



**Araştırma Makalesi**  
(Research Article)

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2023, 60 (4):705-721  
<https://doi.org/10.20289/zfdergi.1342790>

Mustafa AKBABA <sup>1\*</sup>

Tuba GENÇ KESİMCİ <sup>1</sup>

<sup>1</sup> İğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 76000, Merkez, İğdir, Türkiye

\* Sorumlu yazar (Corresponding author):  
[mustafa.akbaba@outlook.com](mailto:mustafa.akbaba@outlook.com)

## Domateste toprak kökenli fungal patojenlerin mücadelesinde rizobakterilerin kullanilma potansiyeli

The potential of rhizobacteria to control soil-borne fungal pathogens in tomato

Received (Alınış): 14.08.2023

Accepted (Kabul Tarihi): 27.11.2023

### ÖZ

**Amaç:** Domates bitkisinde hastalığa neden olan toprak kökenli funguslara karşı, domates bitkilerinin rizosferinden izole edilen rizobakterilerin biyolojik mücadele potansiyellerinin belirlenmesidir.

**Materyal ve Yöntem:** 10 farklı rizobakteri izolatının bitki gelişimini teşvik etme ve 3 farklı fungal patojene (*Fusarium oxysporum* HMK2-6, *Rhizoctonia solani* HB-66, *Verticillium dahliae* YY-14) karşı biyokontrol potansiyelleri *in vitro* koşullarda belirlenmiştir. Ayrıca, aralarından seçilen iki rizobakteri izolatının *R. solani*'ye karşı etkisi *in vivo* koşullarda belirlenmiştir.

**Araştırma Bulguları:** *Pseudomonas chlororaphis* T142 strainin %19.9 ve *Bacillus subtilis* T139 straininin %11.9 oranında biyokontrol etki göstererek *R. solani*'nin hastalık şiddetini azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca *Bacillus subtilis* T139 izolatu, domates bitkilerinin kök gelişimini kontrole göre artırmıştır.

**Sonuç:** Çalışmada kullanılan rizobakteri izolatları domateste *R. solani*'nin biyolojik mücadelesi için ümit vadeci sonuçlar ortaya koymuştur.

### ABSTRACT

**Objective:** The aim is to determine the biological control potential of rhizobacteria isolated from the rhizosphere of tomato plants against soil-borne fungi that cause disease in tomato plants.

**Materials and Methods:** The biocontrol potentials of 10 different rhizobacteria strains against 3 different fungal pathogens (*Fusarium oxysporum* HMK2-6, *Rhizoctonia solani* HB-66, *Verticillium dahliae* YY-14), and their plant growth-promoting characteristics were determined *in vitro*. In addition, the effects of two selected strains among these strains against *R. solani* were determined *in vivo*.

**Results:** It has been determined that *Pseudomonas chlororaphis* strain T142 and *Bacillus subtilis* strain T139 decreased the disease severity of *R. solani* at rates of 19.9% and 11.9%, respectively. In addition, *Bacillus subtilis* strain T139 increased the root growth of tomato plants compared to negative control.

**Conclusion:** Rhizobacteria strains in this study showed promising results for the biological control of *R. solani* in tomato plants.

**Anahtar sözcükler:** Domates, Rizobakteri, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Verticillium* sp.

**Keywords:** Tomato, Rhizobacteria, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Verticillium* sp.

## GİRİŞ

Domates (*Solanum lycopersicum* L., Solanaceae), dünya genelinde üretimi, tüketimi ve ticareti en çok yapılan tarımsal ürünler arasında ilk sıralarda yer almaktadır (Keskin & Dölekoğlu, 2004). Türkiye’de domates yetiştiriciliği, açıkta ve örtü altında yapılmaktadır. 2021 yılı verilerine göre, 189.133.955 ton olan dünya domates üretiminin %6.92’sini üreten Türkiye, domates üretiminde Çin ve Hindistan’ın ardından üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2021).

Bitkiler yaşam süreçlerinin birçok evresinde çevrelerinde bulunan çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler bitki metabolizmasını olumsuz etkileyerek bitki gelişimini sınırlandırmakta veya sonlandırmaktadır (Gürel & Avciođlu, 2001). Bitkiler üzerinde strese neden olan faktörler; abiyotik ve biyotik olarak iki gruba ayrılmaktadır. Sođuk, sıcak, kuraklık, tuzluluk, su fazlalığı, radyasyon, çeşitli kimyasallar, oksidatif stres, rüzgâr ve toprakta besin yetersizliği gibi çevresel faktörler abiyotik stres faktörleri olarak değerlendirilir. Virüs, viroid, bakteri, fitoplazma, fungus ve fungus benzeri organizmaları içeren patojenler, böcekler ve herbivorlar ise biyotik stres faktörleridir (Mahajan & Tuteja, 2005).

Biyotik faktörler arasından özellikle funguslar, domates yetiştiriciliğinde ekonomik anlamda zarar oluşturan başlıca mikroorganizma grubunu oluşturmaktadır. *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Fusarium solani*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Macrophomina phaseolina* ve *Pythium ultimum* gibi fungal patojenler tarla ve sera koşullarında domateste önemli verim kayıplarına neden olmaktadır (Yucel et al., 2008). Toprak kaynaklı patojenler arasında yer alan *Verticillium*, *Fusarium* ve *Rhizoctonia* türleri çökerten, solgunluk, kök ve gövde çürüklükleri gibi önemli hastalıklara neden olmaktadır (Agrios, 2005). Özellikle *R solani*, dünya çapında yıllık ürün kaybına (%20-40) neden olan Solanaceae familyasına ait tarımsal ürünlerde farklı hastalıklara neden olan, toprak kaynaklı önemli bir fungal bitki patojenidir (Ghosh et al., 2017). Domateste oluşturduğu zarar ile öne çıkan bu patojenin virülensliği, anastomosis grupları ve mücadelesi ülkemizde yoğun bir şekilde çalışılmıştır (Tuncer & Erdiller, 1990; Demirci & Döken, 1995; Yıldız & Döken, 2002; Buhur, 2014; Yıldırım, 2017; Aşkın vd., 2018; Durak & Ok, 2019; Eken & Tuncer, 2019; Teniz, 2020). Bu hastalıkların mücadelesinde bitki atıklarının yok edilmesi, solarizasyon, ekim nöbeti ve fungusit uygulamaları gibi yöntemler önerilmektedir. Ancak fungusit uygulamalarının çevresel ve ekonomik nedenlerden dolayı uygulanmasının zor ve tehlikeli olması, bu patojenlerin fungusitlere karşı dayanıklılık oluşturması mücadelede karşılaşılan zorluklar arasında yer almaktadır (Çapar, 2012; Panth et al., 2020). Bununla birlikte geniş bir konukçu dizinine sahip olmaları (Fiers et al., 2012), mikrosklerot, sklerot, klamidospore ve oospore gibi dayanıklı yapıları sayesinde toprakta ve bitki atıklarında uzun süre canlı kalmaları (Panth et al., 2020; Duff & Firrell, 2021; Parajuli et al., 2022) bu patojen grubuyla mücadelenin etkinliğini sınırlandırmaktadır. Mücadelede karşılaşılan bu zorluklar, araştırmacıları alternatif yöntemler geliştirmeye yöneltmiştir. Biyolojik mücadele; çevre dostu ve sürdürülebilir bir yöntem olmasıyla bu fungal hastalıkların mücadelesinde tercih edilen bir yöntem olarak öne çıkmaktadır.

Son yıllarda araştırmacılar arasında, bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesi için bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB)’in kullanımı oldukça yaygındır. Bu bakteriler arasından, özellikle bitki kökleriyle birlikte yaşayan bitki büyümesini teşvik eden rizobakteri (PGPR)’ler, çeşitli mekanizmalar ile bitki büyümesini artırırken, çevresel ve biyotik streslerin bitkiler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmaktadır (Altunlu, 2020). Tohumlara inokulasyonun ardından bitki köklerini kolonize eden ve bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler ilk olarak Kloepper & Schroth (1978) tarafından tanımlanmıştır. Bitki kök dokularının içerisini (endofitik) ve yüzeyini (epifitik) kolonize eden rizobakteriler, serbest yaşayarak veya bitki kökleri ile ortak bir ilişki kurarak bitki gelişimini olumlu yönde etkileyebilmektedir (Vejan et al., 2016; Kumar et al., 2017; Kumari et al., 2019). PGPB’ler, bitki gelişimini teşvik eden, bitkileri biyotik ve abiyotik strese karşı farklı mekanizmalar ile koruyabilen yararlı bakterilerdir. Bu yararlı bakteriler entegre mücadelenin önemli bir parçası olarak gelişmiş ülkelerde etkin bir şekilde kullanılmaktadır (Akbağa & Özaktan, 2021). Yapılan birçok çalışmada *R. solani*, *V. dahliae* ve *F. oxysporum* patojenlerinin biyolojik mücadelesinde çeşitli

bakteriyel etmenlerin kullanıldığı ve başarılı sonuçların alındığı tespit edilmiştir (Grosh et al., 2005; Bubici et al., 2013; Ben Abdallah et., 2015; Zohora et al., 2016; Safdarpour & Khodakaramian, 2019; Su et al., 2021). Özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerinin etkinliği, çeşitli araştırma sonuçlarında vurgulanmıştır (Larkin & Fravel, 1998; Liu et al., 2010; Huang et al., 2012; Su et al., 2021).

Toprak kaynaklı bitki patojenleri, tarımsal ürünler üzerinde çeşitli şekillerde zararlı etkilere sahiptir (Jambhulkar et al., 2015). Dünya çapında tarımsal ürün yetiştiriciliğinde, toprak kaynaklı bitki patojenlerinin üretimde ve verimde ciddi kayıplara neden olması yüksek ürün maliyetlerine yol açmaktadır (Panth et al., 2020). Rizosferdeki mikrobiyal aktivite ise hem doğal hem de yönetilen tarımsal topraklarda patojenlerin girişine çok yatkın olan köklerde hastalığa neden olan toprak kaynaklı bitki patojenlerini baskılanmasında kilit rol oynamaktadır (Hariprasad & Umesha, 2007; Rani et al., 2007). Bu kapsamda domates bitkisinde hastalığa neden olan toprak kökenli funguslara karşı, domates bitkilerin rizosferinden izole edilen rizobakterilerin biyokontrol aktivitelerinin belirlenmesi bu çalışmada amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Bitkisel materyal, patojen ve rizobakteriler

Bu çalışma Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim odası şartlarında 2022-2023 yıllarında yapılmıştır. Bu çalışma için Iğdır (Türkiye) ilinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan; güçlü bitki gelişimine sahip oturak domates grubuna ait beef tipde ve tuza orta düzeyde tolerant yerel genotip "Süper" domates çeşidi bitkisel materyal olarak tercih edilmiştir (Özden, 2019). Patojen izolatları olarak; farklı projelerden elde edilen fitopatoloji labortatuvarı stoklarında bulunan *Fusarium oxysporum* HMK2-6 (Proje No: 2017-FBE-L18), *Rhizoctonia solani* HB-66 (Proje No: ZİF1220Y13) ve *Verticillium dahliae* YY-14 (Proje No: 2018-FBE-A08) izolatları fungal materyal olarak kullanılmıştır. Ayrıca Iğdır ilinde 2020 yılında yapılan sörveylerde Tuzluca, Aralık, Karakoyunlu ve Merkez ilçelerinde domates yetiştiriciliği yapılan alanlardan toplanan domates bitkilerinin rizosferinden (kök yüzeyinde kalan topraktan) bakteri izolasyonları yapılmıştır. Köklerde kalan toprak parçacıkları, kurutma kağıdı üzerine çırpılmış ve daha sonra polietilen torbalar içerisine alınmıştır. Polietilen torbalardan alınan toprak örnekleri (1 g), steril fosfat tamponu (10 ml) içeren falkon tüplere (15 ml) konulmuştur. Tüpler 135 rpm'de 30 dk. boyunca çalkalıyıcıda tutulmuştur. Elde edilen süspansiyonlar,  $10^{-1}$ 'den  $10^{-7}$ 'e kadar seyreltilmiştir. Daha sonra bu seyreltme serilerinden 100 µl alınmış. petri kaplarında bulunan Triptik Soya Agar (TSA) yüzeyine yayılmıştır. Petriler  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 48 saat boyunca inkubasyona bırakılmıştır. Gelişen bakteri kolonileri saflaştırılmıştır (Naseem & Bano. 2014). Saflaştırılmış rizobakterilere tütün bitkisinde HR, patates bitkisinde pektolitik aktivite, Gram testi (KOH), floresan pigment üretimi ve  $37^\circ\text{C}$  gelişme gibi testler uygulanmıştır (Schaad et al., 2001). Bu testlerin sonuçlarına göre,  $-80^\circ\text{C}$ 'de stoklanmış olan 10 rizobakteri izolatu bu çalışmada uygulama materyali olarak kullanılmak üzere seçilmiştir. Ayrıca Triptik Soya Agar (TSA), King's medium B (KB), Nutrient Agar (NA) ve Nutrient Broth (NB) gibi besi ortamlarından bakteri kolonilerinin geliştirilebilmesi aşamasında yararlanılmıştır (Schaad et al., 2001).

### *In vitro*'da rizobakterilerin bitki gelişimini teşvik etme potansiyellerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan 10 rizobakteri izolatının, bitki gelişimini teşvik etme potansiyellerinin belirlenebilmesi için aşağıda belirtilen *in vitro* testler uygulanmıştır.

#### *Siderofor üretim aktivitelerinin belirlenmesi*

Bakterilerin siderofor üretim potansiyelleri Chrome Azurol S (CAS) eklenmiş Blue-CAS Agarda belirlenmiştir (Louden et al., 2011).  $-80^\circ\text{C}$  saklanan bakteri kültürleri ilk önce NA içeren petrilere ekilmiş ve  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 48 saat boyunca inkubasyona bırakılarak canlandırılmış ve bakteri kolonileri  $+4^\circ\text{C}$ 'de günlük kullanım için saklanmıştır. Test için  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 48 saat boyunca TSA ortamında geliştirilen saf bakteri kolonileri, steril saf su içinde süspansiyon edilmiştir. Bakteri süspansiyonları  $\text{OD}_{600\text{nm}}$ : 0.1 konsantrasyonda hazırlanmıştır. Her bakteri kültüründen 2 µl alınarak Blue-CAS Agar içeren petrilere inokule edilmiştir. Petriler,  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de 72 saat süre ile inkübe edilmiştir. Blue-CAS Agar'da bakteri kolonilerin etrafında

sarı-turuncu bir hale oluşumu, siderofor üretiminin göstergesi olarak kabul edilmiştir (Şekil 1a). Oluşan halelerin çapı ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Denemeler 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

#### *Fosfatı çözübilme aktivitelerinin belirlenmesi*

NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) besi ortamı, rizobakterilerinin trikalsiyum fosfat gibi çözünmeyen kaynaklardan fosfatı çözme yeteneğini tespit etmek için kullanılmıştır (Nautiyal, 1999). Bakteriyel süspansiyonlar önceki bölümde anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Her bakteri kültüründen 2 µl alınarak NBRIP Agar'a inokule edilmiştir. Petriler 7 gün boyunca 24 ± 2 °C'de inkübe edilmiş ve kolonilerin etrafında berrak bir halenin oluşumu, fosfatın çözüldüğünün göstergesi olarak kabul edilmiştir (Şekil 1b). Oluşan halelerin çapı ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Denemeler 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

#### *Nitrojen fiksasyon aktivitelerinin belirlenmesi*

Rizobakterilerin nitrojeni fikse etme yeteneği, nitrojen içermeyen Bromthymol Blue yarı katı (NFb) ortamı kullanılarak tespit edilmiştir. Önceki bölümlerde anlatıldığı gibi hazırlanan bakteri süspansiyonlarından 100 µL alınarak, yarı katı bir NFb ortamı (2,5 ml) içeren bir test tüpüne (5 ml) inokule edilmiştir. İnoküle edilen tüpler 7 gün boyunca 24 ± 2°C'de inkübe edilmiş, ortam yüzeyinin altında oluşan duman benzeri bir halkanın varlığı (pelikül) ve renk değişimine göre sonuçlar değerlendirilmiştir (Caceres, 1982; Baldani et al., 2014; Widawati & Suliasih, 2019). Pelikül oluşumu ve renk değişimi, 0'dan 3'e kadar bir görsel derecelendirme ölçeği kullanılarak 7 gün sonra değerlendirilmiştir. Ölçek: 0 = renk ve pelikül oluşumunda değişiklik yok; 1 = renk değişikliği ve zar oluşumu yok; 2 = renk değişikliği ve zayıf zar oluşumu; 3 = renk değişikliği ve güçlü zar oluşumu (Şekil 1c). Nitrojen fiksasyonu aktiviteleri ölçek dikkate alınarak, negatif (-), pozitif (+), ortalama (++) ve iyi (+++) olarak değerlendirilmiştir.

#### *IAA üretim aktivitelerinin belirlenmesi*

IAA aktivitesi, L-triptofan içeren NB sıvı ortamında kolorimetrik yöntem kullanılarak spektrofotometrede optik densite (OD) okunarak kantitatif olarak saptanmıştır (Gang et al., 2019). Rizobakterilerin IAA üretimi, L-triptofan (L-TRP) varlığında kolorimetrik olarak değerlendirilmiştir. L-triptofan (0.5 g) içeren NB besiyeri (100 mL), 250 ml'lik bir beherde hazırlanmıştır. Daha sonra bu besiyerinden 2.5 ml alınarak, 5 ml'lik test tüplerine konulmuştur ve tüpler otoklavda sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan tüpler 50°C'ye kadar soğutulmuş ve daha önceki bölümlerde anlatıldığı şekilde hazırlanan 100 µl bakteri kültürü ile inokule edilmiştir ve üniform bir süspansiyon elde edilene kadar vortekslenmiştir. Negatif kontrol olarak kullanılan tüplere steril saf su (100 µl) eklenmiştir. Tüpler 48 saat boyunca 24 ± 2°C'de, 120 rpm'de çalkalanarak karanlıkta bir ortamda inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası elde edilen sıvı kültürler 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınarak mikrosantrifüjde 16.278 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. İşlem sonunda elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak ayrı bir tüpe aktarılmış ve üzerine 1 ml Salkowski ayırıcı (2 ml 0.5 M FeCl<sub>3</sub> + 98 ml %35'lik HClO<sub>4</sub>) ilave edilerek ve 30 dk. boyunca 24 ± 2°C'de karanlık bir ortamda renk oluşumu için bekletilmiştir. Negatif kontrol de aynı prosedüre tabi tutulmuştur. Süre sonunda spektrofotometrede optik densite (OD<sub>536nm</sub>) okunarak değerler belirlenmiştir. Elde edilen değerleri µg/ml'ye dönüştürmek için farklı ppm düzeylerinde metanolde çözülmüş IAA süspansiyonu hazırlanarak ölçümler yapılmıştır ve IAA'nın farklı doz (0-100 ppm) serilerinden hazırlanan standart eğri;  $Y=bX-a$  eşitliği [Y: absorbans, X: konsantrasyon, b: regresyon katsayısı (slope), a: regresyon sabiti (intersep)] ile bu ölçüm değerleri karşılaştırılarak kantitatif µg/ml (ppm) değerler elde edilmiştir. Elde edilen eğriye göre rizobakterilerin IAA üretimi hesaplanmıştır (Şekil 1d & e). Her bakteri için IAA üretimi 3 kez ölçülmüştür.

#### ***In vitro'da fungal patojenlere karşı rizobakterilerin ikili kültür testleri***

*Fusarium oxysporum*, *R. solani* ve *V. dahliae* ile rizobakteri izolatları arasındaki antagonistik ilişkiyi belirlemek için ikili kültür yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde *F. oxysporum* ve *V. dahliae* Patates Dekstroz Agar (PDA) içeren besi ortamında 14 gün, *R. solani* ise aynı besi ortamında 7 gün geliştirilmiştir. Bununla birlikte rizobakteri izolatları da TSA besiyerinde 48 saat boyunca 24 ± 2°C'de de geliştirilmiştir. Fungal izolatlara ait kültürlerden 5 mm çapında alınan iki disk, PDA içeren petrilere (9 cm) 1 cm içeriden

karşılıklı olacak şekilde yerleştirilmiştir. Rizobakteri izolatları ise aynı anda petri kabının orta kısmına çizgi ekim yapılmıştır. Petriler  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılmıştır (Hang et al., 2005; Dönmez et al., 2015). Deneme 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Bakteri inokule edilmeyen, sadece fungus ekimi yapılan petriler kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. *In vitro* deneme sonunda inhibisyon oranının ölçümü fungusların gelişim hızları göz önünde bulundurularak yapılmıştır (*R. solani* 3. gün., *F. oxysporum* 9. gün ve *V. dahliae* 21. gün). İnhibisyon oranı (%), kontrol petrilerindeki fungus koloni yarıçapı ile bakteri inokulasyonu yapılan petrilerdeki fungus koloni yarıçapı ölçülerek, aşağıdaki formüle (1) göre % engelleme oranı hesaplanmıştır (Çubukçu, 2007).

$$\text{Engelleme oranı (\%)} = \frac{(\text{Kontroldeki fungus koloni yarıçapı} - \text{Uygulamadaki fungus koloni yarıçapı})}{\text{Kontroldeki fungus koloni yarıçapı}} \times 100 \quad (1)$$

### ***In vivo*'da *Rhizoctonia solani*'ye karşı rizobakterilerin biyokontrol etkilerinin belirlenmesi**

İklim odası koşullarında *R. solani*'ye karşı rizobakterilerin biyokontrol etkilerinin belirlenebilmesi için aşağıda belirtilen aşamalar sırasıyla takip edilmiştir.

#### ***Bitkilerin yetiştirilmesi***

Bitki büyüme odasında yapılan saksı denemelerinde tohumlar steril torf içeren 0.38 lt'lik tek kullanımlık termoform saksılara (8x8x9 cm) ekilmiştir. Daha sonra domates bitkileri, %75-80 oransal nemde, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık, gündüz/gece ( $24^\circ\text{C} / 20^\circ\text{C}$ ) olan koşullarda deneme süresi boyunca tutulmuştur.

#### ***Fungal inokulumun hazırlanması***

*In vivo* denemede kullanılmak üzere inokulum kaynağı olarak buğday taneleri kullanılmıştır (Ichielevich-Auster et al., 1985; Botha et al., 2003; Sharon et al., 2007). Buğday taneleri saf su ile nemlendirilmiş ve tüplere (16x100 Vida Kapaklı Deney Tüpü) konularak ağızları kapatılmıştır. Bu haliyle  $121^\circ\text{C}$ 'de 1 saat boyunca 2 gün üst üste otoklavda sterilize edilmiştir. PDA'da 7 gün  $25^\circ\text{C}$ 'de geliştirilen *R. solani* HB-66 izolatına ait 5 mm çapında 2 adet misel diski buğday tanelerine inokule edilmiş ve tüpler 1 ay süre ile karanlıkta  $25^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilmiştir.

#### ***Bakteri inokulumunun hazırlanması***

*In vitro* testler sonucunda antimikrobiyal özellikleri ve bitki gelişimini teşvik etme potansiyelleri yüksek olan 2 farklı rizobakteri izolatının domates bitkilerinde *R. solani*'ye karşı biyokontrol etkileri *in vivo* koşullar altında belirlenmiştir. Bu amaçla,  $+4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilen T139 ve T142 kültürlerinden TSA'ya ekim yapılmış,  $24-25^\circ\text{C}$ 'de 48 saat boyunca inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen bakteriler iki farklı zaman ve yöntem ile bitkilere inokule edilmiştir (Akbaba & Özaktan, 2018). İlk olarak, rizobakteriler ile tohum bakterizasyonu işlemi tohum ekimi öncesi gerçekleştirilmiştir. Bu işleme göre, rizobakteri izolatları 50 ml'lik NB sıvı besiyeri içeren 250 ml'lik erlenlere inokule edilerek 48 saat boyunca  $24 \pm 2^\circ\text{C}$  sıcaklıkta 150 rpm'de çalkalayıcıda geliştirilmiştir. Gelişen bakteri kültürler 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve pellet 10 ml'lik %1.5 Carboxymethyl Cellulose ile süspansiyon edilmiştir. Domates tohumları, bakteri süspansiyonunda 30 dakika bekletildikten sonra kurutma kağıtlarına alınarak 1 saat boyunca oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kurutulan tohumlar, içerisinde steril torf bulunan saksılara ekilmiştir. Steril saf su içerisinde 30 dk. bekletilen domates tohumları ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. İkinci uygulamada ise, TSA besiyerinde 48 saat boyunca gelişen koloniler  $\text{OD}_{600\text{nm}}$ : 0.1 yoğunlukta olacak şekilde steril saf su ile süspansiyon edilmiştir. 1-2 damla Tween 20 damlatılan bu rizobakteri süspansiyonları (100 ml), patojen uygulamasından 24 saat önce yaklaşık 10 ml/saksı olacak şekilde domates bitkilerinin (3-5 yaprak aşamasında, 25. Gün) kök bölgesine içirme şeklinde uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise saf su verilmiştir. Rizobakteri uygulamasından 24 saat sonra, her bir saksıya misel sardırılmış 10 buğday tanesi bitkinin kök boğazı bölgesine eşit olarak dağıtılmıştır. Kontrol saksılarına ise 10 steril buğday tanesi bırakılmıştır.

Denemeler; yalnız bakteri uygulamaları (T139, T142) sadece patojen fungusun inokule edildiği pozitif kontrol uygulaması (HB-66), fungus x bakteri uygulaması (HB-66 x T139, HB-66 x Pc142) ve steril saf su verilen negatif kontrol uygulaması olmak üzere 6 karakterden oluşmuştur. Çalışma tesadüf

parselleri deneme desenine göre 4 tekerrürlü ve her tekerrüde 1 bitki olacak şekilde planlanmış olup, denemeler iki kez tekrarlanmıştır. Patojen uygulandıktan sonra 2.5 ay boyunca iklim odasında yetiştirilen bitkilerde hastalık belirtileri dikkatle takip edilmiştir. Bu süre sonunda bitkiler sökülüp Muyolo et al. (1993)'den modifiye edilerek kullanılan 0-4 skalası (0: Sağlıklı bitki, 1: Köklerde veya gövdede çok küçük kahverengi yüzeysel lezyonlar, 2: Kök veya gövdede derin ve geniş lezyonlar ile kökte gelişme geriliği, 3: Şiddetli kök çürüklüğü, ana kök veya gövdeyi çepeçevre saran derin lezyonlar ve belirgin olarak azalmış kök uzunluğu, 4: Ölü bitki) ile değerlendirilmiştir. Aynı zamanda bitkilerin kök ve gövde uzunluğu ölçülmüş, yaprak sayısı sayılmış, yaş ve kuru ağırlıkları tartılmıştır. Skala değerleri kullanılarak Townsend-Heuberger's formülüne (2) göre hastalık şiddeti değerleri hesaplanmıştır (Townsend & Heuberger, 1943).

$$\text{Hastalık şiddeti (\%)} = \frac{\sum (\text{Skala değeri} \times \text{Skalada değerlendirilen bitki sayısı})}{\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri}} \times 100 \quad (2)$$

### Rizobakterilerin MALDI-TOF MS ile tanısı:

*In vitro* test sonuçlarına göre hem bitki gelişimini teşvik etme potansiyeli gösteren hem de *R. solani*'ye karşı antagonist etki gösteren T139 ve T142 kodlu izolatların tanısı, Uysal vd. (2019) değinilen protokolden yararlanılarak MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) ile yapılmıştır. Analiz hizmet alımı karşılığında, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılmıştır. Bakteri örneklerine ait kütle spektrumları Flex Control Yazılımı (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) ile analiz edilmiş ve kütüphanedeki referans spektrum verileri (BIOTYPER™ 1.1 yazılımı) ile eşleştirilerek örneklerin kesin teşhisi yapılmıştır (Pavlovic et al., 2012). Üretici firmanın önerisine göre 2.00-3.00 arası skor değeri ile elde edilen sonuçlar 'güvenilir tür tayini', 1.70-1.99 arası skor değeri ile elde edilen sonuçlar 'cins düzeyinde güvenilir teşhis' olarak kabul edilmektedir. 1.70'in altındaki skor değerleri, hiçbir düzeyde güvenilir tanımlamalar olarak kabul edilmemektedir. Tutarlılık kategorileri ise A (tür düzeyinde tutarlı), B (cins düzeyinde tutarlı), C (tutarlı değil) şeklindedir.

### İstatistiksel analizler

SPSS (IBM SPSS Statistics, version 18.0) istatistik programında veriler analize tabi tutulmuştur. Uygulamalar arasında fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiş olup, bu belirlenen farklılıklar için gruplara ayrılma işlemi DUNCAN çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yapılmıştır ( $p < 0.05$ ).

## ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

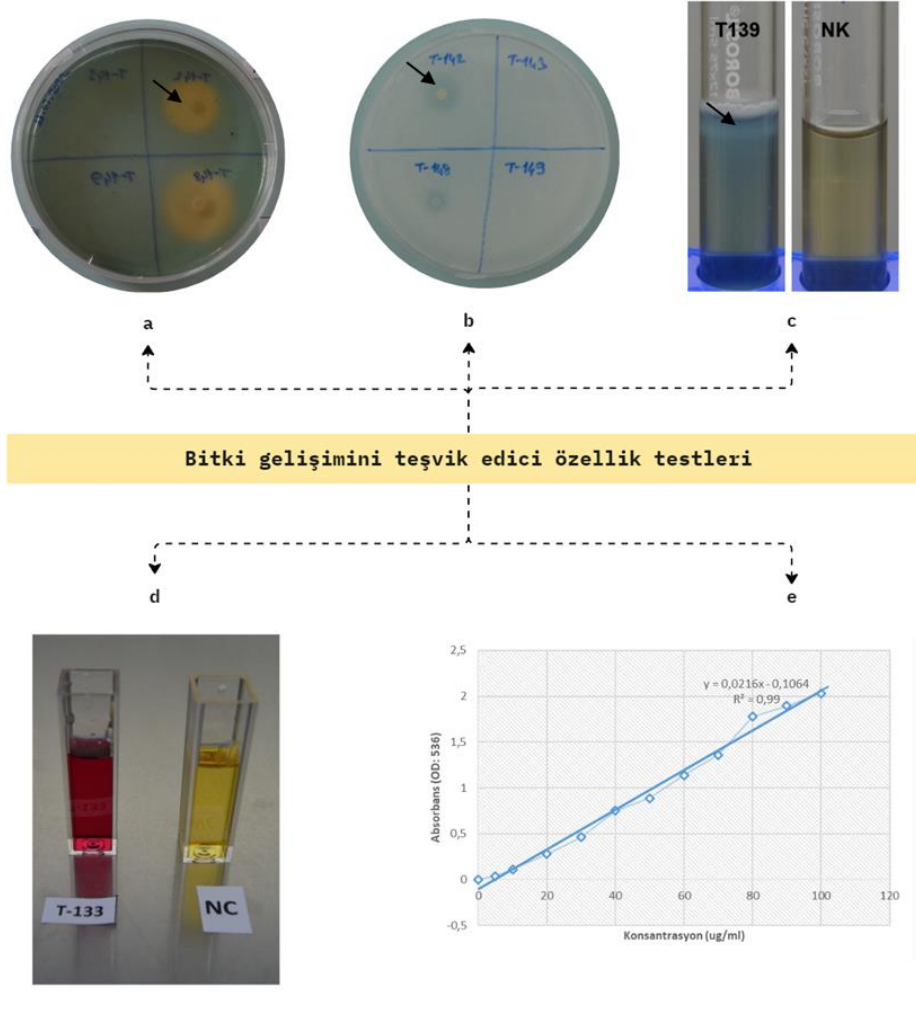
Çalışmada bitki ve insan patojeni olma riski taşımayan 10 bakteri izolatu kullanılmıştır. Bu izolatlara ait bitki gelişimini teşvik etme potansiyellerini gösteren testlere ait bulgular Çizelge 1'de sunulmuştur.

**Çizelge 1.** Çalışmada kullanılan rizobakteriler ve özellikleri

**Table 1.** *Rhizobacteria used in the study and their characteristic*

No	Kodu	Yer	Hr	Pa	Gr	Fp	Nf	S (mm)	F (mm)	IAA (ug/ml)
1	T54	Tuzluca/İğdir	-	-	+	-	+++	10	0	32.78
2	T82	Karakoyunlu/İğdir	-	-	+	-	++	6	0	26.06
3	T93	Karakoyunlu/İğdir	-	-	-	-	+++	24	0	133.99
4	T96	Karakoyunlu/İğdir	-	-	-	+	+	19	14	59.22
5	T125	Aralık/İğdir	-	-	-	-	+++	20	10	79.74
6	T131	Aralık/İğdir	-	-	+	-	+++	0	0	29.85
7	T133	Aralık/İğdir	-	-	-	-	+	33	20	121.85
8	T139	Aralık/İğdir	-	-	+	-	+++	6	0	25.23
9	T142	Merkez/İğdir	-	-	-	+	+	22	12	116.25
10	T184	Merkez/İğdir	-	-	+	-	++	0	0	31.28

Tütünde hipersensitiv reaksiyon (Hr), Pektolitik aktivite (Pa), Gram testi (Gr), Floresan pigment üretimi (Fp), Nitrojen fiksasyonu (Nf), Siderofor üretimi (S), Fosfatı çözebilme aktivitesi (F), IAA üretimi (Iaa), Negatif (-), Pozitif (+)



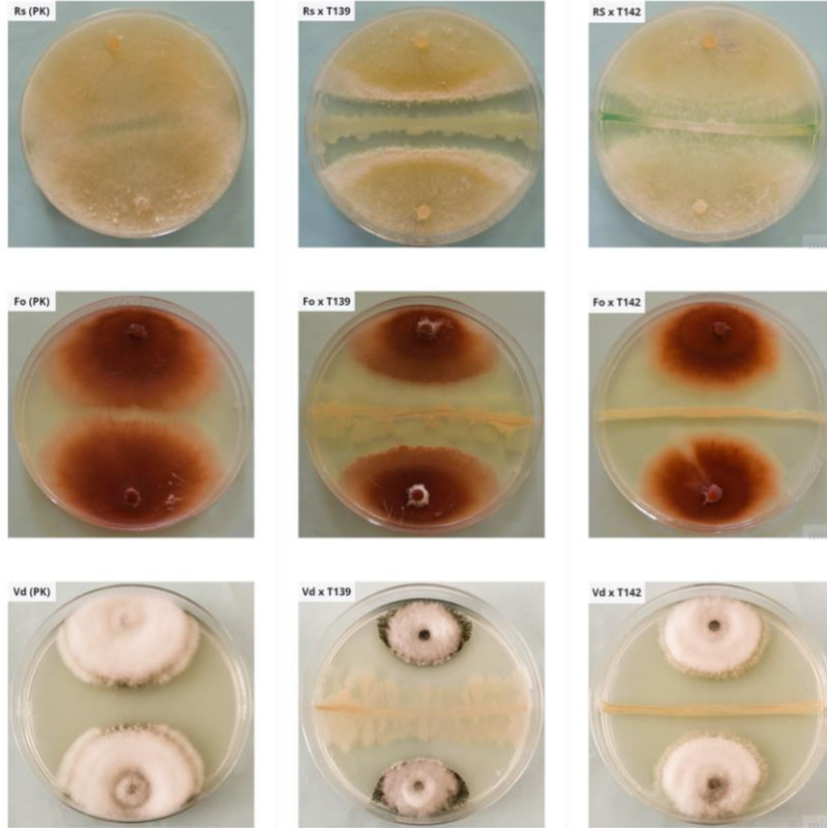
**Şekil 1.** Rizobakterilerin *in vitro* bitki gelişimini teşvik etme potansiyellerini belirleme testleri: a) siderofor üretimi, b) fosfatı çözebilme, c) nitrojen fiksasyonu, d) IAA üretimi ve e) standart eğri,

**Figure 1.** *In vitro* tests to determine the potential of rhizobacteria to promote plant growth: a) siderophore production, b) phosphate solubilization, c)  $N_2$  fixation, d) IAA production and e) standard curve.

PGPR'lerin, iki yoldan bitki büyümesini teşvik etme potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir. İlk olarak, nitrojen fiksasyonu, fosfat çözündürme, potasyum çözündürme, fitohormon üretimi (IAA, sitokin, etilen ve giberellinler) ve ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminaz üretimi yoluyla bitki büyümesinin doğrudan desteklenmesidir. İkincisi ise uyarılmış sistemik dayanıklılık, siderofor üretimi, antibiyotikler, ekzopolisakkaritler, uçucu yağlar, litik ve koruyucu enzimlerin üretimi yoluyla bitki büyümesinin dolaylı olarak teşvik edilmesidir (Abdelaziz et al., 2023). PGPR genellikle kök sistemini kolonileştirerek ve zararlı rizosfer mikroorganizmalarının oluşumunu önleyerek veya baskılayarak bitki büyümesini iyileştirir (Schroth & Hancock, 1982). Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde kullanılan rizobakteri izolatlarının 6-33 mm çapında siderofor ve 25.23-133.99  $\mu\text{g/ml}$  IAA üretimi, 10-20 mm çapında fosfatı çözüme ve orta-iyi düzeyde nitrojeni fikse etme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. Özellikle T96, T125, T133 ve T142 izolatları, bitki gelişiminin teşvik edilmesi ile ilişkili olan siderofor üretimi, IAA üretimi ve fosfatı çözüme potansiyelleri birlikte değerlendirildiğinde çalışmadaki izolatlar arasında ön plana çıkmıştır.

Reynolds et al. (2003), bitki ile toprak kaynaklı mikroorganizma etkileşimlerinin, bitki sistemi kompozisyonu ve dinamiklerinin itici güçleri olarak tanımlamıştır. Toprak kaynaklı mikroorganizmaların toprak oluşum süreçlerine dahil olduğu, toprağın ayrışmasına, humus oluşumuna ve topraktaki bitki patojenlerinin gelişiminin kontrol altında tutulmasına önemli katkı yaptığı bildirilmiştir (Weller et al., 2002; Matei et al., 2017). Toprak ile yakın ilişkili olan rizobakteriler, bitki hastalıklarına karşı geniş spektrumlu biyokontrol aktivite göstermektedir (Liu et al., 2017).

İkili kültür test sonuçlarına göre bazı rizobakteri izolatlarının, patojenlerin misel gelişimini engelledikleri tespit edilmiştir (Şekil 2).



**Şekil 2.** Rizobakteri uygulamalarının (T139, T142) farklı fungal patojenlere [Fo (*Fusarium oxysporum* HMK2-6), Rs (*Rhizoctonia solani* HB-66) ve Vd (*Verticillium dahliae* YY-14)] karşı antimikrobiyal etkileri.

**Figure 2.** Antimicrobial effects of rhizobacteria treatments (isolates T139 and T142) against different fungal pathogens [*Fo* (*Fusarium oxysporum* HMK2-6), *Rs* (*Rhizoctonia solani* HB-66), and *Vd* (*Verticillium dahliae* YY-14)].

Denemelerde kullanılan bakteri izolatları arasından; 5 bakteri izolatının kontroller ile karşılaştırıldığında *R. solani* HB-66 izolatına karşı %22.4-31.4, T82 izolatı hariç 9 izolatın *F. oxysporum* HMK2-6 izolatına karşı %1.1-41.2 ve tüm izolatların ise *V. dahliae* YY-14 izolatına karşı %26,9-66.9 arasında değişen oranlarda biyokontrol etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 2). Anova Testi sonuçlarına göre, fungus ve bakteri uygulamaları arasındaki antagonistik ilişki istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.05$ ). Rizobakteri izolatları arasında biyolojik etkinlik açısından kontrole göre istatistiksel olarak fark olduğu tespit edilmiştir. Yapılan Duncan çoklu karşılaştırma testleri sonucunda en başarılı uygulamaların *V. dahliae* YY-14 izolatına karşı T184 izolatı, *F. oxysporum* HMK2-6 izolatına karşı T131 izolatı ve *R. solani* HB-66 izolatına karşı ise T93, T139 ve T142 izolatları olduğu tespit edilmiştir.



**Çizelge 2.** Rizobakteri uygulamalarının üç farklı fungal patojen karşı *in vitro* da biyokontrol etkileri**Table 2.** *In vitro* biocontrol effects of rhizobacteria treatments against three different fungal pathogens

Uygulamalar	<i>Rhizoctonia solani</i> HB-66		<i>Fusarium oxysporum</i> HMK2-6		<i>Verticillium dahliae</i> YY-14	
	Ort. Yarıçap (mm) ±stn hata	Etki (%)	Ort. Yarıçap (mm)±stn hata	Etki (%)	Ort. Yarıçap (mm) ±stn hata	Etki (%)
T54	35.0 ± 0.00 c*	0.0	29.2 ± 0.44 fg	1.1	15.8 ± 0.16 def	45.7
T82	35.0 ± 0.00 c	0.0	28 ± 0.16 g	0.0	17.3 ± 0.60 ef	40.6
T93	24.0 ± 0.28 a	31.4	26.7 ± 0.16 e	9.6	14.2 ± 0.44 cd	51.4
T96	35.0 ± 0.00 c	0.0	28 ± 0.28 f	5.1	16.3 ± 1.01 ef	44.3
T125	35.0 ± 0.00 c	0.0	24.8 ± 0.72 d	15.8	17.8 ± 0.44 f	38.9
T131	26.5 ± 0.50 b	24.3	17.3 ± 0.60 a	41.2	12 ± 0.86 b	58.9
T133	35.0 ± 0.00 c	0.0	22.3 ± 0.16 c	24.3	15.5 ± 0.50 de	46.9
T139	24.0 ± 0.28 a	31.4	20.8 ± 0.88 b	29.4	13.5 ± 0.76 bc	53.7
T142	24.0 ± 0.28 a	31.4	26.2 ± 0.16 e	11.3	21.3 ± 0.44 g	26.9
T184	27.2 ± 0.60 b	22.4	22 ± 0.00 bc	25.4	9.7 ± 1.01 a	66.9
Kontrol	35.0 ± 0.00 c	0.0	29.5 ± 0.28 g	0.0	29.2 ± 0.16 h	0

\* Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $P < 0.05$ e göre önemsizdir.

*In vitro* testlerin sonuçlarına göre biyokontrol ve siderofor üretimi, fosfat çözebilme ve IAA üretimi gibi bitki gelişimini artırıcı özelliklere sahip olan iki rizobakteri izolatı (T139 ve T142), domates bitkilerinde *R. solani* HB-66 izolatına karşı biyokontrol etkilerinin *in vivo* 'da belirlenebilmesi için seçilmiştir. *In vivo* denemelerde kullanılan T139 ve T142 izolatlarının MALDI-TOF MS analizi (Skor Değeri, Tutarlılık Kategorisi) kullanılarak tanıları yapılmıştır. Bu rizobakteri izolatları analiz sonuçlarına göre; *Bacillus subtilis* strain T139 (2.06;A) ve *Pseudomonas chlororaphis* strain T142 (2.14;C) olarak tanılanmıştır. Çalışmada kullanılan *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerin biyolojik mücadelede yaygın olarak kullanıldığı bilinmektedir. Shafique et al. (2016) tarafından yapılan çalışmaya göre *Trichoderma*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* türlerini içeren uygulamalarının birçok üründe toprak kaynaklı patojenlerin neden olduğu kök çürüklüğüne karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Shafi et al. (2017) tarafından yapılan başka bir çalışmada, *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. firmus* ve *B. pumilus*), *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Aspergillus flavus* ve *R. solani* gibi bitki patojenlerini rekabet, doğrudan antibiyosis ve konukçularda dayanıklılığın uyarılması yoluyla baskılayabildiği bildirilmiştir. *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp. izolatlarının çok yönlü ve çok sayıda biyoaktif bileşik üreticisi olduğu bilinmesine rağmen bunların *in vitro*'da gösterdikleri başarılı aktivitelerinin, özellikle saha koşulları altında *in vivo* koşullara kolayca aktarılamadığına birçok çalışmada değinilmiştir (Ravensberg, 2011; Glare et al., 2012).

Bu çalışmada denemelerin ortalama sonuçlarına göre; testlenen *P. chlororaphis* T142 ve *B. subtilis* T139 izolatlarının domates bitkilerinde *R. solani*'nin neden olduğu hastalık şiddetini pozitif kontrole (%78,1) göre sırasıyla %19.9 ve %11.9 oranla çok yüksek düzeylerde olmasa da azalttıkları tespit edilmiştir (Çizelge 3, Şekil 3). Benzer bir çalışmada, *Azospirillum* sp., *Azotobacter chroococcum* ve *Pseudomonas fluorescens* gibi rizobakteri izolatlarının, domateste *R. solani*'nin neden olduğu çökerten hastalığına karşı etkili biyokontrol potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (Gupta et al., 1995). *Pseudomonas* ve *Bacillus* izolatlarının *Phytophthora infestans*'in patatestte neden olduğu geç yanıklığa karşı etkilerinin küçük ölçekli tarla denemesinde belirlendiği bir çalışmada ise; *Pseudomonas protegens* 44R-P8 izolatının, belirtilerin ilk ortaya çıkışından 16 gün sonrasına kadar doğal olarak oluşan geç yanıklığa karşı önemli bir koruma (%19) sağladığı, *B. subtilis* 30B-B6 izolatının ise denemenin sonuna kadar önemli bir koruma (%22) gösterdiği rapor edilmiştir (Caulier et al., 2018).

**Çizelge 3.** Rizobakterilerin *in vivo*'da *Rhizoctonia solani*'ye karşı etkileri ve bitki gelişimini teşvik etme potansiyelleri**Table 3.** *In vivo* efficacy of rhizobacteria against *Rhizoctonia solani*, and their potential for plant growth promotion

Uygulamalar	I.Deneme						II.Deneme						I-II Deneme Ortalaması					
	HB-66 (K+)	HB-66 xT142	HB-66 xT139	T139	T142	K (-)	HB-66 (K+)	HB-66 x T142	HB-66 xT139	T139	T142	K (-)	HB-66 (K+)	HB-66 xT142	HB-66 xT139	T139	T142	K (-)
KU** (cm)	0.0	0.0	0.0	25.4	21.4	21.0	21.8	25.8	19.5	22.2	21.8	24.0	10.9	12.9	9.8	23.8	21.6	22.5
	±0.00	±0.00	±0.00	±5.33	±2.11	±2.64	±1.10	±1.79	±1.51	±1.48	±2.48	±2.26	±4.14	±4.93	±3.75	±2.57	±1.46	±1.70
	b	b	b	a	a	a	ab	a	b	ab	ab	ab	b	b	b	a	a	a
GU (cm)	0.0	0.0	0.0	65.3	71.3	66.5	52.6	61.3	58.5	66.7	70.3	71.0	26.3	30.6	29.3	66.0	70.8	68.8
	±0.00	±0.00	±0.00	±4.05	±3.38	±2.78	±2.91	±2.49	±3.83	±0.93	±4.91	±7.09	±10.02	±11.63	±11.19	±1.88	±2.67	±3.55
	b	b	b	a	a	a	b	ab	ab	a	a	ab	b	b	b	a	a	a
YS (Adet)	0.0	0.0	0.0	9.3	10.3	11.0	10.0	10.0	10.0	10.0	9.7	10.3	5.0	5.0	5.0	9.7	10.0	10.7
	±0.00	±0.00	±0.00	±0.88	±0.66	±0.57	±0.40	±0.91	±0.81	±0.57	±0.66	±0.88	±1.89	±1.93	±1.92	±0.49	±0.44	±0.49
	c	c	c	b	ab	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	a	a	a
KYA (g)	0.0	0.0	0.0	1.6	1.1	1.1	0.5	0.95	1.2	1.4	0.9	0.9	0.2	0.5	0.6	1.5	1.0	1.0
	±0.00	±0.00	±0.00	±0.03	±0.17	±0.04	±0.18	±0.09	±0.47	±0.04	±0.10	±0.06	±0.12	±0.18	±0.30	±0.06	±0.10	±0.44
	c	c	c	a	b	b	b	ab	ab	a	ab	ab	c	c	c	a	b	b
KKA (g)	0.0	0.0	0.0	0.4	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2	0.4	0.3	0.3
	±0.00	±0.00	±0.00	±0.01	±0.04	±0.01	±0.07	±0.05	±0.11	±0.03	±0.03	±0.02	±0.04	±0.06	±0.08	±0.02	±0.02	±0.16
	c	c	c	a	b	b	a	a	a	a	a	a	b	b	b	a	a	a
GYA (g)	0.0	0.0	0.0	17.7	18.1	16.9	12.4	16.8	16.6	17.4	16.9	17.9	6.2	8.4	8.3	17.6	17.5	17.4
	±0.00	±0.00	±0.00	±0.36	±1.85	±0.61	±1.37	±0.34	±1.51	±0.80	±0.32	±0.65	±2.37	±3.18	±3.21	±0.39	±0.88	±0.45
	b	b	b	a	a	a	b	a	a	a	a	a	c	b	b	a	a	a
GKA (g)	0.0	0.0	0.0	3.3	3.2	2.9	2.1	3.0	2.7	2.9	2.9	3.1	1.0	1.5	1.3	3.1	3.0	3.0
	±0.00	±0.00	±0.00	±0.17	±0.39	±0.06	±0.42	±0.29	±0.37	±0.16	±0.10	±0.09	±0.43	±0.57	±0.53	±0.14	±0.19	±0.07
	b	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a	b	b	b	a	a	a
HŞ (%)	100.0	100.0	100.0	0.0	0.0	0.0	56.3	25.0	37.5	0.0	0.0	0.0	78.1	62.5	68.8	0.0	0.0	0.0
Etki (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	55.5	33.3	0.0	0.0	0.0	0.0	19.9	11.9	0.0	0.0	0.0

\* Duncan çoklu karşılaştırma testine göre denemelerin her biri için aynı satırda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

\*\* Negatif Kontrol (K-), Pozitif Kontrol (K+), *Rhizoctonia solani* HB-66, *Bacillus subtilis* strain T139 ve *Pseudomonas chlororaphis* strain T142'nin kısaltmalarıdır.

\*\*\* Bitki büyüme parametreleri; Kök uzunluğu (KU), Gövde uzunluğu (GU), Yaprak Sayısı (YS), Kök Yaş Ağırlığı (KYA), Kök Kuru Ağırlığı (KKA), Gövde Yaş Ağırlığı (GYA), Gövde Kuru Ağırlığı (GKA), Hastalık Şiddeti (HŞ).

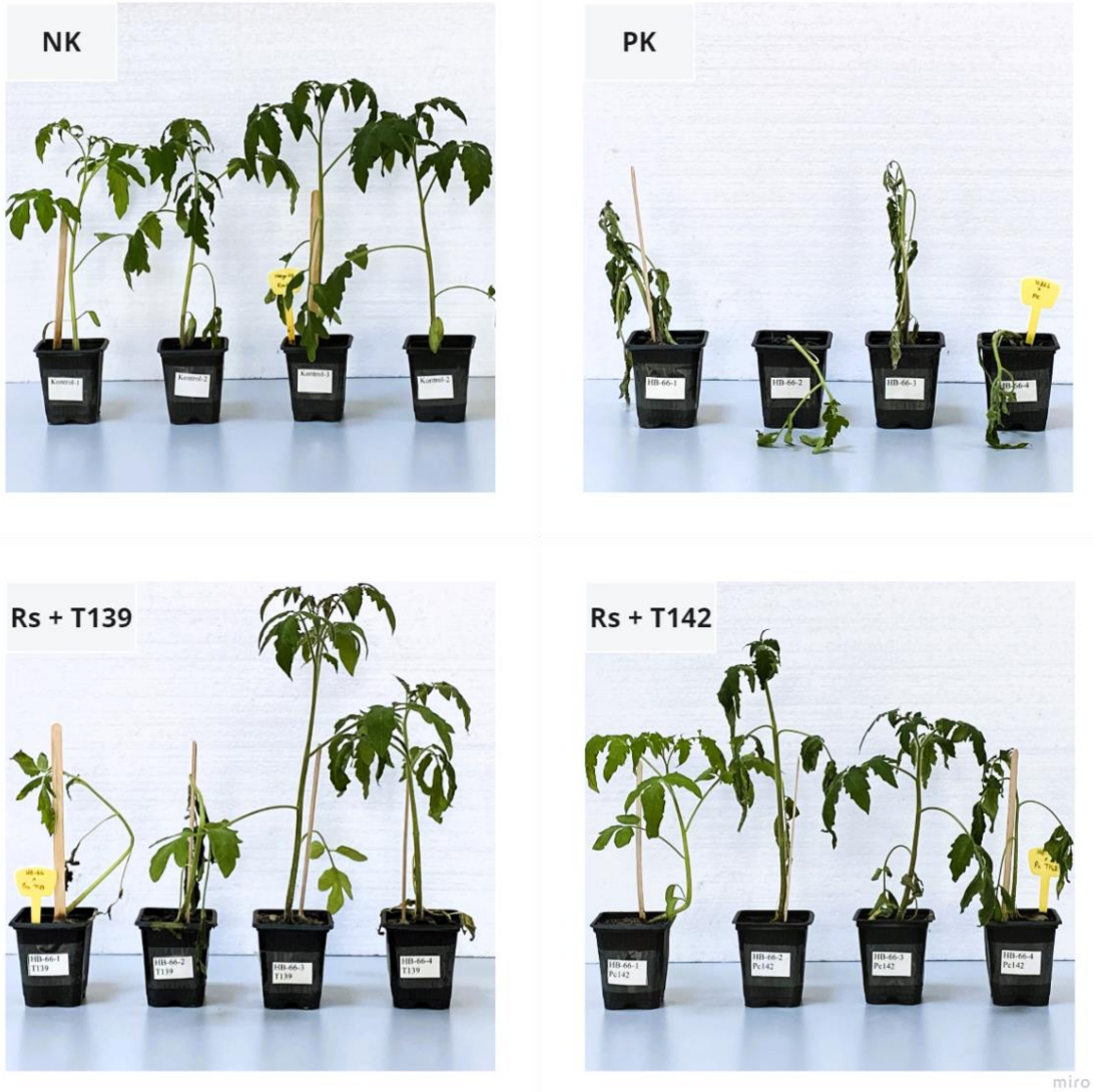
Bu çalışmada, yapılan denemeler sonucunda rizobakteri uygulamalarının pozitif kontrolde görülen hastalık şiddetine göre, *R. solani* enfeksiyonuna karşı gösterdiği bitkiyi koruma reaksiyonlarında farklılık olduğu gözlemlenmiştir. Deneme l'de pozitif kontrolde hastalık şiddeti %100 hesaplandığında, rizobakteri

uygulamalarının *R. solani* enfeksiyonunun gelişiminin sınırlanması üzerine hiçbir etkisinin olmadığı görülmektedir. Ancak Deneme II'de hastalık şiddeti %56.3 hesaplandığında, rizobakterilerden *P. chlororaphis* T142 izolatının %55.5 ve *B. subtilis* T139 izolatının %33.3 oranında patojenin neden olduğu hastalık şiddetini sınırladığı tespit edilmiştir (Çizelge 3). Bu durum hastalık şiddetinin çok yüksek seviyelerde görüldüğü bitkilerde, özellikle kök ve kök boğazı patojenlerine karşı rizobakteri uygulamalarının etkisinin azaldığının veya tamamen ortadan kalktığına bir göstergesi olabilir. Ayrıca patojenin kısa sürede bitkiyi öldürmesi rizobakteri uygulamalarının etkinliğini sınırlandırmış olabilir. Bu duruma değinilen bir çalışmada, bir biyolojik kontrol ajanının potansiyel etkinliği, toprakta bulunan patojen (ler)in virülansı ve inokulum potansiyeli ile ilişkilendirilmiştir. Yani rizosferdeki yüksek patojen inokulum yoğunluğunun, her türlü biyolojik kontrolü etkisiz hale getirebileceği vurgulanmıştır (Azcón-Aguilar & Barea, 1997).

Negatif kontrol bitkilerinde her iki deneme için, tüm parametrelerde birbirine yakın değerler elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada rizobakteri uygulamalarının patojen varlığında ve yokluğunda bitki gelişimine etkileri incelenmiştir. Denemelerin ortalama sonuçlarına göre, patojen yokluğunda rizobakteri uygulamalarının, bazı bitki büyüme parametreleri [Kök uzunluğu (KU), Gövde uzunluğu (GU), Yaprak Sayısı (YS), Kök Kuru Ağırlığı (KKA), Gövde Kuru Ağırlığı (GKA)] dikkate alındığında bitki gelişimine olan etkileri istatistiksel açıdan önemsizdir ( $p>0.05$ ). Her iki rizobakteri uygulamasının hastalık etmenine maruz kalan bitkilerde istatistiksel açıdan önemli düzeyde gövde yaş ağırlığı (GYA)'nı artırdığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Ayrıca *B. subtilis* T139 izolatının kök yaş ağırlığı (KYA)'nı hem hastalığa maruz kalan hem de hastalıktan arı bitkilere göre istatistiksel açıdan önemli düzeyde artırdığı kayıt edilmiştir ( $p<0.05$ ). *Bacillus* ve *Pseudomonas* ile uygulama gören domates bitkilerinde, uygulamaların özellikle kök yaş ve gövde yaş ağırlığı üzerine olumlu etkilerini gösteren veriler, önceki çalışmalarda elde edilen verileri desteklemektedir (Hamza et al., 2016; Cochard et al., 2022).

Denemelerin ortalama sonuçlarına göre *P. chlororaphis* T142 izolatının ise %19.9 oranında biyokontrol etki göstererek *R. solani* enfeksiyonunun gelişimini sınırladığı tespit edilmiştir. *Bacillus* spp. gibi diğer önemli gruba oluşturan *Pseudomonas* genusu üyeleri, bitki içinde kolonizasyon ve çoğalma, diğer mikroorganizmalarla rekabet, streslere uyum sağlama gibi onları hayati bir biyokontrol ajanı yapan ayırt edici özelliklere sahiptir. Bu bakteriler antibiyotikler, sideroforlar, uçucu bileşikler ve büyüme uyarıcı bileşikler gibi geniş bir yelpazede aktif biyolojik metabolitler üretirler (Stockwell & Stack 2007). Bu türler sekonder metabolitlerin üretimi (antibiyotikler, Fe-şelatlayıcı sideroforlar), selülitik ve kitinolitik aktivite ve konukçu bitkide fitopatogenlere karşı sistemik direncin indüklenmesi gibi farklı mekanizmaları kullanarak toprak kaynaklı bitki patojenlerinin gelişimini baskılayabilmektedir (Garbeva et al., 2004). Özellikle siderofor üretim mekanizması *Pseudomonas* spp. için yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Rizosferlerdeki patojen popülasyonlarının, patojenlerin etrafındaki demirin azalmasına yol açan sideroforların varlığı nedeniyle baskılandığı kayıt edilmiştir (Raaijmakers & Mazzola, 2012; Wilson et al., 2016). Çalışmamızda kullanılan *P. chlororaphis* T142 izolatının literatür ile uyumlu olarak yüksek oranda siderofor üretme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, bir diğer önemli gruba ait olan *B. subtilis* T139 izolatının %11.9 oranında biyokontrol etki göstererek patojen gelişimini sınırladığı belirlenmiştir. *Bacillus* türlerinin, *R. solani*'nin neden olduğu kök çürüklüğüne ve çökertene karşı iturin A, surfactin, plipastatin, bacilyisin, mikobasilin ve mikosubtilin gibi çeşitli antibiyotikleri üreterek etkili olduğunu bildirmiştir (Abdelaziz et al., 2023). *Bacillus* spp. en hayati özelliği ise doğadaki bakterilerin dayanıklılığına yardımcı olan ve uzun yıllar canlılığını sürdürebilen endospor oluşturmalarıdır (Zimina et al., 2016). Ayrıca *Bacillus* türlerinin antifungal metabolitlerinin sıcaklık ve pH değişikliklerine dirençli olduğu ve antifungal aktivitelerini kaybetmediği kaydedilmiştir (Sansinenea & Ortiz, 2011). Örneğin *B. subtilis* bitki köklerinde, lipopeptitlerin üretilmesine yardımcı olan ve topraktaki antimikrobiyal aktivitelerini artıran biyofilmler oluşturmaktadır (Davey et al., 2003).



Şekil 3. *Rhizoctonia solani*'ye karşı rizobakteri uygulamalarının *in vivo* etkinliği

Figure 3. *In vivo* efficacy of rhizobacteria treatments against *Rhizoctonia solani*

*Bacillus* türlerinin biyokontrol stratejileri arasında hem bitki savunması hem de bitki büyümesini teşvik edici özellikleri ön plana çıkmaktadır (Bargabus et al., 2002; Bach et al., 2016). *Bacillus* türleri, uzun ömürlü, strese dayanıklı sporlar oluşturma ve bitki büyümesini uyan ve patojen enfeksiyonunu önleyen metabolitler salgılama yeteneğine sahiptir. Ayrıca toksik iyonların hareketini engelleyen ve iyonik dengenin korunmasına yardımcı olan, bitki dokularında suyun hareketini destekleyen ve patojenlerin gelişimini sınırlayan ekzopolisakkaritler ve sideroforlar salgılar (Radhakrishnan et al., 2017). Ayrıca *Bacillus* türlerinin P ve N gibi temel besin maddelerinin kompleks halini, bitki kökleri tarafından kolay alınabilir bir forma dönüştürürler (Kang et al., 2015; Kuan et al., 2016). Çalışmamızda *B. subtilis* T139 izolatında olduğu gibi N fiksasyonu, P çözünürlüğü, bitki büyümesini destekleyici hormonlar ve enzimler üreten *Bacillus* spp., tarımsal ürünlerin büyümesini ve verimini artırmaktadır. *Bacillus* türlerinin bitki büyümesini teşvik edici özellikleri köklerin, sürgünlerin ve yaprakların gelişimindeki artışa paralel olarak ortaya çıkan verim artışıdır (Radhakrishnan et al., 2017). Sonuç olarak bitki büyümesini teşvik eden

rizobakteriler, birçok bitki patojenine karşı en umut verici stratejilerden biridir. Rizobakteriler çeşitli bitki patojenlerini kontrol etmek için güvenli çevre dostu uyarıcılar olarak görev yapmaktadır. Bu bakterilerin rolü sadece bitki patojenlerini inhibe etmek değil, aynı zamanda bitkide sistemik direnci aktive ederek ve besin alınımını kolaylaştırarak biyotik ve abiyotik streslere karşı bitki gelişimini teşvik etmektedir. Çalışmada kullanılan rizobakteri strainleri *R. solanum*'nin biyolojik mücadelesi için ümit vadeci sonuçlar ortaya koysada, biyoajan araştırma sürecinin biyoinformatik, moleküler biyoloji, analitik kimya ve biyoistatistik gibi alanların entegre bir şekilde kullanıldığı yararlı bakteri-patojen-bitki etkileşiminin arka planını aydınlatmayı kolaylaştıran gelişmiş yöntemler ile sürdürülmesinin daha etkili strainlerin ortaya çıkarılması açısından oldukça önemli olacağı düşünülmektedir. Özellikle moleküler taramadaki teknolojik avantajlar ve ekolojik fonksiyonların genetik ve evrimsel mekanizmalarına ilişkin bilgi birikiminin bu süreci oldukça hızlandıracağı düşünülmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmada istatistiksel analizler için yardım aldığımız Doç. Dr. Cem Tırınk'a teşekkür ederiz.

## KAYNAKLAR

- Abdelaziz, A.M., A.H. Hashem, G.S. El-Sayyad, D.A. El-Wakil, S. Selim, D.H.M. Alkhalifah & M.S. Attia, 2023. Biocontrol of soil borne diseases by plant growth promoting rhizobacteria. *Tropical Plant Pathology*, 48: 105-127. Doi: 10.1007/S40858-022-00544-7
- Agrios, G.N., 2005. *Plant pathology*, 5 th. edn. Elsevier Academic Press, San Diego, USA, 948 pp.
- Akbaba, M. & H. Özaktan, 2018. Biocontrol of angular leaf spot disease and colonization of cucumber (*Cucumis sativus* L.) by endophytic bacteria. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28: 14. Doi: 10.1186/s41938-017-0020-1
- Akbaba, M. & H. Özaktan, 2021. Kirazda *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin biyolojik kontrolünde yararlı bakterilerin kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 52 (2): 176-189.
- Altunlu, H. 2020. Tuz Stresi Altındaki Biberde (*Capsicum annum* L.) mikoriza ve rizobakteri uygulamasının bitki gelişimi ve bazı fizyolojik parametreler üzerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 57 (4): 501-510. Doi: 10.20289/zfdergi.655491
- Aşkın, A., F. Ünal & E. Koca, 2018. Domateste *Rhizoctonia solani* ve *Pythium deliense* tarafından neden olunan çökerten hastalığının biyolojik mücadelesinde farklı inokulasyon yöntemlerinin etkinliklerinin belirlenmesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 9 (1): 19-30.
- Azcón-Aguilar, C. & J. Barea, 1997. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens - an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457-464. Doi: 10.1007/s005720050147
- Bach, E., G. D. dos Santos Seger, G. de Carvalho Fernandes, B. B. Lisboa & L. M. P. Passaglia, 2016. Evaluation of biological control and rhizosphere competence of plant growth promoting bacteria. *Applied Soil Ecology*, 99: 141-149.
- Baldani, J.I., V.M. Reis, S.S. Videira, L. H. Boddey & V. L. D. Baldani, 2014. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil* 384: 413-431
- Bargabus, R.L., N.K. Zidack, J.E. Sherwood & B. J. Jacobsen, 2002. Characterisation of systemic resistance in sugar beet elicited by a non-pathogenic, phyllosphere-colonizing *Bacillus mycoides*, biological control agent. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 61 (5): 289-298.
- Ben Abdallah, R.A., H. Jabnoun-Khiareddine, S. Mokni-Tlili, A. Nefzi, S. Medimagh-Saidana & M. Daami-Remadi, 2015. Endophytic *Bacillus* spp. from wild solanaceae and their antifungal potential against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* elucidated using whole cells, filtrate cultures and organic extracts. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 6 (11): 324. Doi: 10.4172/2157-7471.1000324
- Botha, A., S. Denman, S.C. Lamprecht, M. Mazzola & P. W. Crous, 2003. Characterization and pathogenicity of *Rhizoctonia* isolates associated with black root rot of strawberries in the Western Cape Province, South Africa. *Australasian Plant Pathology*, 35: 195-201.

- Bubici, G., A. D. Marsico, M. D'Amico, M. Amenduni & M. Cirulli, 2013. Evaluation of *Streptomyces* spp. for the biological control of corky root of tomato and *Verticillium* wilt of eggplant. *Applied Soil Ecology*, 72: 128-134.
- Buhur, N., 2014. Aydın İlinde eřitli Kltr Bitkilerinden Elde Edilen Patojen *Rhizoctonia* spp. İzolatlarının Anastomosis Gruplarının Belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 97 s.
- Caceres, E.A., 1982. Improved Medium for Isolation of *Azospirillum* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 44 (4): 990-991.
- Caulier, S., A. Gillis, G. Colau, F. Licciardi, M. Lipin, N. Desoignies, P. Modrie, A. Legrve, J. Mahillon & C. Bragard, 2018. Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 13 (9): 143. Doi: 10.3389/fmicb.2018.00143
- Cochard, B., B Giroud, J. Crovadore, R. Chablais, L. Arminjon & F. Lefort, 2022. Endophytic PGPR from tomato roots: isolation, in vitro characterization and in vivo evaluation of treated tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). *microorganisms*, 10 (4): 765. Doi: 10.3390/microorganisms10040765
- apar, E., 2012. Patateste Farklı Sklerot Düzeylerinin *Rhizoctonia solani* İnfeksiyonlarındaki Rolünün ve Hastalıkla Mücadelede Yumru İlalamalarının EtkinliĐinin Araştırılması. ukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi, Adana, 71 s.
- buku, N., 2007. Pamuklarda *Verticillium* SolgunluĐu (*Verticillium dahliae* Kleb.)'na karşı Endofitik Bakterilerle Biyolojik Mücadele Olanakları. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 71 s.
- Davey, M.E., N.C. Caiazza & G. A. O'Toole, 2003. Rhamnolipid surfactant production affects biofilm architecture in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Journal of bacteriology*, 185 (3): 1027-1036. Doi: 10.1128/JB.185.3.1027-1036.2003
- Demirci, E. & M.T. Dken, 1995. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* Kühn and binucleate *Rhizoctonia* isolates from various crops in Türkiye. *The Journal of Turkish Phytopathology*, 24 (2): 57-62.
- Dnmez, M.F., B. Uysal, E. Demirci, S. Erciřli & R. akmakı, 2015. Biological control of root rot disease caused by *Rhizoctonia solani* Kühn. on potato and bean using antagonist bacteria. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 14 (5): 29-40
- Duff, J.D. & M.C. Firrell, 2021. Biofumigation: A Cover Crop Option 12 Months of the year to manage three soilborne pathogens ailing the Australian vegetable industry. *Global Journal of Agricultural Innovation, Research & Development*, 8: 104-116.
- Durak, E.D. & F. Ok, 2019. Van Gl Havzası'nda domateslerden (*Solanum lycopersicum*) izole edilen *Rhizoctonia solani* Kühn'nin anastomosis grupları ve patojenitelerinin belirlenmesi. İĞdir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 9 (4): 1908-1915.
- Eken, C. & S. Tuncer, 2019. *Rhizoctonia* species and anastomosis groups isolated from tomato and cucumber in Erzincan, Turkey. *International Journal of Research in Agriculture and Forestry*, 6 (6): 26-31.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2021. Tomatoes, Production quantities of Tomatoes by country. (<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>) (Eriřim tarihi: AĐustos 2023)
- Fiers, M., V. Edel-Hermann, C. Chatot, Y. Le Hingrat, C. Alabouvette & C. Steinberg, 2012. Potato soil-borne diseases. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32 (1): 93-132.
- Gang, S., S. Sharma, M. Saraf, M. Buck & J. Schumacher, (2019). Analysis of Indole-3-acetic Acid (IAA) production in *Klebsiella* by LC-MS/MS and the salkowski method. *Bio-protocol*, 9 (9): e3230. Doi: 10.21769/BioProtoc.3230
- Garbeva, P., J. A. Veen & J.D. Elsas, 2004. Assessment of the diversity, and antagonism towards *Rhizoctonia solani* AG3, of *Pseudomonas* species in soil from different agricultural regimes. *FEMS microbiology ecology*, 47 (1): 51-64. Doi: 10.1016/S0168-6496 (03)00234-4
- Ghosh, S., P. Kanwar & G. Jha, 2017. Alterations in rice chloroplast integrity, photosynthesis and metabolome associated with pathogenesis of *Rhizoctonia solani*. *Scientific Reports*, 7: 41610
- Glare, T., J. Caradus, W. Gelernter, T. Jackson, N. Keyhani, J. Khl, P. Marrone, L. Morin & A. Stewart, 2012. Have biopesticides come of age? *Trends in Biotechnology*, 30 (5): 250-258.
- Grosch, R., F. Faltin, J. Lottmann, A. Kofoet & G. Berg, 2005. Effectiveness of 3 antagonistic bacterial isolates to control *Rhizoctonia solani* Kühn on lettuce and potato. *Canadian Journal of Microbiology*, 51 (4): 345-353.

- Gupta, S., D. K. Arora & A. K. Srivastava, 1995. Growth promotion of tomato plants by rhizobacteria and imposition of energy stress on *Rhizoctonia solani*. *Soil Biology and Biochemistry*, 27 (8): 1051-1058.
- Gürel, A. & R. Avcıoğlu, 2001. "Bitkilerde Strese Dayanıklılık Fizyolojisi, 308-313". In: Bitki Biyoteknolojisi II, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları (Ed: Özcan, S., E. Gürel & M. Babaoğlu). Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 456 s.
- Hamza, A., A. Mohamed & A. Derbalah, 2016. Unconventional alternatives for control of tomato root rot caused by *Rhizoctonia solani* under greenhouse conditions. *Journal of Plant Protection Research*, 56 (3): 298-305.
- Hang, N.T.T., S.O. Oh, G.H. Kim, J. S. Hur & Y. J. Koh, 2005. *Bacillus subtilis* S1-0210 as a biocontrol agent against *Botrytis cinerea* in strawberries. *The Plant Pathology Journal*, 21 (1): 59-63.
- Hariprasad, P. & S. Umesh, 2007. Induction of systemic resistance in field grown tomato by PGPR against *Xanthomonas vesicatoria* - incitant of bacterial spot. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 37 (3): 460-463.
- Huang, X., N. Zhang, X. Yong, X. Yang & Q. Shen, 2012. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43. *Microbiological Research*, 167 (3): 135-143.
- Ichilevich-Auster, M., B. Sneh, Y. Koltin & I. Barash, 1985. Pathogenicity, host specificity and anastomosis groups of *Rhizoctonia* spp. isolated from soils in Israel. *Phytoparasitica*, 13: 103-112.
- Jambhulkar, P. P., M. Sharma, D. Lakshman & P. Sharma, 2015. "Natural mechanisms of Soil Suppressiveness Against Diseases Caused by *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, and *Phytophthora*, 95-123". In: Organic Amendments and Soil Suppressiveness in Plant Disease Management (Eds. M. Meghvansi & A. Varma). *Soil Biology*, Vol 46. Springer, Cham. 531 pp. Doi: 10.1007/978-3-319-23075-75
- Kang, S. M., R. Radhakrishnan, K. E. Lee, Y. H. You, J. H. Ko, J. H. Kim & I. J. Lee, 2015. Mechanism of plant growth promotion elicited by *Bacillus* sp. LKE15 in oriental melon. *Acta Agriculturae Scandinavica. Section B, Soil and Plant Science*, 65: 637-647. Doi: 10.1080/09064710.2015.1040830
- Keskin, G. & Ö. C. Dölekoğlu, 2004. Domates ve Domates Salçası Durum ve Tahmin Raporu 2004-2005, Yayın No: 123, Eylül 2004, Ankara, 77 s.
- Kloepper, J. W. & M. N Schroth, 1978. "Plant growth promoting rhizobacteria on radishes, 879-882", *Proceedings of the 4th International Conference on Plant pathogenic Bacteria*, Angers, France, 979 pp.
- Kuan, K. B., Othman, R., Rahim, K. A., and Shamsuddin, Z. H. 2016. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilisation of maize under greenhouse conditions. *PLoS ONE* 11: e0152478. Doi: 10.1371/journal.pone.0152478
- Kumar, J., D. Singh, P. Ghosh & A. Kumar, 2017. "Endophytic and Epiphytic Modes of Microbial Interactions and Benefits, 227-253". In: *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives* (Eds. D. Singh, H. Singh & R. Prabha), Springer, Singapore, 657 pp. Doi: 10.1007/978-981-10-5813-4\_12.
- Kumari, B., M. A Mallick, M.K Solanki, A.C. Solanki, A. Hora & W. Guo, 2019. "Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Modern Prospects for Sustainable Agriculture, 109-127". In: *Plant Health Under Biotic Stress* (Eds. R. Ansari & I. Mahmood). Springer, Singapore, 260 pp. Doi: 10.1007/978-981-13-6040-46
- Larkin, R. P. & D. R. Fravel, 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium* wilt of tomato. *Plant Disease*, 82 (9): 1022-1028.
- Liu, K., M. Newman, J. A. McInroy, C. H. Hu & J. W. Kloepper, 2017. Selection and assessment of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of multiple plant diseases. *Phytopathology*, 107: 928-936.
- Liu, J., G. Gilardi, M. Sanna, M. L. Gullino & A. Garibaldi, 2010. Biocontrol of *Fusarium* crown and root rot of tomato and growth-promoting effect of bacteria isolated from recycled substrates of soilless crops. *Phytopathologia Mediterranea*, 49 (2): 163-171.
- Louden, B. C., D. Haarmann & A. M. Lynne, 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 12 (1): 51-53, Doi: 10.1128/jmbe.v12i1.249.
- Mahajan, S. & N. Tuteja, 2005. Cold, salinity and drought stress: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158.
- Matei, G. M., S. Matei, V. Mocanu & S. Dumitru, 2017. Microbiological characterization of suppressive forest soil from Enisala. *Annals of the University of Craiova-Agriculture, Montanology, Cadastre Series*, 46: 341-347.
- Muyolo, N. G., P. E. Lipps & A. F. Schmitthenner, 1993. Reactions of dry bean, lima bean, and soybean cultivars to *Rhizoctonia* root and hypocotyl rot and web blight. *Plant Disease*, 77: 234-238.

- Nautiyal, C. S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170 (1): 265-270, Doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13383.x.
- Naseem, H & A. Bano, 2014. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *Journal of Plant Interactions*, 9 (1): 689-701, Doi: 10.1080/17429145.2014.902125
- Özden, E., 2019. The Effect of Pre-sown Treatments on Seed Viability and Physiology in Tomato. *AGROFOOD - International Conference on Agronomy and Food Science and Technology (20-21 Haziran 2019, İstanbul)*, 394-401.
- Panth, M., S. C. Hassler & F. Baysal-Gurel, 2020. Methods for management of soilborne diseases in crop production. *Agriculture*, 10 (425): 1-16.
- Parajuli, M., M. Panth, A. Gonzalez, K. M. Adesso, A. Witcher, T. Simmons & F. Baysal-Gurel, 2022. Cover crop usage for the sustainable management of soilborne diseases in woody ornamental nursery production system. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 44 (3): 432-452.
- Pavlovici, M., R. Konrad, A. N. Iwobi, A. Sing, U. Busch & I. A. Huber, 2012. A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters*, 328: 46-53. Doi: 10.1111/J.1574-6968.2011.02479.X
- Raaijmakers, J. M. & M. Mazzola, 2012. Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 50: 403-424.
- Radhakrishnan, R., A. Hashem & E. F. Abd Allah, 2017. *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Frontiers in Physiology*, 8: 667. Doi: 10.3389/fphys.2017.00667
- Rani, A., M. N. Bhat & B. P. Singh, 2007. Effect of phylloplane fungi on potato late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *Journal of Mycology and Plant Pathology*, 37: 413-417.
- Ravensberg, W. J., 2011. A roadmap to The Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods. Dordrecht: Springer Science & Business Media, 386 pp.
- Reynolds, H. L., A. Packer, J. D. Bever & K. Clay, 2003. Grassroots ecology: plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology*, 84: 2281-2291.
- Sansinenea, E. & A. Ortiz, 2011. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. *Biotechnology Letters*, 33: 1523-1538.
- Safdarpour, F. & G. Khodakaramian, 2019. Assessment of antagonistic and plant growth promoting activities of tomato endophytic bacteria in challenging with *Verticillium dahliae* under *in-vitro* and *in-vivo* conditions. *Biological Journal of Microorganism*, 7 (28): 77-90.
- Schaad, N. W., J. B. Jones & W. Chun, 2001. Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society (APS Press). 3rd Edition, St. Paul, 373 pp.
- Schroth, M. N. & J. G. Hancock, 1982. Disease-suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science*, 216: 1376-1381.
- Shafi, J., H. Tian, & M. Ji, 2017. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31: 446-459.
- Shafique, H. A., V. Sultana, S. Ehteshamul-Haque & M. Athar, 2016. Management of soil-borne diseases of organic vegetables. *Journal of Plant Protection Research*, 56: 221-230.
- Sharon, M., S. Freeman, S. Kuninaga & B. Sneh 2007. Genetic diversity, anastomosis groups and virulence of *Rhizoctonia* spp. from strawberry. *European Journal of Plant Pathology*, 117: 247-265.
- Stockwell, V. O. & J. P. Stack, 2007. Using *Pseudomonas* spp. for integrated biological control. *Phytopathology*, 97: 244-249.
- Su, X., S. Wu, L. Liu, G. Lu, H. Liu, X. Jin, Y. Wang, H. Guo, C. Wang & H. Cheng, 2021. Potential antagonistic bacteria against *Verticillium dahliae* isolated from artificially infested nursery. *Cells*, 10 (12): 3588.
- Teniz, N., 2020. Van'da Yetiştirilen Domates, Biber ve Kavun Bitkilerinden İzole Edilen *Fusarium* spp. ve *Rhizoctonia* spp.'nin Teşhisi ve Patojeniteleri. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi, Van, 61 s.
- Townsend, G. K. & J. W. Heuberger, 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *The Plant Disease Reporter*, 27: 340-343.
- Tuncer, G. & G. Erdiller, 1990. The identification of *Rhizoctonia solani* Kühn anastomosis groups isolated from potato and some other crops in Central Anatolia. *Journal of Turkish Phytopathology*, 19 (2): 89-93.



- Uysal, A., Ş. Kurt, S. Soylu, E. M. Soylu & M. Kara, 2019. Yaprığı yenen sebzelerdeki mikroorganizma türlerinin MALDI-TOF MS (Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi) Tekniği kullanılarak tanımlanması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 29: 595-603. Doi: 10.29133/YYUTBD.627850
- Vejan, P., R. Abdullah, T. Khadiran, S. Ismail & A. Nasrulhaq Boyce, 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-a review. *Molecules*, 21 (5): 573. Doi: 10.3390/molecules21050573.
- Weller, D. M., J. M. Raaijmakers, B. B. M. Gardener & L. S. Thomashow, 2002. Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 40: 309-348.
- Widawati, S & Suliasih, 2019. Potency of nitrogen fixing bacteria isolated from POME disposal pond and their effect on the growth of *Caesalpinia pulcherrima* (L) Sw, 1-10", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 308 (2019). Doi: 10.1088/1755-1315/308/1/012043.
- Wilson, B. R., A. R. Bogdan, M. Miyazawa, K. Hashimoto & Y. Tsuji, 2016. Siderophores in iron metabolism: From mechanism to therapy potential. *Trends in Molecular Medicine*, 22: 1077-1090.
- Yıldırım, E., 2017. Samsun İli Örtüaltı Sebze Yetiştirilen Alanlarda *Rhizoctonia* spp.'Ne Ait Fungusların Anastomosis Gruplarının, Karakteristik Özelliklerinin ve Patojenitelerinin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi, Samsun, 88 s.
- Yıldız, A. & M. T. Döken, 2002. Anastomosis group determination of *Rhizoctonia solani* Kühn (telemorph: *Thanatephorus cucumeris*) isolates from tomatoes grown in Aydın, Turkey and their disease reaction on various tomato cultivars. *Journal of Phytopathology*, 150 (10): 526-528.
- Yucel, S., C. Can, M. Yurtmen, R. Cetinkaya-Yildiz & Y. Aysan, 2008. Tomato pathology in Turkey. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 2 (1): 38-47.
- Zimina, M. I., S. A. Sukhih, O. O. Babich, S. Noskova, A. A. Abrashina & A. Y. Prosekov, 2016. Investigating antibiotic activity of the genus *Bacillus* strains and properties of their bacteriocins in order to develop next-generation pharmaceuticals. *Foods and Raw Materials*, 4 (2): 92-100.
- Zohora, U. S., T. Ano & M. S. Rahman, 2016. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* K1 by iturin A producer *Bacillus subtilis* RB14 seed treatment in tomato plants. *Advances in Microbiology*, 6 (6): 424- 431.