

Limon'da (*Citrus limon* (L.) Burm. f.) Hasat Sonrası Hastalıklara Karşı Antifungal Aktiviteye Sahip Antagonist Bakterilerin Taranması

Ziraat Fakültesi Dergisi,
Cilt 17, Sayı 2,
Sayfa 139-147, 2022

Nasibe TEKİNER AYDIN*¹, Elif TOZLU², Recep KOTAN²

Journal of the Faculty of Agriculture
Volume 17, Issue 2,
Page 139-147, 2022

Öz: Bu çalışma, limon meyvesinde hasat sonrası kayıplara neden olan farklı fungal etmenlere karşı biyolojik mücadele etmeni olabilecek bakterileri belirlemek amacıyla in vitro koşullarda yürütülmüştür. Bu amaçla, hastalıklı limon meyvelerinden izolasyonlar yapılmış, izolasyonlar sonucu üç farklı cins ait fungus türü izole edilmiş, patojenite testleri yapılmış ve moleküler tanı sonuçlarına göre bu izolatların *Alternaria alternata* (ET 119), *Colletotrichum gleosporoides* (ET 120) ve *Penicillium chrysogenum* (ET 121) olduğu tespit edilmiştir. Patojen fungus izolatlarına karşı sekiz farklı cins ait otuz altı adet antagonist bakteri izolatının yüzde engelleme oranları ikili kültür testi ile tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre üç patojen izolata karşı en yüksek etki TV 53D (%67.46: *Brevibacillus choshinensis*) izolatında saptanırken, bu izolati sırasıyla TV 16F (%66.27: *Bacillus subtilis*) ve FDG 37 (%62.30: *Pseudomonas fluorescens*) izolatları takip etmiştir. En etkili sonuç alınan antagonist bakteri izolatları ile gelecekte kontrollü şartlarda daha detaylı çalışmaların yürütülmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antifungal aktivite, *Bacillus subtilis*, antagonist bakteri, biyolojik mücadele, *Pseudomonas fluorescens*

Screening of Antagonist Bacteria with Antifungal Activity Against Postharvest Diseases on Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.)

Abstract: This study was carried out in vitro conditions to determine the bacteria biological control agents of against different fungal agents causing postharvest losses in lemon fruit. For this purpose, isolations were made from diseased lemon fruits, as a result of isolations three different fungal species were isolated, pathogenicity tests were carried out and according to the results of molecular diagnosis, these isolates were found to be *Alternaria alternata* (ET 119), *Colletotrichum gleosporoides* (ET 120) and *Penicillium chrysogenum* (ET 121). Percent inhibition rate of thirty-six antagonist bacterial isolates belonging to eight different genera against pathogenic fungus isolates was determined by dual culture test according to a randomized plot experiment design with 3 replications. According to the results obtained, the highest effect against the three pathogen isolates was detected in TV 53D (67.46%: *Brevibacillus choshinensis*), this isolate was followed by TV 16F (66.27%: *Bacillus subtilis*) and FDG 37 (62.30%: *Pseudomonas fluorescens*) isolates, respectively. More detailed studies should be carried out in the future under controlled conditions with the most effective antagonist bacterial isolates.

Keywords: Antifungal activity, *Bacillus subtilis*, antagonist bacteria, biological control, *Pseudomonas fluorescens*

*Sorumlu yazar (Corresponding author)
nasibetekiner@artvin.edu.tr

Alınış (Received): 20/09/2022
Kabul (Accepted): 07/10/2022

¹Artvin Çoruh Üniversitesi, Ali Nihat Gökyiğit Botanik Bahçesi Uygulama ve Araştırma Merkezi, Artvin, Türkiye.

²Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Erzurum, Türkiye.

1. Giriş

Turunçgiller, dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan önemli meyvelerdir (Liu vd., 2012). Ana vatanı Çin, Güneydoğu Asya ve Hindistan olan turunçgillerin subtropik iklimlere sahip 137'den fazla ülkede yetiştiriciliği

yapılmaktadır (Papoutsis vd., 2019). FAO verilerine göre, dünyada yaklaşık 150 milyon ton dolayında gerçekleştirilen turunçgil üretiminin %8'ini oluşturulan limon (Anonim, 2020), yıl boyunca büyümeyi sürdüren, kışın yapraklarını dökmeyen bir ağaç türüdür (Karahocagil

vd., 2003). Limon meyvesi, sahip olduğu besin içerikleri ile insan sağlığında önemli bir yere sahip olup doğrudan veya dolaylı olarak gıda ve kozmetik sektöründe kullanılmaktadır (Akgün, 2006). Limon, hasat öncesinden tüketiciye ulaşana kadar birçok abiyotik ve biyotik faktörlerden kaynaklı kalite ve kantite yönünden kayıplar ile karşı karşıya kalmaktadır (Benli, 2003). Bu biyotik faktörlerden dolayı en fazla kayıp ise *Penicillium spp.* (mavi ve yeşil çürüklük), *Geotrichum citri-aurantii* (ekşi çürüklük), *Rhizopus stolonifer* (yumuşak çürüklük), *Aspergillus niger* (*Aspergillus* çürüklüğü), *Alternaria alternata* (*Alternaria* siyah çürüklük), *Colletotrichum gloeosporioides* (antraknoz), *Botrytis cinerea* (Gri küf), *Lasiodiplodia theobromae* (kök ucu çürüklüğü), *Phytophthora spp.* (Kahverengi çürüklük) gibi fungal hastalık etmenlerinden kaynaklanmaktadır (Eckert ve Eaks, 1989; Brown ve Eckert, 2000; Barkai-Golan, 2001; Akimitsu vd., 2003; Smilanick vd., 2006; Palou, 2014). Bu kayıpları azaltmak için sentetik fungusitler (imazalil, thiabendazole, pyrimethanil, sodium ortho-phenylphenate, fludioxonil, azoxystrobin) kullanılsa da (Eckert, 1989; Ismail ve Zhang, 2004; Kinay vd., 2007; Mohammadi vd., 2017) fungusitlerin meyve üzerinde kalıntı, patojende direnç gelişimi ve zamanla ilacın etkisinin azalması, toprağa ve çevreye zarar vermesi, hayvanların ve insanların sağlığına toksik etki meydana getirmesi gibi birçok olumsuz etkisi bulunmaktadır (Droby vd., 2016; Ruffo Roberto vd., 2019). Sayılan olumsuzluklar mücadelede alternatif olarak çevre dostu mücadele yöntemlerinin geliştirilmesini ihtiyaç haline getirmiştir (Palou vd., 2008; Schirra vd., 2011; Romanazzi vd., 2017). Hasat sonrası patojenlerin neden olduğu kayıpları azaltmaya yönelik farklı yaklaşımlar arasında biyolojik mücadele etmeni mikroorganizmaların kullanılmasının (Liu vd., 2013; Ab Rahman vd., 2018; Dukare vd., 2011, 2019) fungusitlere göre kalıntı bırakmaması, çevre dostu, kolay ve daha güvenli uygulanabilmesi gibi avantajlara sahip olduğu çalışmalarla ortaya konulmuştur (Bonaterra vd., 2012). Son yıllarda da, bakteriler, funguslar ve mayalar gibi birçok mikroorganizma hasat sonrası hastalıkları önlemek için biyolojik mücadele etmeni olarak tanımlanmıştır (Janisiewicz ve Korsten, 2002; Karabulut vd., 2004; Kotan vd., 2009; Liu vd., 2011; Ketabchi vd., 2012; Elshafie vd., 2012; El-Mabrok vd., 2012; Forner vd., 2013; Mohammadi, 2014; Wang vd., 2018). Bu çalışmada ülkemiz topraklarından izole edilmiş, farklı bitki hastalık ve zararlılarına karşı etkililikleri test edilmiş, epifitik veya endofitik bakterilerin limon meyvesinde hasat sonrası hastalık oluşturan üç farklı fungus izolata karşı *in vitro* koşulda etkililiğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Hastalıklı bitki materyalleri ve biyolojik mücadele etmeni bakteriler

Mersin, Merkez ilçesi meyve halinden alınan hastalıklı limon (*Citrus limon*) meyveleri çalışmanın bitkisel

materyalini oluşturmuştur. Ayrıca, çalışmada Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Bitki Klinik Laboratuvarı Mikroorganizma Kültür Koleksiyonu'nda muhafaza edilen ve farklı çalışmalarda antifungal etkileri farklı hastalıklara karşı test edilmiş olan antagonist bakteri izolatları da canlı materyal olarak kullanılmıştır (Tablo 1).

2.2. Patojenlerin izolasyonu

Hastalıklı limon meyveleri buz kutusu içerisinde laboratuvara getirilmiş (Şekil 1) ve laminar flow kabinde %70'lik etil alkol ile 3 dakika (dk) yüzeysel sterilizasyona tabi tutulmuştur. Hastalıklı ve sağlıklı dokuyu içerecek şekilde alınan parçalar Patates Dextroz Agar (PDA; Difco) besiyeri içeren petrilere (90 mm) aktarılmıştır. Petri kapları 28 °C'de 5 gün boyunca inkübe edilmiş ve gelişen funguslardan saflaştırma işlemi yapılmıştır. Saflaştırılan fungus örnekleri PDA içeren eğik agar ortamına alınarak +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

2.3. Patojenite testi

PDA besi yerinde geliştirilen saf fungus kolonilerinden cork borer yardımıyla alınan 6 mm misel disk parçaları %70 etil alkol ile 3 dk yüzeysel sterilizasyona tabi tutulmuş olan hastalısız limon meyvelerinin yüzeyinde açılan yaraya yerleştirilmiştir. Daha sonra uygulama yapılan limonların yara yüzeyinin etrafı parafilm ile sarılarak tabanına steril nemli kurutma kağıdı serilen plastik kutulara (7 l) yerleştirilmiş, oda sıcaklığında 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamda 15 gün boyunca simptom oluşumu takip edilmiştir. Kontrol olarak ise steril PDA diski yara yerine yerleştirilmiş ve parafilm ile sarılmıştır. Çalışma, tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Limon meyveleri yüzeyindeki bozulma ve fungus gelişimi pozitif olarak değerlendirilmiş ve bu örneklerden reizolasyon yapılarak Koch postulatları tamamlanmıştır.

2.4. Fungusların moleküler tanılanması

Patojen fungusların tür düzeyinde tanımlarını yapabilmek için moleküler tanı yönteminden faydalanılmıştır. PDA besi yerine ekilen funguslar 7 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonrasında bir öze dolusu fungus miseli alınarak PureLink® Genomic DNA Mini Kit ile ürün talimatları doğrultusunda genomik DNA izolasyonu yapılmıştır. Elde edilen DNA'ların saflığı açısından %1'lik agaroz jel'de 75 V'da 45 dk boyunca yürütülerek değerlendirilmiş ve varlığı gösterilmiştir. Patojen fungusların tanımlaması için 18S rDNA'nın korunmuş ITS bölgesi ITS1-ITS4 primerleri kullanılarak çoğaltılmıştır (White vd., 1990). Toplam reaksiyon hacmi 50 µl olacak şekilde (Saf su 32.5 µl; Buffer 5 µl; MgCl₂ 3 µl; dNTP 3 µl; Primer (F) 2 µl; Primer (R) 2 µl; DNA 2 µl; Taq DNA Polimeraz 0.5 µl) 0,2 ml'lik Polimeraz Zincir Reaksiyon (PZR) tüpüne konulmuş ve belirtilen şartlarda (95 °C 2 dk; 95 °C 30 sn; 56 °C 1 dk; 72 °C 1 dk; 72 °C 10 dk; 35 döngü) çoğaltım yapılmıştır. Amplifiye edilmiş PZR ürünü sekans için ticari bir firma aracılığıyla DNA dizi analizi

yaptırılmıştır. Analiz sonucu BLASTN 2.2.26+ programı kullanılarak GenBank'ta bulunan ribozomal sekanslar ile karşılaştırılarak değerlendirilmiş ve sekans sonucu GenBank'ta depolanmıştır.

2.5. İkili kültür testi

Biyolojik mücadele etmenlerinin *in vitro* koşullarda etkinlikleri Tozlu vd. (2018)'e göre belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, 20 ml PDA besiyeri içeren (90 mm) petri kabının tam ortasına 6 mm çapında patojen fungusların saf kültürlerinden alınan fungal disk yerleştirilmiş, etrafına ise steril swap ile antagonist bakteri kültürleri çizilmiştir. Petri kapları 27°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sadece patojen

fungusların uygulandığı kontrol petrilerinde patojen miselleri tüm petri yüzeyini kapladığında fungusun radyal gelişimi mm olarak ölçülerek kaydedilmiştir. Çalışma tesadüf parselleri deneme deseninde 3 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve patojen fungus kolonisinin gelişiminin yüzde engellenme oranı (YEO) Wang vd. (2012)'in formülüne (1) göre hesaplanmıştır.

$$YEO (\%) = (C-T) \times 100 / (C-6) \quad (1)$$

C: Kontrol petrisi patojenin çapı (mm), T: Bakteri uygulamasında patojenin koloni çapı (mm), 6: Patojen disk çapı (mm).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan biyolojik mücadele etmeni bakterilerin mikrobiyal identifikasyon sistemi (MIS) ve moleküler tanı sonuçları

İzolat	MIS Tanı	Benzerlik İndeksi	Moleküler Tanı	Erişim No	Literatür
KBA 10	<i>Bacillus megaterium</i>	0.490	-	-	Karagöz ve Kotan, 2010
M 3	<i>Bacillus megaterium</i>	0.741	-	-	Kotan vd., 2009
TV 3D	<i>Bacillus megaterium</i>	0.563	-	-	Ekinci vd., 2014
TV 6D	<i>Bacillus megaterium</i>	0.750	-	-	Erman vd., 2010
TV 20E	<i>Bacillus megaterium</i>	0.519	-	-	Aktaş, 2015
TV 13C	<i>Bacillus megaterium</i>	0.595	-	-	Erman vd., 2010
TV 49A	<i>Bacillus megaterium</i>	0.577	<i>Bacillus pumilus</i>	MK224502	Tekiner vd., 2019a
TV 87A	<i>Bacillus megaterium</i>	0.467	<i>Bacillus amyloliquafaciens</i>	MN507862	Erman vd., 2010
TV 16F	<i>Bacillus subtilis</i>	0.831	-	-	Erman vd., 2010
OSU 142	<i>Bacillus subtilis</i>	0.450	-	-	Karakurt vd., 2011
TV 6F	<i>Bacillus subtilis</i>	0.831	-	-	Erman vd., 2010
TV12H	<i>Bacillus subtilis</i>	0.744	<i>Bacillus amyloliquafaciens</i>	KY773617	Aktaş, 2015
TV 13B	<i>Bacillus subtilis</i>	0.687	-	-	Gökçe ve Kotan, 2016
TV 17C	<i>Bacillus subtilis</i>	0.677	<i>Bacillus amyloliquafaciens</i>	JQ765436	Ekinci vd., 2014
BRTB	<i>Bacillus subtilis</i>	0.663	-	-	Bu çalışmada
İK 39	<i>Bacillus pumilus</i>	0.610	-	-	Dadaşoğlu ve Şahin 2010
TV 67C	<i>Bacillus pumilus</i>	0.630	-	-	Erman vd., 2010
TV 73A	<i>Bacillus pumilus</i>	0.650	-	-	Erman vd., 2010
TV 30D	<i>Bacillus cereus</i>	0.220	-	-	Aktaş, 2015
TV 85D	<i>Bacillus cereus</i>	0.114	<i>Bacillus velezensis</i>	MK224503	Erman vd., 2010
IA 1	<i>Bacillus cereus</i>	0.080	-	-	Bu çalışmada
Jumbo A	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0.465	<i>Bacillus subtilis</i>	MN493121	Şahinoglu, 2019
TV 15B	<i>Bacillus atrophaeus</i>	0.468	-	-	Mohammadi, 2018
PM 18	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0.205	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	MN493122	Mohammadi, 2018
İK 37	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	0.890	-	-	Dadaşoğlu ve Şahin, 2010
TV 11D	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.711	-	-	Erman vd., 2010
FDG 37	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.222	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aureofaciens</i>	NR114473	Güneş vd., 2015
TV 42A	<i>Pseudomonas putida</i>	0.113	-	-	Erman vd., 2010
RK 84	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.718	-	-	Ekinci vd., 2015
RK 92	<i>Pantoea agglomerans</i>	0.889	-	-	Ekinci vd., 2015
TV 53D	<i>Brevibacillus choshinensis</i>	0.689	-	-	Erman vd., 2010
FD 1	<i>Brevibacillus brevis</i>	0.625	<i>Bacillus subtilis</i>	-	Tozlu vd., 2011
T 26	<i>Paenibacillus macerans</i>	0.665	-	-	Tekiner vd., 2019a
A 16	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0.786	-	-	Mohammadi vd., 2017
TV 14C	<i>Kocuria rosea</i>	0.695	-	-	Mohammadi, 2018
TV 113C	<i>Kluyvera cryocrescens</i>	0.688	-	-	Tekiner vd., 2019a

ET 119



ET 120



ET 121



Şekil 1. İzolasyon yapılan hastalıklı limon meyveleri

2.6. İstatistiki analiz

Çalışma sonucu elde edilen veriler JMP 5.0.1 paket istatistik analiz programı kullanılarak analiz yapılmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar LS Means Student's testine göre $P < 0.01$ önem seviyesinde değerlendirilmiştir.

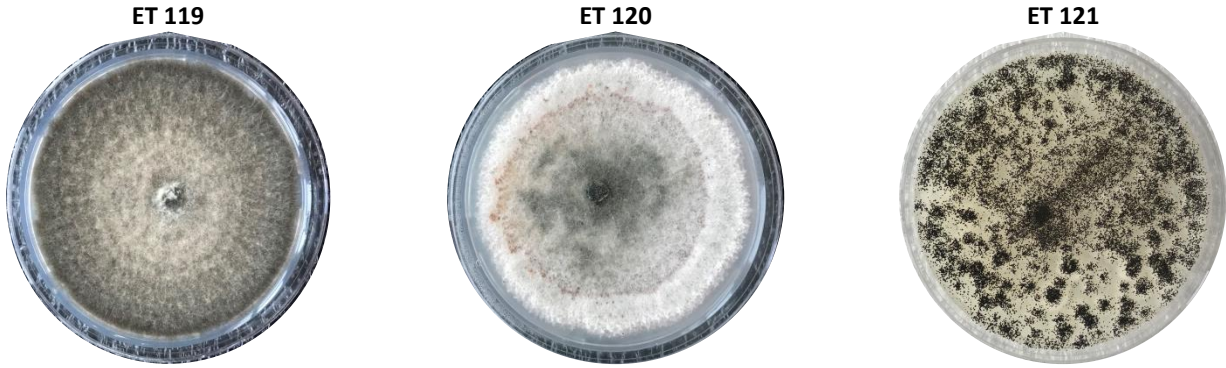
3. Bulgular

Hastalıklı limon meyvelerinden yapılan izolasyon sonucu elde edilen üç farklı fungusun patojenite testleri Şekil 2'de ve patojenite test sonuçları Şekil 3'te verilmiştir.

Elde edilen patojen fungusların moleküler tanıları yapılmış, sekans sonuçları GenBank'a yüklenerek erişim numaraları alınmıştır (Tablo 2).

In vitro koşullarda yürütülen çalışmada 23 adet *Bacillus*, 5 adet *Pseudomonas*, 2 adet *Pantoea*, 2 adet *Brevibacillus*, 1 adet *Paenibacillus*, 1 adet *Agrobacterium*, 1 adet *Kocuria* ve 1 adet *Kluyvera* cinsine ait bakteriyel izolat test edilmiştir. İkili kültür test sonucunda bütün izolatların düşük veya yüksek düzeyde patojen fungusların gelişmelerini engellediği tespit edilmiştir. Üç patojen fungus için de en etkili sonuç alınan TV 53D (*B. choshinensis*; %67.46) antagonistbakteri izolatını sırasıyla TV 16F (*B. subtilis*; %66.27) ve FDG 37 (*P. fluorescens*; %62.30:) izolatları takip etmiş, en düşük etki ise TV 3D (*B. megaterium*; %18.85) antagonist bakteri izolatından elde edilmiştir (Tablo 3).

En etkili bulunan ilk üç antagonist bakteri izolatının petri görünümü de Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 2. İzolasyon sonucu elde edilen patojen funguslar.



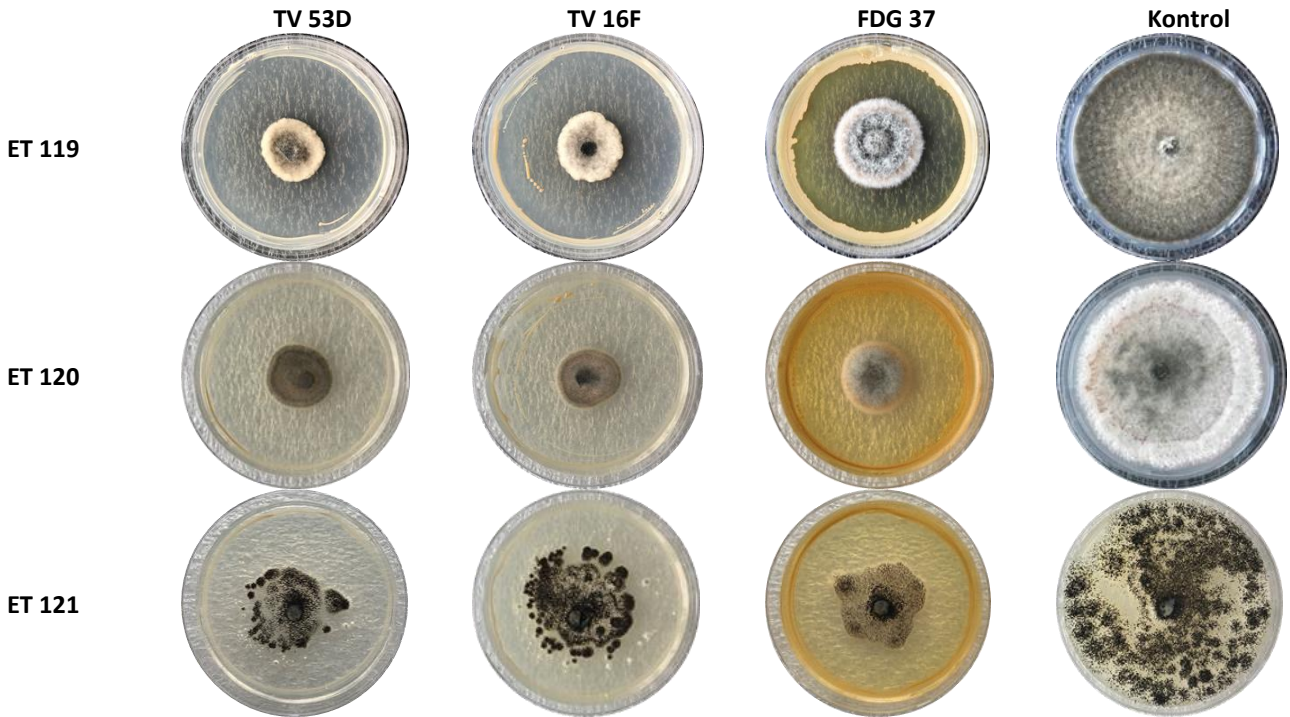
Şekil 3. Fungusların patojenite test sonuçlarına ait görüntüler.

Tablo 2. Patojen funguslara ait moleküler tanı sonuçları, tanı yüzdeleri ve erişim numaraları

İzolat	ITS Tanı Sonuçları	Baz Sayısı	Benzerlik (%)	GenBank Erişim No
ET 119	<i>Alternaria alternata</i>	589 bp	99.13	MZ724662
ET 120	<i>Colletotrichum gleosporoides</i>	592 bp	99.14	MZ724663
ET 121	<i>Penicillium chrysogenum</i>	578 bp	93.03	MZ724680

Tablo 3. Patojen funguslara karşı kullanılan antagonist bakteri izolatlarının yüzde engelleme oranları

İzolatlar	YEO (%)	İzolatlar	YEO (%)	İzolatlar	YEO (%)
TV 53D	67.46 A	TV 6F	52.18 BCDE	İK 39	28.77 GHI
TV 16F	66.27 A	TV 13C	50.59 BCDE	KBA 10	27.78 GHI
FDG 37	62.30 AB	TV 17C	49.80 BCDE	TV 30D	27.58 GHI
TV 85D	59.92 AB	FD 1	49.40 BCDE	İK 37	24.60 HI
TV 42A	58.33 AB	Jumbo A	44.24 CDEF	M 3	23.22 HI
A 16	57.74 ABC	TV 73A	41.07 DEFG	T 26	22.42 HI
TV 13B	56.15 ABC	TV 20E	40.08 DEFG	TV 6D	22.22 HI
TV 14C	55.95 ABC	OSU 142	38.69 EFG	IA 1	22.22 HI
TV 15B	55.35 ABC	TV 113C	34.92 FGH	TV 11D	19.05 I
PM 18	55.16 ABC	BRTB	34.52 FGH	TV 3D	18.85 I
TV 87A	55.16 ABC	RK 84	34.32 FGH	ET 119	0.00 J
TV 67C	54.96 ABC	TV 49A	30.36 GHI	ET 120	0.00 J
TV12H	53.77 ABCD	RK 92	29.37 GHI	ET 121	0.00 J

**Şekil 4.** Antifungal aktivite test sonucu en etkili bulunan antagonist bakteri izolatlarının petri görünümü

4. Tartışma ve Sonuç

Bitki patojenlerinin gelişimini baskılayabilen antagonist özelliğe sahip mikroorganizmaların hastalıklarla mücadelede kullanılması, kimyasal kullanımını azaltmaya yönelik en umut verici mücadele yöntemlerinden birisidir (Heimpel ve Mills, 2017). Mikroorganizmalar içerisinde yer alan bakteriler, hızlı çoğalmaları ve kolonize olmaları ile ekstrem koşullara dayanabilmeleri gibi bazı özelliklerinden dolayı hastalıkları baskı altına almaktadırlar (Köhl vd., 2019). Bu bakteriler arasında *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Streptomyces* ve *Pantoea* cinslerine ait bazı türler biyolojik mücadele etmenileri olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Morales-Cedeño vd., 2021).

Antagonist olarak en fazla kullanılan *Bacillus*'a ait türlerin de her yerde bulunabilmeleri, yüksek rekabet yeteneğine

sahip olabilmeleri, endospor oluşturabilmeleri, geniş spektrumlu olmaları, antimikrobiyal bileşik ve litik enzimler salgılayarak dayanıklılık sistemini uyarabilmeleri gibi üstün özelliklere sahip oldukları farklı araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Leelasuphakul vd., 2006; Ongena ve Jacques, 2008; Senthilkumar vd., 2009; Kumar vd., 2012). Bu çalışmada kullanılan ve antifungal etkisi belirlenmeye çalışılan *Bacillus* türlerine ait izolatların daha önce yapılan farklı çalışmalarda *A. alternata*, *C. gleosporoides*, *Botrytis cinerea*, *Coniella granati*, *Penicillium digitatum*, *Fusarium sambucinum*, *F. oxysporum*, *F. culmorum* gibi funguslara karşı etkili oldukları kaydedilmiştir (Kotan vd., 2009; Kotan vd., 2011; Mohammadi vd., 2017; Tekiner vd., 2019c; Tekiner vd., 2020). Limon meyvesinde yürütülen bir çalışmada depo çürüklüğüne neden olan *P. digitatum*'un biyolojik mücadelesinde *Bacillus* cinsine ait farklı türlerin

(*B. subtilis*, *B. cereus*, *B. pumilus* ve *B. megaterium*) litik enzim üreterek (kitinaz, glukonaz ve proteaz) misel gelişimini ve spor çimlenmesini baskıladıkları kaydedilmiştir (Mohammadi vd., 2017). Bu çalışmada da *Bacillus*'a ait *B. subtilis* (TV 16F; %66.27) izolatı limon meyvesindeki üç patojenin gelişimini yüksek düzeyde engellemiştir.

Tarımsal üretimde çok sayıda *Brevibacillus* türü'nün biyolojik mücadele etmeni olarak kullanıldığı ve bazı türlerinin oldukça önemli olduğu belirtilmektedir (Zhen vd., 2011; Panda, 2014). *Brevibacillus* türlerinin hastalık ve zararlıların mücadelesinde kullanılabilme potansiyellerinin sahip oldukları çeşitli metabolitleri üretmelerinden kaynaklandığı bilinmektedir (Sunita vd., 2010). Aktif metabolitlerin bir kısmı, çoklu enzim katalizli sistemler tarafından ribozomsuz olarak sentezlenen fungisidal veya fungistatik peptitlerdir (Zhen vd., 2011). Chandel vd. (2010) domateste solgunluğa sebep olan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'ye karşı *B. brevis* izolatının hem *in vitro* hem de *in vivo*'da etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yine, *B. brevis*'in farklı izolatlarının birçok fungal patojene karşı başarılı bir şekilde kullanıldığı farklı araştırmacılar tarafından kaydedilmiştir (Edwards vd., 1994; Seddon vd., 2000; Edwards ve Seddon, 2001; Schmitt ve Seddon, 2005). Bu çalışmada da en etkili bulunan *B. choshinensis* (TV 53D; %67.46 izolatı aynı zamanda Tekiner vd. (2019a) tarafından domates bitkisinde *A. alternata*'ya karşı %83.33 oranında etkili bulunmuş, sonuçların limonda yapılan bu çalışma ile de uyumlu olduğu da görülmüştür. Böylece, *Brevibacillus*'a ait türlerin farklı fungal patojenlere karşı biyolojik mücadele etmeni olarak ümitvar olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışmada diğer bir etkili sonuç *Pseudomans* cinsine ait *P. fluorescens* (FDG 37; %62.30) izolatından elde edilmiştir. Bu cinse ait bakteriler, toprak, su ve bitki yüzey ortamlarına hızlı adapte olmakta, bitki hastalıklarını engellemede antibiyotik, litik enzimler ve sekonder metabolitler üretmektedirler (Erdoğan ve Benlioğlu, 2010; Güneş vd., 2015; Tozlu, 2016). *P. fluorescens* Migula 1895 izolatının ürettiği olduğu siderofor yoluyla *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*'nin biyolojik mücadelesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Elsherif ve Grossman, 1994). *P. fluorescens* türüne ait farklı izolatlar çeşitli fitopatojenlerin mücadelesinde kullanılabilmelerinin yanında, bir bitki büyüme düzenleyicisi olarak bitki gelişimini destekleyici rolleri de bulunmaktadır (Couillerot vd., 2009). Biyolojik mücadele etmeni olarak kullanılan bu bakteri cinsleri, buldukları ortama gösterdikleri uyum ve bitki gelişimi üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle ticari olarak da üretilmeye başlanmıştır (Özaktan vd., 2010).

Sonuç olarak, limon meyvesinde hasat sonrası görülen *A. alternata*, *C. gleosporoides* ve *P. chrysogenum* fungal patojenlere karşı etkili bulunan antagonist bakteri

izolatları ile literatürde yer alan bilgilerin birbiriyle uyumlu olduğu belirlenmiştir. Antagonist bakteri izolatlarının patojenlerin gelişimini engelleme yüzdelerindeki farklılığın ise antagonistin rekabet yeteneğinden, antibiyotik benzeri madde/litik enzim salgılamasından ya da konukçu bitkinin sistemik dayanıklılığını teşvik etmesi gibi özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Biyolojik mücadele çalışmalarının ilk basamağı olan ikili kültür testi depo koşullarında görülebilen farklı fungal hastalık etmenlerine karşı etkili olabilecek antagonist bakterilerin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir. Daha sonraki aşamalarda elde edilmiş fungusların limon meyveleri ya da turuncgiller üzerinde farklı depo koşullarında tek tek veya kombinasyonlar halinde denenmesinin planlanması ve etkili bulunan antagonist bakteri izolatlarının biyopreparat olarak ürüne dönüştürülebilme potansiyellerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır.

Yazar Katkı Oranları

Yazarlar bu çalışmanın hazırlanmasında eşit derecede katkı sunmuşlardır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir çıkar çatışması beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Etik Kurul Onayı

Bu çalışmanın yazarları olarak herhangi bir etik kurul onay bilgileri beyanımız bulunmadığını bildiririz.

Kaynakça

- Ab Rahman, S. F. S., Singh, E., Pieterse, C. M., & Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, 267, 102-111.
- Akgün, C. (2006). Turuncgiller sektör profili. Dış Ticaret Servisi Uygulama Şubesi, Türkiye. Erişim adresi <http://20684676Turuncgillersektorprofil.html>.
- Akimitsu, K., Peever, T. L., & Timmer, L. W. (2003). Molecular, ecological and evolutionary approaches to understanding *Alternaria* diseases of citrus. *Molecular Plant Pathology*, 4(6), 435-446.
- Aktaş, S. (2015). Domates öz nekrozuna neden olan etmenlere karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Anonim, (2020). Tarım ve Orman Bakanlığı, Limon. Erişim adresi <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepege>.
- Barkai-Golan, R. (2001). *Postharvest diseases of fruits and vegetables: Development and control*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.

- Benli, M. (2003). Hasat sonrası fungal hastalıklarla kimyasal ve biyolojik mücadele. *Orlab On Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 01(08), 1-25.
- Bonaterre, A., Badosa, E., Cabrefiga, J., Francés, J., & Montesinos, E. (2012). Prospects and limitations of microbial pesticides for control of bacterial and fungal pomelo tree diseases. *Trees*, 26(1), 215-226.
- Brown, G. E., & Eckert, J. W. (2000). Postharvest Fungal Diseases, in: Timmer LW, Garnsey SM, Graham JH (eds.), *Compendium of Citrus Diseases* (2nd) (pp. 37-45). APS Press, Saint Paul, Minnesota.
- Chandel, S., Allan, E. J., & Woodward, S. (2010). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on tomato by *Brevibacillus brevis*. *Journal of phytopathology*, 158(7-8), 470-478.
- Couillerot, O., Prigent-Combaret, C., Caballero-Mellado, J., & Moënne-Loccoz, Y. (2009). *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent *Pseudomonads* as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology*, 48(5), 505-512.
- Dadaşoğlu, F., & Şahin, F. (2010). Bakterilerin yüzük keleşleri *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera: Lasiocampidae)'nın biyolojik mücadelesinde kullanımı. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(2), 97-104.
- Droby, S., Wisniewski, M., Teixidó, N., Spadaro, D., & Jijakli, M. H. (2016). The science, development, and commercialization of postharvest biocontrol products. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 22-29.
- Dukare, A. S., Prasanna, R., Dubey, S. C., Chaudhary, V., Nain, L., Singh, R., & Saxena, A. K. (2011). Evaluating novel microbe amended composts as biocontrol agents in tomato. *Crop Protection*, 30, 436-442.
- Dukare, A. S., Paul, S., Nambi, V. E., Gupta, R. K., Singh, R., Sharma, K. & Vishwakarma, R. K. (2019). Exploitation of microbial antagonists for the control of postharvest diseases of fruits: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(9), 1498-513.
- Eckert, J. (1989). Recent developments in the chemical control of postharvest diseases. *Sympos Tropical Fruit Int. Trade*, 269, 477-494.
- Eckert, J. W., & Eaks, I. L. (1989). Postharvest disorders and diseases of citrus fruit, in: Reuter W, Calavan EC, Carman GE, Berkeley CA (Eds.), *The Citrus Industry*, (pp. 179-260). University of California Press, USA.
- Edwards S. G., McKay, T., & Seddon, B. (1994). Interaction of *Bacillus* species with phytopathogenic fungi. Methods of analysis and manipulation for biocontrol purposes. in: Blakeman JP, Williamson B (eds) *Ecology of Plant Pathogens* (pp. 101-118). Wallingford, Great Britain, British Society for Plant Pathology.
- Edwards, S. G., & Seddon, B. (2001). Mode of antagonism of *Brevibacillus brevis* against *Botrytis cinerea* in vitro. *Journal of Applied Microbiology*, 91, 652-659.
- Ekinci, M., Turan, M., Yıldırım, E., Güneş, A., Kotan, R., & Dursun A. (2014). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrient, organic acid, amino acid and hormone content of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) transplants. *Acta Scientiarum Polonorum*, 13(6), 71-85.
- Ekinci, M., Yıldırım, E., & Kotan, R. (2015). Effects of different plant growth promoting rhizobacteria on growth and quality of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) seedling. *Akdeniz University Journal of Agriculture*, 28(2), 53-59.
- El-Mabrok, A., Hassan, Mokhtar, A. M., Hussain, K., & Aween, M. (2012). Isolation and identification of lactic acid bacteria with antifungal activity against anthracnose disease. *Research Journal of Biological Sciences*, 7(9-12), 335-339.
- Elshafie, H., Camele, I., Racioppi, R., Scrano, L., Iacobellis, N., & Bufo, S. (2012). *In vitro* antifungal activity of *Burkholderia gladioli* pv. *agaricicola* against some phytopathogenic fungi. *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 16291-16302.
- Elsherif, M., & Grossmann, F. (1994). Comparative investigations on the antagonistic activity of fluorescent pseudomonads against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in vitro and in vivo. *Microbiological Research*, 149(4), 371-377.
- Erdoğan, O., & Benlioğlu, K. (2010). Biological control of *Verticillium* wilt on cotton by the use of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological Control*, 53(1), 39-45.
- Erman, M., Kotan, R., Çakmakçı, R., Çiğ, F., Karagöz, K., & Sezen, M. (2010). Effect of nitrogen fixing and phosphatesolubilizing rhizobacteria isolated from Van Lake Basin on the growth and quality properties in wheat and sugar beet. Turkey IV. Organic Farming Symposium, 28 June - 1 July 2010, Erzurum, Turkey, 325-329.
- Forner, C., Bettiol, W., Nascimento, L. M. D., & Terao, D. (2013). Postharvest control of *Penicillium digitatum* in pera orange trees with microorganisms and heat treatment. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 35(1), 23-31.
- Gökçe, A. Y., & Kotan, R. (2016). Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve antagonistbakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. *Bitki Koruma Bülteni*, 56(1), 49-75.
- Güneş, A., Karagöz, K., Turan, M., Kotan, R., Yıldırım, E., Çakmakçı, R., & Şahin, F. (2015). Fertilizer efficiency of some plant growth promoting rhizobacteria for plant growth. *Research Journal of Soil Biology*, 7(2), 28-45.
- Heimpel, G. E., & Mills, N. (2017). *Biological Control-Ecology and Applications*. Cambridge University Press, Cambridge, England.
- Ismail, M., & Zhang, J. (2004). Post-harvest citrus diseases and their control. *Outlooks on Pest Management*, 15, 29.
- Janisiewicz, W. J., & Korsten, L. (2002). Biological control of postharvest diseases and fruits. *Annual Review Phytopathology*, 40, 411-441.
- Karabulut, O. A., Tezcan, H., Daus, A., Cohen, L., Wiess, B., & Droby, S. (2004). Control of preharvest and postharvest

fruit rot in strawberry by *Metschnikowia fructicola*. *Biocontrol Science and Technology*, 14, 513-521.

- Karagöz, K., & Kotan, R. (2010). Bitki gelişimini teşvik eden bazı bakterilerin marulun gelişimi ve bakteriyel yaprak lekesi hastalığı üzerine etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(2), 165-179.
- Karahocagil, P., Tunalioglu, R., Taskaya, B., & Anac, H. (2003). Turunçgiller Durum ve Tahmin: 2003/2004. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, 111, 74.
- Karakurt, H., Kotan, R., Dadaşoğlu, F., Aslantaş, R., & Sahin F. (2011). Effects of plant growth promoting rhizobacteria on fruit set pomological and chemical characteristics color values and vegetative growth of sour cherry *Prunus cerasus* cv. Kutahya. *Turkish Journal of Biology*, 35, 283-291.
- Ketabchi, S., Taghipour, M., & Sharzei, A. (2012). Identification of lime fruit surface colonizing bacteria antagonistic against the green mold (*Penicillium digitatum*) and comparison of biological control with heat treatment and chemical control. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 3, 287-292.
- Kinay, P., Mansour, M. F., Gabler, F. M., Margosan, D. A., & Smilanick, J. L. (2007). Characterization of fungicideresistant isolates of *Penicillium digitatum* collected in California. *Crop Protection*, 26, 647-656.
- Kotan, R., Dikbaş, N., & Bostan, H. (2009). Biological control of postharvest disease caused by *Aspergillus flavus* on stored lemon fruits. *African Journal of Biotechnology*, 8(2), 209-214.
- Kotan, R., Şahin, F., Demirci, E., & Eken, C. (2011). Biological control of the potato tubers dry rot caused by *Fusarium* species using PGPR strains. *Biological Control*, 59(3), 194-198.
- Köhl, J., Kolnaar, R., & Ravensberg, W. J. (2019). Mode of action of microbial biological control agents against plant diseases: relevance beyond efficacy. *Frontiers in Plant Science*, 10, 845. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00845>.
- Kumar, P., Dubey, R. C., & Maheshwari, D. K. (2012). *Bacillus* strains isolated from rhizosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity against phytopathogens. *Microbiological Research*, 167, 493-499.
- Leelasuphakul, W., Sivanunsakul, P., & Phongpaichit, S. (2006). Purification, characterization and synergistic activity of β -1, 3-glucanase and antibiotic extract from an antagonistic *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 against rice blast and sheath blight. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(7), 990-997.
- Liu, J., Wisniewski, M., Droby, S., Tian, S., Hershkovitz, V., & Tworowski, T. (2011). Effect of heat shock treatment on stress tolerance and biocontrol efficacy of *Metschnikowia fructicola*. *FEMS Microbiology and Ecology*, 76, 145-155.
- Liu, Y., Heying, E., & Tanumihardjo, S. A. (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(6), 530-538. doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00201.x.
- Liu, J., Sui, Y., Wisniewski, M., Droby, S., & Liu, Y. (2013). Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 167, 153-160.
- Mohammadi, P. (2018). Domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis vd.)'nin antagonistbakteriler kullanılarak mücadele imkânlarının araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Mohammadi, P., Tozlu, E., & Kotan, R. (2014). Screening of antagonistic bacteria for biological control of green mold caused by *Penicillium digitatum* Sacc. of citrus fruits. 21th Iranian Plant Protection Congress, January 21-22, Urmia, Iran, 189.
- Mohammadi, P., Tozlu, E., Kotan, R., & Senol Kotan, M. (2017). Potential of some bacteria for biological control of postharvest citrus green mould caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Protection Science*, 53(3), 134-143.
- Morales-Cedeño, L. R., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Loeza-Lara, P. D., Parra-Cota, F. I., de Los Santos-Villalobos, S., & Santoyo, G. (2021). Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre-and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives. *Microbiological Research*, 242, 126612.
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 16(3), 115-125.
- Özaktan, H., Aysan, Y., Yıldız, F., & Kinay, P. (2010). Fitopatolojide biyolojik mücadele. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 61-78.
- Palou, L., Smilanick, J. L., & Droby, S. (2008). Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharvest Review*, 2, 1-16.
- Palou, L. (2014). *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* (green mold, blue mold), in Bautista-Baños S. (ed.), *Postharvest Decay* (pp. 45-102). Academic Press, London, England.
- Panda, A. K., Bisht, S. S., DeMondal, S., Senthil Kumar, N., Gurusubramanian, G., & Panigrahi, A. K. (2014). *Brevibacillus* as a biological tool: a short review. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 105(4), 623-639.
- Papoutsis, K., Mathioudakis, M. M., Hasperue, J. H., & Ziogas, V. (2019). Non-chemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus caused by *Penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (blue mold). *Trends in Food Science and Technology*, 86, 479-491.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Baños, S. B., & Sivakumar, D. (2017). Shelf life extension of fresh fruit and vegetables by chitosan treatment. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(3), 579-601.

- Ruffo Roberto, S., Youssef, K., Hashim, A. F., & Ippolito, A. (2019). Nanomaterials as alternative control means against postharvest diseases in fruit crops. *Nanomaterials*, 9(12), 1752.
- Schirra, M., D'Aquino, S., Cabras, P., & Angioni, A. (2011). Control of postharvest diseases of fruit by heat and fungicides: efficacy, residue levels, and residue persistence. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(16), 8531-8542.
- Schmitt, A., & Seddon, B. (2005). Biocontrol of plant pathogens with microbial BCAs and plant extracts advantages and disadvantages of single and combined use, in: Dehne HW, Gisi U, Kuck KH, Russell PE, Lyr H (eds), *Modern Fungicides and Antifungal Compounds* (pp. 205-225). Alton, England.
- Seddon, B., McHugh, R. C., & Schmitt, A. (2000). *Brevibacillus brevis*— a novel candidate biocontrol agent with broad-spectrum antifungal activity. *Proc Brit Crop Protec Con - Pests and Diseases*, 563-572.
- Senthilkumar, M., Swarnlakshmi, K., Govindasamy, V., Lee, Y. K., & Annapurna, K. (2009). Biocontrol potential of soybean bacterial endophytes against charcoal rot fungus *Rhizoctonia bataticola*. *Current Microbiology*, 58, 288-293.
- Smilanick, J. L., Brown, G. E., Eckert, J. W. (2006). The biology and control of postharvest diseases, in: Wardowski WF, Miller WM, Hall DJ, Grierson W (Eds.), *Fresh Citrus Fruits* (2nd) (pp. 339-396). Florida Science Source, Inc.
- Sunita, C., Eunice, J. A., & Steve, W. (2010). Biological control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* on tomato by *Brevibacillus brevis*. *Journal of Phytopathology*, 158, 470-478.
- Şahinoglu, E. (2019). Kapyra biberde *Fusarium proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg, (1976) ile biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tekiner, N., Tozlu, E., & Kotan, R. (2019a). Domateste *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl'nin bazı bakteriler ile biyolojik mücadelesi. *Plant Protection Bulletin*, 59(4), 57-68.
- Tekiner, N., Kotan, R., Tozlu, E., & Dadasoglu, F. (2019b). Determination of some biological control agents against *Alternaria* fruit rot in quince. *Alinteri Journal of Agricultural Sciences*, 34(1), 25-31.
- Tekiner, N., Tozlu, E., & Kotan, R. (2019c). Portakalda antraknoz hastalığı etmeni *Colletotrichum gloeosporioides*'in biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(3), 282-291.
- Tekiner, N., Tozlu, E., & Guarnaccia, V. (2020). First report of *Diaporthe foeniculina* causing fruit rot of lemon in Turkey. *Journal of Plant Pathology*, 102, 277. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00413-4>.
- Tozlu, E. (2016). Biological Control of Carrot Sour Rot (*Geotrichum candidum* Link) by some bacterial biocontrol agents. *Atatürk University Journal of Agricultural Faculty*, 47(1), 1-9.
- Tozlu, E., Dadasoglu, F., Kotan, R., & Tozlu, G. (2011). Insecticidal effect of some bacteria on *Bruchus dentipes* Baudi (Coleoptera: Bruchidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 20(4), 918-923.
- Tozlu, E., Tekiner, N., Kotan, R., & Örtücü, S. (2018). Investigation on the biological control of *Alternaria alternata*. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 88(8), 1241-1247.
- Wang, H., Yan, Y., Wang, J., Zhang, H., & Qi, W. (2012). Production and characterization of antifungal compounds produced by *Lactobacillus plantarum* IMAU10014. *Plos One*, 7(1), e29452.
- Wang, X. Q., Zhao, D. L., Shen, L. L., Jing, C. L., & Zhang, C. S. (2018). Application and mechanisms of *Bacillus subtilis* in biological control of plant disease, in: *Role of Rhizospheric Microbes in Soil* (pp. 225-250). Springer, Singapore.
- White, T. J., Brauns, T., Leeand, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, in: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications* (pp. 315-322). Academic Press, San Diego, California.
- Zhen, S., Kaiqi, L., Changxu, L., Jian, Y., Ruicheng, J., & Xunli, L. (2011). Isolation and characterization of a potential biocontrol *Brevibacillus laterosporus*. *African Journal of Microbiology Research*, 5(18), 2675-2681.