeşidi yetiştirilen 10 farklı bağ alanından toplam 40 adet örnekten izolasyon yapılmıştır. İzolasyon sonucunda besi yerinde gelişen fungal kolonilerden alınan örnekler mikroskop altında incelenmiş ve toplam 11 adet izolat (B12, B33, B03, B44, B31, B02, B51, B32, B14, B42 ve B73) *Botrytis cinerea* şüpheli olarak elde edilmiştir. İzolatların patojen olup olmadığının ve ayrıca patojen ise virülensliğinin belirlenmesine yönelik yapılan patojenisite çalışmalarında, tüm izolatların meyveler üzerinde az ya da çok (4.46 – 24.23 mm çap) bir lezyon oluşturduğu, B33 kodlu izolatın istatistik olarak diğer izolatlardan ayrıldığı belirlenmiştir. Bu izolat yüksek virülenslik gösterdiğinden dolayı çalışmanın kalanında hastalık etmeni olarak kullanılmıştır.

Antagonistik bakteri izolasyonu ve tanılanması

Bakteriler hem üzüm meyvesi hem yaprak dokusundan epifitik ve endofitik durumları dikkate alınarak izole edilmiştir. Gerek epifitik gerekse endofitik bakterilerin izolasyonunda çalışılan parçalar tartılmış ve böylece birim bitki dokusundaki bakteri miktarları hesaplanmıştır. Seyreltme serilerine göre gözden geçirilen petripler incelendiğinde, epifitik bakteriler için 3üncü, endofitik bakteri için ise 1inci seyreltme serileri sayılabilir ve değerlendirilebilir bulunmuştur. Ayrıca endofitik bakterilerin izolasyonunda son durulama suyundan besi yerine ekilen su örneğinde herhangi bir bakteri gelişimi gözlenmemiş ve yüzey dezenfeksiyonu başarılı olmuştur. Her örnekten iki izolasyon çalışması yapılmış ve hesaplanan değerler bu iki izolasyon çalışmasının ortalaması olarak değerlendirilmiştir. Bir gram yaprak dokusundan $9.7 \times 10^4 - 2.1 \times 10^7$ CFU epifitik bakteri izole edilirken, aynı yaprakların farklı yerlerinden alınan dokularda $7.1 \times 10^1 - 2.9 \times 10^4$ CFU endofitik bakteri izole edilmiştir. Bir gram meyvede ise $1.4 \times 10^2 - 2.8 \times 10^6$ CFU epifitik, $0.7 \times 10^1 - 4.4 \times 10^3$ CFU endofitik bakteri olduğu hesaplanmıştır.

Koloni morfolojisine göre bakteriler saflaştırılmış ve toplam 160 bakteri elde edilmiştir. Gelişme geriliği, koloniler ile çalışılmaması veya izolatların kısa sürede ölmesi gibi nedenlerle bunlar arasından 130 tanesine *in-vitro*'da *B. cinerea* (B33) izolatına karşı ikili kültür testleri yapılmıştır. Bunların da içinden 17 tanesi fungal etmenin misel gelişimini değişen oranlarda engellemelerinden dolayı aday antagonist bakteri olarak belirlenmiş ve çalışmalarda kullanılmak üzere yedeklenmiştir. İkili kültür testlerinde etkinin %6.8 ile %80.1 arasında değiştiği görülmüştür (Çizelge 2). Elde edilen değerler incelendiğinde A7Len3, A5Fep2, A8Len1, A7Len4, A1Len8, A1Len4, A1Lep1, A1Lep4, A7Lep5 ve A6Len3 antagonist bakterilerinin diğer bakterilerden istatistiki olarak farklı bir grupta yer aldığı görülmüştür.

Çizelge 2. Antagonist bakterilerin ikili kültür testlerinde Kurşuni Küf Hastalığının misel gelişimini engelleme oranları.

Table 2. The rate of inhibition by antagonistic bacteria of mycelial growth of Gray Mold Disease in dual culture testing.

Kod	Tür	Engelleme (%)*	
A7Len3	<i>Bacillus velezensis</i>	80.1	a
A5Fep2	<i>Bacillus velezensis</i>	80.0	a
A8Len1	<i>Bacillus velezensis</i>	79.6	a
A7Len4	<i>Bacillus velezensis</i>	79.4	ab
A1Len8	<i>Bacillus velezensis</i>	79.1	ab
A1Len4	<i>Bacillus velezensis</i>	77.7	ab
A1Lep1	<i>Bacillus subtilis</i>	77.5	ab
A1Lep4	<i>Bacillus subtilis</i>	76.7	ab
A7Lep5	<i>Bacillus halotolerans</i>	74.2	ab
A6Len3	<i>Bacillus licheniformis</i>	73.3	ab
A0Len3	<i>Bacillus subtilis</i>	72.6	b
A8Len6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51.7	c
A1Len2	<i>Bacillus velezensis</i>	49.0	c
A7Lep3	<i>Kosakonia cowanii</i>	38.6	d
A8Len4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37.1	d
A7Len2	<i>Bacillus safensis</i>	26.3	e
A9Lep2	na**	6.8	f

*4 tekrerrün ortalamasıdır. Aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur (Fisher-LSD, $p < 0.05$).

**na: Düşük sekans uzunluğu ve kalitesi nedeniyle tür ismi verilmekten kaçınılmıştır.

Antagonist bakterilerin tür düzeyinde belirlenmesine yönelik yapılan 16s rRNA sekans analizleri sonucunda bakterilerin çoğunluğunun Gram pozitif türler olduğu görülmüştür. Zayıf sekans kalitesi olan bir izolat (A9Lep2) hariç diğer izolatların hepsi ortalama 858 bp uzunluğunda ürünler ile NCBI bankasındaki türlerle %100 eşleşmiş ve bir izolat (A1Len8) %99.76 diğerleri ise %100 benzerlik göstermiştir. Buna göre: A7Lep5 *Bacillus halotolerans*; A6Len3 *Bacillus licheniformis*; A7Len2 *Bacillus safensis*; A0Len3, A1Lep1, A1Lep4 *Bacillus subtilis*; A7Len4, A1Len2, A1Len4, A8Len1, A1Len8, A7Len3, A5Fep2 *Bacillus velezensis*; A7Lep3 *Kosakonia cowanii*; A8Len6, A8Len4 *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 2).

Antagonit bakterilerin bazı özelliklerinin belirlenmesine yönelik yapılan çalışmalarda ise; bakterilerin hepsinin 37 °C'de geliştiği, hatta A9Lep2 izolatı hariç geri kalanların 20 °C'deki gelişiminden daha iyi bir gelişim gösterdiği belirlenmiştir. Buna ek olarak hiçbir bakteri pektolitik aktivite ve tütünde aşırı duyarlılık göstermemiştir (iki test için kontrol olarak kullanılan *Pectobacterium carotovorum* Ecc133 - SCRI133 pozitif sonuç vermiştir). Bazı etki mekanizmalarına bakıldığında; sadece A6Len3 izolatı kitinaz aktivitesi gösterirken, A9Lep2 ve A7Lep3 izolatları hariç hepsi proteaz aktivitesi göstermiştir. İzolatların hiçbir DNase aktivitesi göstermemiştir (kontrol olarak kullanılan *Serratia plymuthica* HRO-C48 [Müller et al. 2004] pozitif sonuç vermiştir).

Üzüm meyveleri üzerinde biyolojik etkinlik testi

İkili kültür testlerine göre seçilen toplam 17 antagonist bakterinin hastalığa olan etkileri üzüm meyveleri üzerinde araştırılmış ve kontrolle karşılaştırıldığında A7Len2 (*B. safensis*), A0Len3 (*B. subtilis*), A8Len1 (*B. velezensis*), A1Len2 (*B. velezensis*) ve A7Len4 (*B. velezensis*) izolatlarının daha az lezyon büyüklüğü oluşmasına neden olduğu görülmüştür (Çizelge 3). Diğer izolatlar ise lezyon çapını azaltmaktan ziyade hastalığın artmasına neden olmuştur.

Çizelge 3. Antagonist bakteri izolatlarının Meyvelerde Kurşuni Küf Hastalığı gelişiminin engellenmesi üzerine biyolojik etkinlik testi.

Table 3. Biological efficacy testing on inhibition of Gray Mold Disease development on fruits by antagonistic bacterial isolates.

Antagonist bakteri	Lezyon çapı (mm)*	%Etki
A6Len3	23.43 a	-17.74
A1Lep4	23.41 a	-17.63
A8Len4	22.38 ab	-12.46
A1Lep1	22.13 ab	-11.21
A7Lep5	21.15 abc	-6.28
A9Lep2	20.96 abc	-5.33
A5Fep2	20.95 abc	-5.28
A7Lep3	20.62 abc	-3.62
A7Len3	20.32 abc	-2.11
A1Len8	20.15 abc	-1.26
A8Len6	20.10 abc	-1.01
A1Len4	20.03 abc	-0.65
Pozitif kontrol	19.90 abc	
A7Len2	18.36 bc	7.74
A0Len3	17.93 bc	9.90
A8Len1	17.01 c	14.52
A1Len2	9.93 d	50.10
A7Len4	4.18 e	78.99

*3 tekrerrün ortalamasıdır. Aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur (Fisher-LSD, $p < 0.05$).

Bu izolatlar içinden gerek ikili kültür testleri gerekse meyveler üzerinde yapılan biyolojik etkinlik testleri dikkate alınarak A7Len4, A8Len1 ve A1Len4 izolatları seçilmiş, saksı ve fungusitlerle uyumluluk denemelerinde bu izolatlar kullanılmıştır. Her ne kadar A8Len1 izolatı istatistiki olarak kontrol ile aynı gruba girmiş olsa da diğer izolatlardan farklı davrandığı, yapılan optimizasyon ve ön çalışmalar sırasında bitki gelişimine olumlu yönde etki edebileceği gözlemlendiği için saksı denemelerine dahil edilmiştir.

İklim odasında biyolojik etkinlik testi

İklim odası denemesi ile üçü de *B. velezensis* olan A7Len4, A8Len1 ve A1Len4 antagonist bakterilerin B33 kodlu *B. cinerea* izolatına karşı etkinliği köklendirilmiş Sultani çekirdeksiz asma çubuklarında test edilmiştir. Değerlendirme, inokulasyondan sonra 20. günde skala kullanılarak yapılmıştır. İnokulasyondan sonra yeni çıkan yapraklar ortalamayı etkileyebileceği için sayımlara dahil

edilmemiştir. Ölçülen skala değerleri ilk önce hastalık oranına daha sonra da kontrolle karşılaştırılarak etki oranına çevrilmiştir (Çizelge 4). Pozitif kontrol bitkilerinde %43.75 oranında hastalık çıkarken negatif kontrol bitkilerinde hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Kimyasal kontrol olarak kullanılan %37.5 cyprodinil + %25 fludioxonil aktif maddeli fungusit bitkileri hastalık çıkışına karşı %82.54 oranında korurken, bakteri izolatları A8Len1 %71.43, A1Len4 %73.88 ve A7Len4 %80.96 oranında hastalık çıkışını engellemek suretiyle etkili olmuştur. Antagonist bakterilerin biyokontrol etkinliği ile fungusitlerin etkinlikleri aralarında istatistiki olarak fark bulunmamıştır (Çizelge 4; Şekil 1).

Çizelge 4. Kurşuni Küf Hastalığına karşı antagonist bakterilerin iklim odası biyolojik aktivite testi.

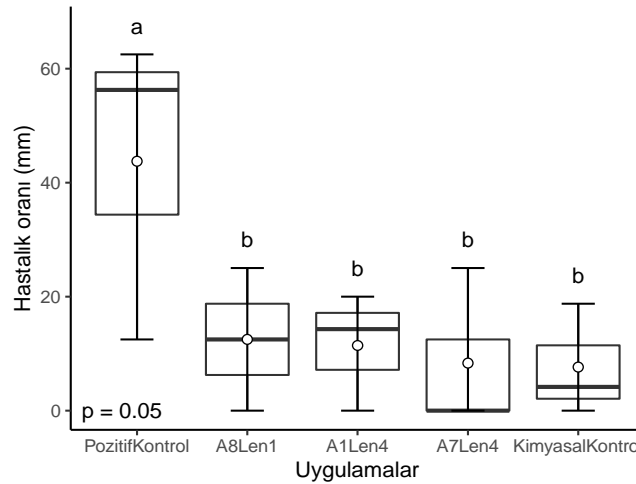
Table 4. Climate chamber biological activity testing of bacteria antagonistic to Gray Mold Disease.

Uygulama	Hastalık şiddeti (%)**	Etki (%)***
Kimyasal kontrol*	7.64	82.54
A8Len1	12.50	71.43
A1Len4	11.43	73.88
A7Len4	8.33	80.96
Pozitif kontrol	43.75	a

*Kimyasal kontrol: %37.5 cyprodinil + %25 fludioxonil

**Tekerrürdeki bir bitkide skalaya göre değerlendirilen tüm yapraklarının Tawsend heuberger formülü ile hastalık oranına çevrilmiş halidir. 3 Tekerrürün ortalamasıdır, aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur (Fisher-LSD, $p < 0.05$).

***Hastalık oranlarının pozitif kontrole göre Abbott formülü ile hesaplanmış etki oranlarıdır. Etki oranları arasında istatistiki olarak fark bulunmamıştır ($p > 0.05$).



Şekil 1. İklim odasında antagonist bakteri ve kontrol ilacı uygulanan karakterlerindeki Kurşuni Küf Hastalığı şiddetleri (Boxplot).

Figure 1. Grey mold disease severity in response to antagonistic bacteria and control applications in a climate chamber (Boxplot).

Antagonistlerin bazı fungusitlerle uyumluluğu

Test edilen A7Len4, A1Len4 ve A8Len1 antagonist bakterileri fungusit içeren besi yerlerinde gelişimleri inokulasyondan 2 gün sonra değerlendirilmiştir. Fungisitli MGY sıvı besi yerinde gelişme yeteneklerine bakıldığında, her üç izolat da tüm dozlarda besi yerini bulandırarak gelişim sağladığı gözlenmiştir. Bulanık olan besi yerindeki bakterilerin canlı olup olmadıklarını anlamak için buradan alınan 20 µl besi yeri KingB agarlı besi yerlerine ekilmiş ve gelişimlerine burada da devam ettikleri görülmüştür. Fungisitli PDA besi yerinde gelişme durumlarına bakıldığında ise testlenen üç izolat da azoxystrobin içeren besi yerinde geliştiği gözlenirken; A8Len1 tam doz ile iki katı doz, A7Len4 ve A1Len4 iki katı doz cyprodinil + fludioxonil içeren PDA besi yerinde gelişmediği görülmüştür.

Özellikle bağ gibi birçok hastalığın hedefi olan bitkilerde kimyasal ilaçlar sık aralıklarla kullanılmakta, bu ilaçlar toprakta birikebilmekte, çevreyi kirletmekte ve buna ek olarak patojenler hastalıklara kısa sürede dayanıklılık oluşturabilmektedir (Leroux 2007). Biyolojik mücadele çoğu zaman kimyasal mücadelenin yerini tam olarak alamasa da birçok ilacın zaman içinde raflardan çekilmesi ile alternatif arayışlarının odağına oturmuştur. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bugüne kadar dünya üzerinde birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalar katlanarak artmaktadır. İstisnalar ve özel durumlar olmakla birlikte genellikle biyolojik kontrol ajanları (BKA) hastalık etmenlerinin bulunduğu bitkilerden (kök bölgesi toprağı dahil, tüm toprak altı ve üstü aksamından) izole edilmektedir. Eğer uyarılmış dayanıklılık ya da bitki gelişimine teşvik gibi mekanizmalar düşünülmüyorsa, genellikle bitkideki izolasyon bölgesi hastalık etmeninin hedef aldığı bölgelerdir. Çalışmamızda hedef patojen *B. cinerea* yine bu çalışma sırasında izole edilmiştir. Toplam 11 hastalık etmeni izole edilirken, bunların virülenslikleri arasında istatistiki farklılıklar olduğu saptanmış ve B33 izolatının diğerlerinden daha büyük lezyon çapı oluşturduğu için çalışmanın geri kalanında kullanılmıştır. Biyolojik mücadele denemelerinde hastalık etmeni açısından eldeki virülensi en yüksek bir ya da birkaç izolat ile çalışmak hastalığın gerçek koşullarda kontrol edilmesinde fayda sağlayacaktır. Çalışmamızda toplam 160 antagonist bakteri adayı elde edilmiştir. Benzer bir çalışma 130 bakteri ve maya ile başlatılmıştır (Kasfi et al. 2018). Genellikle bu tür çalışmalar çalışılan bitki ve hastalık etmenine bağlı olarak yüzlerce antagonist bakteri izolatı ile başlamaktadır. Çalışmamızda ikili kültür testlerine gelişme durumlarına göre toplam 130 bakteri aktarılmıştır. Deneyimlerimize göre, seçilen farklı koloni morfolojisine sahip bakteri izolatları arasında kabaca %10-20 düzeyinde antagonist bakteriler ile karşılaşılma olasılığı vardır. Her ne kadar çalışılan etmen ve besi yeri gibi birçok faktör bu oranı etkilese de benzer değerleri literatürde görmek mümkündür (Kasfi et al. 2018; Özyılmaz 2019). Çalışmamızda ikili kültür testi ile 17 bakterinin antagonist olduğu bulunmuş bu da toplam izole edilen bakteri sayısının %10.63'e denk gelmektedir. İkili kültür ve diğer laboratuvar testleri sonucu elde edilen antagonistler aynı zamanda saksı ya da arazide başarılı olacak diye bir durum söz konusu değildir. Laboratuvar çalışmaları ve bitki çalışmaları arasında her zaman için bir uyumsuzluk ile karşılaşılması kuvvetle olasıdır (Fravel 1988). Bunu bir nebze önüne geçmek ve bitki çalışmalarında kullanılacak bakterileri seçmek için bazı araştırmacılar yapılan testlere puanlama getirmişler ve antagonistlerin aldıkları puana göre

değerlendirmişlerdir (Krechel et al. 2002). Bazı çalışmalarda da saksı/sera/tarla çalışmalarından önce kökçük testi gibi ön değerlendirme testlerini devreye sokarak patojen, antagonist ve bitkinin laboratuvar koşullarında biran evvel karşılaştırılarak değerlendirilmesi sağlanmıştır (Sang et al. 2008; Özyılmaz 2019). Ancak günümüzde genel geçer yöntem kabaca çok izolattan ikili kültür ile başlayarak çeşitli testler ile eleme yapılıdır.

Çalışmamızda 16s rRNA sekans analizlerine göre antagonist bakteriler *Bacillus halotolerans*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus safensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus velezensis*, *Kosakonia cowanii* ve *Pseudomonas aeruginosa* olarak tanılanmıştır. Başta *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* ve *Streptomyces* gibi birçok farklı bakteri türü, *B. cinerea*'nın biyolojik kontrolünde kullanılmakta olduğu ve *Bacillus* türlerinin ise genel anlamda bitki hastalıklarının kontrolünde etkili en önemli antagonistler içinde yer aldığı görülmektedir (Haidar et al. 2016b). Çalışma konusu hastalığa karşı literatürde *Bacillus* türleri ile yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır (Lee et al. 2006; Maachia et al. 2015; Wang et al. 2021; Foughalia et al. 2022; Li et al. 2023). *Pseudomonas aeruginosa* ise yine sıklıkla biyolojik mücadele çalışmalarında karşımıza çıkan türler arasındadır. Ancak her ne kadar biyolojik mücadele ile ilişkilendiriliyor olsa da etmen insan patojenleri içinde yer almakta (Moradali et al. 2017), bu nedenle çalışmalarda temkinli yaklaşılması gerekmektedir. Çalışmamız sırasında sıklıkla karşılaşılmayan ancak biyolojik savaş çalışmalarında (Espinosa et al. 2023) anılan *Kosakonia cowanii* (= *Enterobacter cowanii*) etmeni de izole edilmiştir. İnsan patojeni olan ve kanlardan izole edilebilen etmen Gram negatif çubuk şekilli bir bakteri olup doğada bitkilerden ve topraklar sıklıkla izole edilmektedir (Yang et al. 2018). Bu türlerin biyolojik savaş çalışmalarında laboratuvar da iyi sonuç vermesine karşın, insan sağlığı açısından çok iyi değerlendirilmesi gerekmektedir (Özyılmaz 2018). Çalışmamızda tesadüfi olarak seçilen antagonist izolatların neredeyse yarısı daha sonradan *Bacillus velezensis* olarak tanılanmış ve bunların da büyük çoğunluğunun yaprak endosferinden izole edildiği görülmüştür. Özellikle bu türün baskın olarak öne çıkması nedeniyle çalışmadaki saksı denemeleri de bu izolatlar üzerine yoğunlaşmıştır. Literatüre bakıldığında patojenlere olan durdurucu etkilerinin yanında bitki gelişimini arttıran özellikleri ile endofitik karakterdeki bu bakteri ile çalışıldığı görülmektedir (Khan et al. 2020). Endofitik bakteriler, bitki dokularında yaşayabilen ve bitkilerin büyümesini teşvik eden, patojenlere karşı koruyan özel bir bakteri grubudur. Bunlar antibiyotik üretimi, bitki büyümesine teşvik, uyarılmış dayanıklılık, parazitizm, yarışma gibi birçok mekanizmaya sahip olabilmektedir (Eljounaidi et al. 2016). Kurşuni küf hastalığı üzerine de bu endofitik özellikteki bakterilerle çalışılmıştır (Nigris et al. 2018; Bolívar-Anillo et al. 2020). Endofitik bakterilerin yaşam ortamları bitki içi olduğu için atmosferik dış şartlardan da az etkilenebileceği rahatlıkla söylenebilir. Her ne kadar bitki gelişimine teşvik çalışmamız konusu olmasa da iklim odası çalışmalarında A8Len1 izolatının diğer uygulama ve kontrollere göre yeşil aksam gelişimini arttırdığı ve gövde üzerinde harici köklenmelere neden olduğu gözlenmiştir (data verilmemiştir). Bundan dolayı özellikle bu izolat için bitki gelişimine teşvik çalışmalarının yapılmasının uygun olacağı görülmüştür. Bu konu üzerine yapılmış benzer çalışmalar da bulunmaktadır (Ait Barka et al. 2000; Şahin & Turan 2020).

Her ne kadar kimyasal mücadeleye alternatif olarak biyolojik mücadele düşünülüyor olsa da bazen aynı etmene bazen de farklı etmen gruplarına kimyasal mücadele yapmak kaçınılmaz olmaktadır. Bu durumda BKA'nın bu pestisitlerin varlığında canlılığını sürdürmesi gerekmektedir. Azoxystrobinin bağda *Plasmopara viticola*, *Phomopsis viticola* ve *Erysiphe necator* etmenlerine karşı ve cyprodinil + fludioxonilin ise *B. cinerea*'ya karşı ruhsatlı olmasından dolayı çalışmamızda bu fungusitler değerlendirilmiştir. Testlenen izolatların azoxystrobine karşı (2 katı dozuna kadar) dayanabildiği görülürken, bazı izolatların cyprodinil + fludioxonile karşı dayanımlarının diğerlerine göre nispeten az olduğunu belirlenmiştir. Bu da izolat seçiminde bu konunun önemini ortaya koymaktadır. Yapılan bir çalışmada bazı *Pseudomonas fluorescens* izolatlarının 6 fungusit, 10 insektisit ve 10 herbisit ile uyumu araştırılmış ve pestisitlere uyumu ile ilgili uyumlu, orta uyumlu ve düşük uyumlu olarak dağılım gösterdiği bulunmuştur (Hanuman & Bindu Madhavi 2018). Buna benzer olarak fungal ve bakteriyel bazı antagonistlerin üzerine 6 pestisit etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *Pseudomonas* türlerinin *Bacillus* türlerine göre testlenen pestisitlerle daha uyumlu olduğu bildirilmiştir (Mohiddin & Khan 2013). Ancak *Bacillus* türlerinin oluşturduğu endosporları sayesinde her türlü çevresel ve kimyasal stresi tolere edebildiği bilinmektedir.

Çalışma genel olarak değerlendirildiğinde; bağ yaprak ve meyvelerinden yapılan izolasyon çalışmalarında antagonist bakteri olarak ağırlıklı *Bacillus* türleri karşımıza çıkmış ve özellikle *Bacillus velezensis* türü sayıca fazla bulunmuştur. Yine çalışma sırasında izole edilen hastalık etmenine karşı yapılan gerek *in-vitro* gerekse *in-vivo* testlerde; A8Len1, A1Len4 ve A7Len4 antagonist bakteri izolatlarının biyolojik etkinlikleri bakımında öne çıktıkları görülmüştür. Bu bakterilerin üçünün de bağ yapraklarında endofitik karakterli olduğu düşünüldüğünde özellikle bitki içindeki durumunun da gözden geçirilmesi iyi olacaktır. Ayrıca bazı bakterilerin bitki gelişimine olan etkileri de bu çalışmalar sırasında gözlenmiş fakat çalışma bu maksatla kurgulanmadığı için değerlendirilmemiştir. Özellikle bu izolatların bitki gelişimine teşvik ve uyarılmış dayanıklılık gibi mekanizmalarının çalışılması iyi olacaktır. Antagonist bakterilerin pestisitler ile uyumluluğu üzerinde durulması gereken başka bir konudur. Çalışmamız sırasında antagonistlerin özellikle azoxystrobine karşı uyumlu olduğu görülmüş ve çeşitli fungal hastalıklara karşı kullanılan bu fungusitten etkilenmediği bulunmuştur. Buna ek olarak çalışma sırasında etkili bulunan antagonistlerin diğer bağ fungal hastalıklarına karşı etkileri de çalışılması gereken başka bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Teşekkür

Bu çalışma Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: ZRF-22012.

Kaynaklar

- Abbott W. S., 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265–267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Ait Barka E., A. Belarbi, C. Hachet, J. Nowak & J. C., 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(1), 91–95. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09087.x>
- Akça A. & E. Tozlu, 2022. Investigation of the Biocontrol Effectiveness of Some Bacterial Strains on Eggplant Gray Mold Disease (*Botrytis cinerea*) in *in-vitro* and *in-vivo* conditions. *KSU J. Agric Nat*, 25(5), 1098–1108. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi>
- Anonymous, 2008. Bağda Kurşuni Küf. In *Zirai mücadele teknik talimatları* (pp. 273–275). Gıda Tarım ve hayvancılık bakanlığı tarımsal araştırmalar ve politikalar genel müdürlüğü bitki sağlığı araştırmaları daire başkanlığı.
- Bavaresco L., D. Petegolli, E. Cantù, M. Fergoni, G. Chiusa, & M. Trevisan, 1997. Elicitation and accumulation of stilbene phytoalexins in grapevine berries infected by *Botrytis cinerea*. *VITIS - Journal of Grapevine Research*, 36(2), 77–83. <https://doi.org/10.5073/VITIS.1997.36.77-83>
- Benlioğlu, K. & S. Benlioğlu, 1998. Pseudomonas syringae pv tomato'ya Karşı Bakır Dayanıklılığı Üzerinde Çalışmalar. Conference: Türkiye VIII. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri, 21-25 Eylül 1998, Ankara, 52–56.
- Berg G., A. Fritze, N. Roskot & K. Smalla, 2001. Evaluation of potential biocontrol rhizobacteria from different host plants of *Verticillium dahliae* Kleb. *J Appl Microbiol*, 91(May), 963–971. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2001.01462.x> [pii]
- Berg G., S. Kurze, A. Buchner, E. M. Wellington & K. Smalla, 2000. Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonistic to *Verticillium wilt*. *Canadian Journal of Microbiology*, 46, 1128–1137. <https://doi.org/10.1139/w00-101>
- Bolívar-Anillo H. J., C. Garrido & I. G. Collado, 2020. Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry Reviews*, 19(3), 721–740. <https://doi.org/10.1007/s11101-019-09603-5>
- Bonaterra A., E. Badosa, N. Daranas, J. Francés, G. Roselló & E. Montesinos, 2022. Bacteria as Biological Control Agents of Plant Diseases. *Microorganisms*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10091759>
- Boubakri H., A. Hadj-Brahim, C. Schmitt, I. Soustre-Gacougnolle & A. Mliki, 2015. Biocontrol potential of chenodeoxycholic acid (CDCA) and endophytic *Bacillus subtilis* strains against the most destructive grapevine pathogens. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 43(4), 261–274. <https://doi.org/10.1080/01140671.2015.1049620>
- Bradbury J. F., 1970. Isolation and preliminary study of bacteria from plant. *Rev. Pl. Path.*, 49(5), 213–218.
- Buhur N. & Ü. Özyılmaz, 2013. Biberde kök boğazı yanıklığı hastalığının patojenisitesinin belirlenmesinde farklı yöntemler ve biyolojik mücadelesi üzerine çalışmalar. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(1), 25–29.
- Burçak A. A. & Delen N., 2000. Bağlardan izole edilen kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.) izolatlarının bazı fungusitlere duyarlılıkları üzerinde araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, 40(3–4), 153–167.
- Calvo-Garrido C., J. Roudet, N. Aveline, L. Davidou, S. Dupin & M. Fermaud, 2019. Microbial antagonism toward *Botrytis* bunch rot of grapes in multiple field tests using

- one *Bacillus ginsengihumi* strain and formulated biological control products. *Frontiers in Plant Science*, 10(February). <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00105>
- Cha J. S., C. Pujol & C. I. Kado, 1997. Identification and characterization of a *Pantoea citrea* gene encoding glucose dehydrogenase that is essential for causing pink disease of pineapple. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(1), 71–76. <https://doi.org/10.1128/aem.63.1.71-76.1997>
- Compant S., G. Brader, S. Muzammil, A. Sessitsch, A. Lebrühi & F. Mathieu, 2013. Use of beneficial bacteria and their secondary metabolites to control grapevine pathogen diseases. *BioControl*, 58(4), 435–455. <https://doi.org/10.1007/s10526-012-9479-6>
- Çelik B. G. & F. Yıldız, 2021. Biological Control Studies of Gray Mold Disease on Strawberry. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 50(2–3), 35–44.
- de Mendiburu F., 2021. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R Package Version 1.3-5, <https://CRAN.R-Project.Org/Package=agricolae>.
- ECMA, 2023. *Standart ECMA-262, ECMAScript 2023 Language Specification, 14th edition*. Ecma International.
- Elad Y. & A. Stewart, 2007. Microbial Control of *Botrytis* spp. (Editör: Elad Y., B. Williamson, P. Tudzynski & N. Delen, *Botrytis: Biology, Pathology and Control* pp. 223–241). Springer.
- Eljounaidi K., S. K. Lee & H. Bae, 2016. Bacterial endophytes as potential biocontrol agents of vascular wilt diseases – Review and future prospects. *Biological Control*, 103, 62–68. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2016.07.013>
- Elmer P. A. G. & T. Reglinski, 2006. Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. *Plant Pathology*, 55(2), 155–177. <https://doi.org/10.1111/J.1365-3059.2006.01348.X>
- Espinosa G., J. Hernández Gómez, J. Martínez, Y. Flores Gallardo, F. J Pacheco Aguilar, J. R. Ramos López, M. A Arvizu Gómez, J. L. Saldaña Gutierrez, C Rodríguez Morales, J. A. García Gutiérrez, J. González Espinosa, Y. Fernanda Hernández Gómez, Y. Javier Martínez, F. J. Flores Gallardo, J. R. Pacheco Aguilar, M. A. Ramos López, J. Lizzeta, A. Gómez, C. Saldaña Gutierrez & J. Campos Guillén, 2023. *Kosakonia cowanii* Ch1 Isolated from Mexican Chili Powder Reveals Growth Inhibition of Phytopathogenic Fungi. *Microorganisms* 2023, Vol. 11, Page 1758, 11(7), 1758. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11071758>
- Ferreira J. H. S., 1990. In vitro evaluation of epiphytic bacteria from table grapes for the suppression of *Botrytis cinerea*. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 11(1), 38–41.
- Foughalia A., Y. Bouaoud, C. Chandeysson, M. Djedidi, M. Tahirine, K. Aissat & P. Nicot, 2022. *Acinetobacter calcoaceticus* SJ19 and *Bacillus safensis* SJ4, two Algerian rhizobacteria protecting tomato plants against *Botrytis cinerea* and promoting their growth. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S41938-022-00511-Z/TABLES/2>
- Fravel D. R., 1988. Role Of Antibiosis In The Biocontrol Of Plant Diseases. *Annual Review of Phytopathology*, 26(1), 75–91. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.26.1.75>
- Furuya S., M. Mochizuki, Y. Aoki, H. Kobayashi, T. Takayanagi, M. Shimizu & S. Suzuki, 2011. Isolation and characterization of *Bacillus subtilis* KS1 for the biocontrol of grapevine fungal diseases. *Biocontrol Science and Technology*, 21(6), 705–720. <https://doi.org/10.1080/09583157.2011.574208>
- Genç Kesici T. & M. F. Dönmez, 2022. Çilekte *Botrytis cinerea*'ya Karşı Bakterilerin Antagonist Etkilerinin *In-vitro* Koşullarda Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27(3), 535–547. <https://doi.org/10.53433/yyufbed.1089390>
- Gruau C., P. Trotel-Aziz, S. Villaume, F. Rabenoelina, C. Clement, F. Baillieux & A. Aziz, 2015. *Pseudomonas fluorescens* PTA-CT2 triggers local and systemic immune response

- against *Botrytis cinerea* in grapevine. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(10), 1117–1129. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-15-0092-R>
- Haidar R., C. Calvo-Garrido, J. Roudet, T. Gautier, A. Deschamps & M. Fermaud, 2016a. *In vitro* and *in vivo* screening of antagonistic bacterial strains from vineyards to control *Botrytis cinerea* in grapevine tissues. *Acta Horticulturae*, 1144, 85–92. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1144.12>
- Haidar R., M. Fermaud, C. Calvo-Garrido, J. Roudet, J. & A. Deschamps, 2016b. Modes of action for biological control of *Botrytis cinerea* by antagonistic bacteria. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(3), 301–322. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-18079
- Hanuman L. N. & G. Bindu Madhavi, 2018. Compatibility of *Pseudomonas fluorescens* with Pesticides *in vitro*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(03), 3310–3315. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.703.381>
- Jeffries C. D., D. F. Holtmann & D. G. Guse, 1957. Rapid method for determining the activity of microorganisms on nucleic acid. *J. Bact.*, 590–591.
- Kai M., 2020. Diversity and Distribution of Volatile Secondary Metabolites Throughout *Bacillus subtilis* Isolates. *Frontiers in Microbiology*, 11, 478645. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.00559/BIBTEX>
- Kasfi K., P. Taheri, B. Jafarpour & S. Tarighi, 2018. Identification of epiphytic yeasts and bacteria with potential for biocontrol of grey mold disease on table grapes caused by *Botrytis cinerea*. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 16(1), 1–16. <https://doi.org/10.5424/sjar/2018161-11378>
- Khan M. S., J. Gao, X. Chen, M. Zhang, F. Yang, Y. Du, T. S. Moe, I. Munir, J. Xue & X. Zhang, 2020. The Endophytic Bacteria *Bacillus velezensis* Lle-9, Isolated from *Lilium leucanthum*, Harbors Antifungal Activity and Plant Growth-Promoting Effects. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(5), 668. <https://doi.org/10.4014/JMB.1910.10021>
- Kızıllırmak S., 2019. Alternaria türlerindeki genetik varyasyonların tespit edilmesinde RAPD-PCR tekniğinin kullanımı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 74 s.
- Kim H. J., S. H. Lee, C. S. Kim, E. K. Lim, K. H. Choi, H. G. Kong, D. W. Kim, S. W. Lee & B. J. Moon, 2007. Biological control of strawberry gray mold caused by *Botrytis cinerea* using *Bacillus licheniformis* N1 formulation. In *Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 17, Issue 3, pp. 438–444).
- King E. O., M. K. Ward & D. E. Raney, 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clin. Med.*, 44(2), 301–307.
- Klement Z., 1968. Pathogenicity factors in regard to relationships of phytopathogenic bacteria. *Phytopathology*, 58, 1218–1222.
- Krechel A., A. Faupel, J. Hallmann, A. Ulrich & G. Berg, 2002. Potato-associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Canadian Journal of Microbiology*, 48(9), 772–786. <https://doi.org/10.1139/W02-071>
- Kurt Ş., 2016. *Bitki fungal hastalıkları*. Akademisyen kitabevi, Ankara.
- Lane D. J., 1991. 16S/23S rRNA sequencing. (Editör: Stackebrandt E. & M. Goodfellow, *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*). John Wiley and Sons Chichester.
- Lee J. P., S. W. Lee, C.S. Kim, J. H. Son, J. H. Song, K. Y. Lee, H. J. Kim, S. J. Jung & 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(3), 329–337. <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2006.01.001>

- Leroux P., 2007. Chemical Control of *Botrytis* and its Resistance to Chemical Fungicides. (Editör: Elad Y., B. Williamson, P. Tudzynski & N. Delen, *Botrytis: Biology, Pathology and Control*). Springer.
- Li Z., J. Li, M Yu, P. Quandahor, T. Tian & T. Shen, 2023. *Bacillus velezensis* FX-6 suppresses the infection of *Botrytis cinerea* and increases the biomass of tomato plants. *PLOS ONE*, 18(6), e0286971. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0286971>
- Loqman S., E. A. Barka, C. Clément & Y. Ouhdouch, 2009. Antagonistic actinomycetes from Moroccan soil to control the grapevine gray mold. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(1), 81–91. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9864-6>
- Maachia B., E. Rafik, F. Cherif, P. Nandal, T. Mohapatra & P. Bernard, 2015. Biological control of the grapevine diseases “grey mold” and “powdery mildew” by *Bacillus* B27 and B29 strains. *Indian J Exp Biol.*, 53(2), 109–115.
- Magnin-Robert M., P. Trotel-Aziz, D. Quantinet, S. Biagianti & A. Aziz, 2007. Biological control of *Botrytis cinerea* by selected grapevine-associated bacteria and stimulation of chitinase and β -1,3 glucanase activities under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 118(1), 43–57. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9111-2>
- Mohiddin F. A. & M. R. Khan, 2013. Tolerance of fungal and bacterial biocontrol agents to six pesticides commonly used in the control of soil borne plant pathogens. *Journal of African Agricultural Research*, 8(43), 5331–5334. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.677>
- Moradali M. F., S. Ghods & B. H. A. Rehm, 2017. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(FEB), 249785. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2017.00039/BIBTEX>
- Morgulis A., G. Coulouris, Y. Raytselis, T. L. Madden, R. Agarwala & A. A. Schäffer, 2008. Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*, 24(16), 1757–1764. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn322>
- Müller H., R. Meincke & G. Berg, 2004. *Serratia plymuthica* HRO-C48: Strategy to control *Verticillium dahliae* in oilseed rape and effects on the microbial community. *IOBC/WPRS Bulletin*, 27, 399–404.
- Nağme S., 2005. Sofralık sultani üzüm çeşidinde hasat sonrası fungal çürüklerin epifitik mayalarla biyolojik kontrolü. Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, İzmir, 170 s.
- Nigris S., E. Baldan, A. Tondello, F. Zanella, N. Vitulo, G. Favaro, V. Guidolin, N. Bordin, A. Telatin, E. Barizza, S. Marcato, M. Zottini, A. Squartini, G. Valle & B. Baldan, 2018. Biocontrol traits of *Bacillus licheniformis* GL174, a culturable endophyte of *Vitis vinifera* cv. Glera. *BMC Microbiology*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/S12866-018-1306-5>
- Özyılmaz Ü., 2007. Aydın ilinde çilek kök hastalıklarına karşı antagonist bakterilerle biyolojik savaş. Doktora tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, 128 s.
- Özyılmaz Ü., 2018. Bitki Hastalıklarına Karşı Biyolojik Mücadele Çalışmalarında Kullanılan Mikroorganizmaların İnsan Sağlığı açısından Taşıdığı Riskler. Uluslararası Tarım, Çevre ve Sağlık Kongresi / 26-28 Ekim 2018, Aydın, 55–55.
- Özyılmaz Ü., 2019. Biberde *Phytophthora* Yanıklığına Karşı Antagonist Bakterilerle Biyolojik Mücadele. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 652–661. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.597443>
- Pal K. K. & B. Mc Spadden Gardener, 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*, DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02. <http://dx.doi.org/10.1094/phi-a-2006-1117-02>
- Paul B., A. Chereyathmanjiyil, I. Masih, L. Chapuis & A. Benoît, 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* causing grey mould disease of grapevine and elicitation of stilbene phytoalexin (resveratrol) by a soil bacterium. *FEMS Microbiology Letters*, 165(1), 65–70. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(98\)00259-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(98)00259-6)

- R Core Team., 2022. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*. URL <https://www.R-Project.org/>.
- Rabosto X., M. Carrau, A. Paz, E. Boido, E. Dellacassa & F. M. Carrau, 2006. Grapes and vineyard soils as sources of microorganisms for biological control of *Botrytis cinerea*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 332–338.
- Sang M. K., S. C. Chun & K. D. Kim, 2008. Biological control of *Phytophthora* blight of pepper by antagonistic rhizobacteria selected from a sequential screening procedure. *Biological Control*, 46, 424–433. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.03.017>
- Sharrar A. M., A. Crits-Christoph, R. Méheust, S. Diamond, E. P. Starr & J. F. Banfield, 2020. Bacterial secondary metabolite biosynthetic potential in soil varies with phylum, depth, and vegetation type. *MBio*, 11(3), 1–17. https://doi.org/10.1128/MBIO.00416-20/SUPPL_FILE/MBIO.00416-20-ST004.XLSX
- Şahin F. & M. Turan, 2020. Üzüm bitkisi verim ve fizyolojik parametreleri üzerine bitki büyümesini teşvik eden kök bakterisi *Bacillus megaterium* (M3)'un etkileri. *Bitki Sağlığında Dost Mikroorganizmalar Çalıştayı, Aralık*, 17–30.
- Tekeli F., 2014. Amerikan asma anaçlarında köklenmeyi artırıcı bazı uygulamalar. Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, 87 s.
- Tekiner N., E. Tozlu, R. Kotan & F. Dadasoglu, 2020. Biological Control of *Botrytis cinerea* and *Alternaria Alternata* with Bioagent Bacteria and Fungi under *In-vitro* Conditions. *Fresenius Environmental Bulletin*, 29(01), 640–649.
- Towsend G. R. & J. W. Heuberger, 1943. Methods for estimating losses caused by disease in fungicide experiments. *Plant Disease Reporter*. <https://worldveg.tind.io/record/45569>
- Törün B., 2018. Aydın ve Mersin illerinden toplanan çileklerde *Botrytis cinerea* popülasyonlarındaki transpozon sıklığı ve fungusit dirençliliği. Doktora tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 141 s.
- Trotel-Aziz P., M. Couderchet, S. Biagiatti & A. Aziz, 2008. Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. *Environmental and Experimental Botany*, 64(1), 21–32. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.12.009>
- Wang F., J. Xiao, Y. Zhang, R. Li, L. Liu & Deng, 2021. Biocontrol ability and action mechanism of *Bacillus halotolerans* against *Botrytis cinerea* causing grey mould in postharvest strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 174, 111456. <https://doi.org/10.1016/J.POSTHARVBIO.2020.111456>
- Whiteman S. A. & A. Stewart, 1998. Suppression of *Botrytis cinerea* sporulation on irradiated grape leaf tissue by the antagonistic bacterium *Serratia liquefaciens*. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 26(4), 325–330. <https://doi.org/10.1080/01140671.1998.9514071>
- Yang X. J., S. Wang, J. M. Cao & J. H. Hou, 2018. Complete genome sequence of human pathogen *Kosakonia cowanii* type strain 888-76T. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(1), 16–17. <https://doi.org/10.1016/J.BJM.2017.03.010>
- Yıldız F., 1991. *In-vitro* Investigations on the Antagonistic Effects of several Isolates Against *Botrytis cinerea*. *J.Turk. Phytopath.*, 20(1), 11–22.
- Yıldız F., 2000. Studies on the Biological Control of Gray Mold Disease (*Botrytis cinerea* Pers.) of the Greenhouse Grown Tomatoes. *J. Turk. Phytopath.*, 29(2–3), 95–103.
- Yıldız F., M. Yıldız, N. Delen, A. Coşkuntuna, P. Kınay & H. Türküsay, 2007. The Effects of Biological and Chemical Treatment on Gray Mold Disease in Tomatoes Grown under Greenhouse Conditions. *Turk J Agric For*, 31(5), 319–325.
- Yıldız F., M. Yıldız, N. Delen, P. Kınay, M. Topuzoğlu & A. Akar, 2009. Sofralık Sultani Üzümlerde Nitelikli ve Güvenli Ürün Eldesinde Uygun Savaşım Programlarının Geliştirilmesi. TÜBİTAK TOVAG 1060767 sonuç raporu.

Zhang Z., S. Schwartz, L. Wagner & W. Miller, 2000. A Greedy Algorithm for Aligning DNA Sequences. *Journal of Computational Biology*, 7(1-2), 203-214. <https://doi.org/10.1089/10665270050081478>