

Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması¹

Ahmet Yasin GÖKÇE² Recep KOTAN³

ABSTRACT

Investigation of biological control possibilities of wheat root rot disease caused by *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) using PGPR and bio-control bacteria in controlled condition

The aim of this study was to determine the effect of using PGPR and biocontrol bacteria against root rot disease on wheat caused by *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) control and plant growth promotion. A total of 212 antagonistic bacterial isolates belonging to 25 different species isolated from under-ground or above-ground of wild and cultivated plants in the previous studies were used in this study, carried on in 2012-2013. They were identified using fatty acid methyl esters profiles by the Microbial Identification System (MIS). The antagonistic bacterial strains were tested to determine their antifungal properties against the fungal pathogen *in vitro* conditions. A total of 39 antagonistic bacterial isolates, selected by determining antifungal properties, nitrogen fixation and phosphate solubilising activities, were grown in suitable liquid carrier formulation. They tested for suppressing root rot disease and wheat plant growth parameters by using seed coating method in pot experiments. It was found that many of the antagonistik bacteria both suppressed the disease and provided important contributions to the development of the plant. Consequently our results indicated that some of the liquid formulation consist of antagonistic bacteria (*Bacillus megaterium* TV-6D, *Brevibacillus choshinensis* TV-53D and *Bacillus pumilus* TV-3C) can be used as both biopesticide for the control of wheat root rot disease and biofertilizers for wheat crop.

Keywords: Biofertilizer, biopesticide, *Bipolaris sorokiniana*, PGPR, wheat

¹ Bu çalışma yüksek lisans projesidir. 03-05 Şubat 2014 tarihinde Antalya'da düzenlenen "Türkiye V. Bitki Koruma Kongresi"nde poster olarak sunulmuş ve özet olarak basılmıştır.

² Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, 06171, Ankara

³ Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 25240, Erzurum
Sorumlu yazar (corresponding author) e-mail: aygokce@tagem.gov.tr
Alınış (Received): 16.06.2015, Kabul edilmiş (Accepted): 14.01.2016

ÖZ

Bu çalışmanın amacı; PGPR ve biyoajan bakteriler kullanılarak buğday kök çürüklüğü hastalığı *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'nın kontrolü ve bitki gelişimi üzerine etkisinin belirlenmesidir. 2012-2013 yıllarında yapılan bu çalışmada; daha önce yapılmış olan farklı araştırmalarda yabancı ve kültür bitkilerinin toprak altı veya toprak üstü aksamlarından izole edilerek, Mikrobiyal Tam Sistemi (MIS) ile tanımlanan 25 farklı türe ait toplam 212 antagonist bakteri izolatu kullanılmıştır. Bu antagonist bakteriler in-vitro koşullarda patojene karşı antifungal özelliklerinin belirlenmesi için test edilmiştir. Antifungal özellikleri, azot fiksasyonu ve fosfatı çözebilme özellikleri dikkate alınarak seçilen 39 antagonist bakteri izolatu sıvı taşıyıcı formülasyonda geliştirilmiştir. Tohum kaplama yöntemi kullanılarak saksı denemelerinde hastalık gelişimi ve buğday bitkisinin gelişim parametreleri üzerine etkinlikleri bakımından test edilmiştir. Antagonistik bakterilerin pek çoğunun hem hastalığı baskılamakta etkili olduğu hem de bitki gelişiminde önemli katkılar sağladığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak, antagonist bakteri izolatlarından oluşturulan sıvı formülasyonlardan bazılarının (*Bacillus megaterium* TV-6D, *Brevibacillus choshinensis* TV-53D ve *Bacillus pumilus* TV-3C) hem buğday kök çürüklüğü hastalığını kontrolünde biyopestisit ve hem de buğday yetiştiriciliğinde mikrobiyal gübre olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyogübre, biyopestisit, *Bipolaris sorokiniana*, PGPR, buğday

GİRİŞ

Tarım, insanların gıda ve giyim ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla bitkisel ve hayvansal ürün üretimini konu alan faaliyetlerin bütünüdür. Bitkisel kaynaklı gıdalar; hayvansal olanlara göre yetiştirilmeleri, sağlanmaları, taşınmaları, saklanmaları ve işlenmeleri daha ucuz ve kolay olmasından dolayı özellikle teknolojiye geri kalmış ülke ve toplumlarda daha yüksek miktarlarda tüketilmektedir.

Özellikle buğday, arpa, çavdar, yulaf, mısır, pirinç ve sorgum dünya çapında ekonomik öneme sahip tahıl çeşitleridir. Bunlar içerisinde en yüksek payı %32 ile buğday almaktadır (Anonymous 2012). Türkiye'de toplam tahıl üretiminin büyük çoğunluğu İç Anadolu Bölgesi'nde olup, bunu sırasıyla Marmara, Akdeniz, Güneydoğu Anadolu, Ege, Karadeniz ve Doğu Anadolu Bölgesi takip etmektedir (Anonim 2012). İnsan beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan buğday, tüketim alışkanlıkları nedeniyle özellikle ülkemizde ilk sıralarda yer almaktadır. Serin iklim tahılları içinde önemli yere sahip ve adaptasyon yeteneği yüksek olan buğday, un, makarna, bisküvi, irmik, nişasta, bulgur ve yem sanayiinde kullanıldığı gibi, hasat ve harman sonrası kalan bitki artıkları da hayvan beslenmesinde kaba yem olarak da kullanılmaktadır (Kün 1988, Aktaş 2010).

Ülkemizde buğday, tahıllar içerisinde ekim alanı bakımından birinci sırada yer almaktadır. Yıllara göre değişmekle beraber 2012 yılı verilerine göre 112.933.013 da olan tahıl ekim alanlarının, 75.296.394 da'ını buğday ekimi oluşturmaktadır. Bu

alandanda verimin 267 kg/da olduğu, toplam üretimimizin ise 20.100.000 ton olduğu belirtilmektedir (Anonim 2012).

Bitki patojenlerine karşı önlem alınmadığı takdirde yılda yaklaşık olarak %65 oranında ürün kaybı oluşmaktadır (Agrios 1997). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)'nın 1993 yılı istatistiklerine göre, her yıl dünya tarım ürünlerinin en az %12'lik bir bölümü (tarla ve depo şartlarında) patojen mikroorganizmaların neden olduğu bitki hastalıklarından dolayı kaybedilmekte, bu oran az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde daha da fazla olmaktadır. Yapılan araştırmalar, bitki hastalıklarına %60–75 oranında fungus ve bakteriler, %10–15 oranında virüs ve viroidler, %10 oranında ise diğer patojenler ve çevresel faktörlerin sebep olduğunu göstermektedir (Agrios 1997).

Buğday ve arpanın verimini ve kalitesini etkileyen birçok hastalık etmeninin yanında, *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Subram ve Jain [Eşeyli dönemi *Cochliobolus sativus* (Ito ve Kurib.) Drechler ex Dastur]'nın oluşturduğu kök çürüklüğü hastalığı da büyük bir öneme sahiptir (Eken ve Demirci 1998).

D. sorokiniana'nın oluşturduğu hastalık “noktalı yaprak lekesi” olarak isimlendirilmiştir (Couture ve Sutton 1978, Luz ve Bergstrom 1986, Conner 1990). Fakat ilk enfeksiyonun kök ve kök boğazında görülmesi, sıcak ve az yağışlı bölgelerde ise hastalığın sadece bu durumda seyretmesinden dolayı bu hastalık “kök çürüklüğü” olarak da adlandırılmaktadır (Piening et al. 1976, Tinline and Ledingham 1979, Duczek et al. 1985). Fungus kök çürüklüğü, fide yanıklığı, yapraklarda açık kahverengiden siyaha kadar değişen ve kenarları kesin bir hatla ayrılan oval lekeler, bitkilerde bodurlaşma, başak büyüklüğü ve tane ağırlığında azalma şeklinde kendini göstermektedir (Dickson 1956, Ledingham et al. 1973, Piening et al. 1976, Wiese 1987a, Wiese 1987b).

Dünyada hububat ekim alanlarının hemen hemen hepsinde kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıkları görülmektedir (Aktaş 2001). Buğday ve arpada kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalığı nedeniyle %10–40 arasında ürün kaybı meydana gelmektedir. Kök çürüklüğünün, mevsimin ve münavebenin hastalığın çoğalmasına uygun olduğu yerlerde %50 veya daha fazla ürün kaybına neden olduğu kaydedilmektedir (Wallwork 2000). Buğdayda kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıkları etmenleri, dayanıklı spor formları ile toprakta uzun yıllar yaşamlarını sürdürmeleri ve kozmopolit bir dağılım göstermeleri nedeniyle, hububat tarımında verim ve kalite unsurlarını olumsuz yönde etkilemektedirler. Bitki kök sistemi hastalıklı olduğunda, ana kök ve lateral kök oluşumundaki aksaklıklara bağlı olarak bitki besin maddeleri yeterince kullanılamamakta ve kök bölgesinden daha derinlere inerek, bitki tarafından faydalanılamayacak hale gelmektedir. Bu hastalıklar özellikle iklim koşullarının hastalık gelişimine uygun olduğu yıllarda, önemli zararlara neden olmaktadır.

Buğdayda kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalıkları etmenleri, dayanıklı spor formları ile toprakta uzun yıllar yaşamlarını sürdürmeleri ve kozmopolit bir

dağılım göstermeleri nedeniyle, hububat tarımında verim ve kalite unsurlarını olumsuz yönde etkilemektedirler. Bitki kök sistemi hastalıklı olduğunda, ana kök ve lateral kök oluşumundaki aksaklıklara bağlı olarak bitki besin maddeleri yeterince kullanılamamakta ve kök bölgesinden daha derinlere inerek, bitki tarafından faydalanılamayacak hale gelmektedir. Bu hastalıklar özellikle iklim koşullarının hastalık gelişimine uygun olduğu yıllarda, önemli zararlara neden olmaktadır.

Kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı mücadelede, kültürel önlemlerin ve kimyasal mücadelenin yetersiz kalması dolayısıyla alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılması kaçınılmazdır. Bitki hastalıklarıyla alternatif mücadele yollarından biri olan biyolojik mücadele, günümüzde çoğu ülkede araştırmacıların ilgisini cezbeder hale gelmiş ve birçok patojene karşı biyolojik preparatlar geliştirilerek yetiştiricilerin hizmetine sunulmuştur (Wallwork 2000).

Özellikle de yoğun tarım uygulamalarında aşırı kimyasal ilaç ve gübre kullanımı; tarımsal üretim sistemlerinin sürdürülebilirliğini riske atmış, doğal kaynakların insan sağlığını tehdit eder boyutlarda kirlenmesine, patojen ve zararlı etmenlerde ilaçlara karşı dayanıklılık riskinin oluşmasına sebep olmuştur. Bu nedenle tarımsal üretimde verimliliğin artırılması, toprakların fiziksel ve kimyasal yapısının iyileştirilmesi, insan sağlığının korunması ve çevre kirliliğinin önlenmesine katkıda bulunacak biyolojik ürünlerin (biopestisit ve mikrobiyal gübre) kullanımının gerekli olduğu artık bilinmektedir. Toprak ve su kaynaklarına daha az zarar veren, tarımsal kimyasallara daha az bağımlı olan çevre dostu stratejilerin kullanılmasına ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının yaygınlaştırılmasına duyulan ihtiyaç küresel boyutlardadır. Bunun yanısıra sürdürülebilir tarım uygulamalarının anahtar elementlerinden birisi de, bitki korumada biyolojik mücadele etmenlerinin kullanımınıdır (Szekeres 2006).

Kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı mücadelede, kültürel önlemlerin ve kimyasal mücadelenin yetersiz kalması dolayısıyla alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılması kaçınılmazdır. Bitki hastalıklarıyla alternatif mücadele yollarından biri olan biyolojik mücadele, günümüzde çoğu ülkede araştırmacıların ilgisini cezbeder hale gelmiş ve birçok patojene karşı biyolojik preparatlar geliştirilerek yetiştiricilerin hizmetine sunulmuştur. Biyolojik mücadelede amaca ulaşmak için etmeni doğru şekilde kullanmak çok önemlidir. Biyolojik mücadele etmenleri, tohum uygulamalarında kimyasal fungusitler kadar etkili olmamakla birlikte, kökleri kolonize ederek, kök kütlelerini ve sağlığını artırarak verim artışı sağlarlar. Kimyasallar kısa vadeli iyi tohum koruması yaparken, biyolojik mücadele, fungusu karşı uzun vadeli kök koruması temin etmektedir (Harman 2000).

Tohuma uygulanan bazı bakteriyel biyolojik mücadele ajanları, bitkide dayanıklılığı uyatarak birden çok hastalığı engelleyebilmesi nedeni ile ümitvar bir alternatif mücadele yöntemi olarak görülmektedir. Genel olarak uyarılmış dayanıklılığın sistemik olmasıyla, savunma mekanizmaları sadece enfekteli bitki

kısımlarında değil, bitkinin tüm dokularında etkili olmaktadır. Rizosferde bulunan *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinslerine dahil bakteri türleri, besin ve yer için rekabet, antibiyosis, sistemik dayanıklılığın uyarılması gibi farklı mekanizmaları kullanarak toprak patojenlerinin neden olduğu ürün kayıplarını azaltabilmektedirler (Bora ve Özakta 1998). Rizobakterilerin çeşitli mekanizmalar yardımıyla hastalıkları engellemelerinin yanısıra, bitki gelişimini teşvik etmeleri ve ürün artışına imkan sağlamaları da ülkemizde bu konuda araştırmaların yapılması gerektiğini gözler önüne sermektedir.

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı talimatlarına göre; *B. sorokiniana* etmeni ile mücadelede, ekim öncesi tohumla pestisit uygulaması ve kültürel önlemler haricinde etkili bir yöntemin olmadığı belirtilmektedir. Bu nedenle geliştirilecek etkili biyoajanlar bu hastalığın kontrolünde büyük önem taşımaktadır. Ayrıca hem ülkemiz hem de dünyada sürekli kimyasal kullanılması; başta insan ve hayvan sağlığını tehdit etmekte olup, çevre kirliliği, ilaç kalıntısı, dayanıklılık riski gibi birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Bu açıdan son yıllarda önemini giderek artırmakta olan insan ve çevre dostu biyolojik mücadele çalışmaları insanlığın gelecekteki birçok kaygısına umut ışığı olmuştur.

Bu çalışmada, buğdayda kök çürüklüğü hastalığına karşı etkili ve aynı zamanda bitki gelişimine katkıda bulunabilecek antagonist bakteri izolatlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan patojen fungus izolatı

Çalışmada patojen fungus olarak; Ankara Zirai Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Hububat Hastalıkları laboratuvarında bulunan ve farklı bölgelerden izole edilerek virülenslikleri bakımından test edilen izolatlar arasında virülensliği en yüksek olarak belirlenen *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) B1 izolatı kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan bakteri izolatları

Çalışmada antagonist bakteri izolatları olarak çeşitli kültür ve yabani bitkilerin toprak üstü aksamı veya kök rizosferinden izole edilen, fosfat çözme, azot fiksasyonu, hormon ve amino asit üretimi bakımından test edilen, klasik yöntemler ve moleküler sistem (MIS) ile tanılaması yapılan Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde Mikroorganizma Kültür Koleksiyonunda yer alan toplam 25 farklı türe ait toplam 212 adet izolat kullanılmıştır (Çizelge 1).

Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan bakteri türleri ve izolat sayıları

| Sıra no | Bakteri türü | Test edilen toplam izolat sayısı |
|----------------------------------|--|----------------------------------|
| 1 | <i>Bacillus megaterium</i> | 79 |
| 2 | <i>Bacillus cereus</i> | 16 |
| 3 | <i>Brevibacillus choshinensis</i> | 16 |
| 4 | <i>Bacillus atropheus</i> | 15 |
| 5 | <i>Pseudomonas flourescens</i> | 12 |
| 6 | <i>Bacillus subtilis</i> | 9 |
| 7 | <i>Pseudomonas putida</i> | 9 |
| 8 | <i>Bacillus pumilus</i> | 8 |
| 9 | <i>Bacillus sp.</i> | 8 |
| 10 | <i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i> | 6 |
| 11 | <i>Bacillus sphaericus</i> | 6 |
| 12 | <i>Bacillus laevolacticus</i> | 4 |
| 13 | <i>Bergeyella zoohelcum</i> | 4 |
| 14 | <i>Bacillus mycoides</i> | 3 |
| 15 | <i>Bacillus thuringiensis</i> | 3 |
| 16 | <i>Brevibacillus centrosporus</i> | 3 |
| 17 | <i>Bacillus coagulans</i> | 2 |
| 18 | <i>Pantoea agglomerans</i> | 2 |
| 19 | <i>Bacillus alcalophilus</i> | 1 |
| 20 | <i>Bacillus licheniformis</i> | 1 |
| 21 | <i>Bacillus oleronius</i> | 1 |
| 22 | <i>Bordetella bronchiseptica</i> | 1 |
| 23 | <i>Brevibacillus reuszeri</i> | 1 |
| 24 | <i>Pseudomonas agarici</i> | 1 |
| 25 | <i>Serratia grimesii</i> | 1 |
| Test edilen toplam izolat sayısı | | 212 |

Çalışmada kullanılan buğday çeşidi ve diğer materyaller

Test bitkisi olarak kök çürüklüğüne orta derecede hassas olan Mızrak çeşidi buğday (*Triticum aestivum* L.) tohumu, patojen fungus inokulasyonunda buğday kepeği, büyüme ortamı olarak plastik bardak (çap 10 cm), yetiştirme ortamı olarak ise elenmiş doğal tarla toprağı, kum ve yanmış çiftlik gübresi (1:1:1) karışımı kullanılmıştır (Demirci 2003).

Çalışmada kullanılan sıvı taşıyıcı

Çalışmada BM-Mega Flu isimli ticari mikrobiyal gübre için geliştirilen sıvı taşıyıcı kullanılmış olup, taşıyıcıda kullanılan maddeler ürünün içeriğinin gizliliği açısından verilmemiştir.

Çalışmada kullanılan antagonist bakteri ve fungus kültürlerinin muhafazası

Her antagonist bakterinin 24 saatlik (h) saf kültüründen bir öze dolusu alınarak, içerisinde 500 µl %30'luk gliserol ve 500 µl Luria Broth (1 L dH₂O (destile su), 10 g tryptone, 10 g NaCl ve 5 g yeast extract) bulunan eppendorf tüplere aktarılıp etiketlenmiş ve vortexde karıştırılarak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir. Patojen fungus ise eğik agarda hazırlanan Potato Dextrose Agar (PDA) besi ortamında geliştirilerek buzdolabında daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır.

In vitro da engelleme zonu testi

Çizelge 1'de verilen 25 farklı antagonist bakteri türüne ait toplam 212 adet antagonist bakteri izolatının patojen fungus *B. sorokiniana*'ya karşı antifungal özelliklerinin belirlenmesi için PDA besi yeri içeren petripler (çap 8.5 cm) kullanılmıştır. Bunun için *B. sorokiniana* patojen fungusu PDA besi ortamında 24°C'de 15 h aydınlık 9 h karanlık şartlarda geliştirilmiştir. Petri yüzeyinde gelişen sporlar toplanarak, sdH₂O (steril destile su) ile süspansiyon edilmiş ve Thoma lamı yardımıyla spor konsantrasyonu 1x10⁵ spor/ml'ye ayarlanmıştır. Potansiyel biyoajan bakteri kültürleri ise dondurucudan çıkarılarak Nutrient Agar (NA) besi ortamı içeren petrilere (çap 8.5 cm) ekilmiş, 27°C'de inkübasyona bırakılarak 24 h'lik taze kültürleri elde edilmiştir. Gelişen taze bakteri kültürlerinden steril çubuk ile alınarak sdH₂O ile süspansiyon edilmiş ve BIOLOG türbidimetre ile hücre konsantrasyonu 1x10⁸ hücre/ml'ye ayarlanmıştır. Patojen fungusun spor süspansiyonundan 100 µl alınarak PDA besi ortamına pipetle aktarılmış ve steril cam bagetle petri yüzeyine yayılmıştır. Patojen inokule edilen bu petriplerin tam ortasına boş bir disk (Oxoid) konularak test edilecek bakteri kültürlerinden pipetle alınan 15 µl bakteri süspansiyonu bu diske emdirilmiştir. Kontrol olarak bakteri içermeyen boş disk kullanılmıştır. Kültürler parafilmle kaplanarak 24°C'de 15 h aydınlık 9 h karanlık şartlarda 7 gün geliştirilmiştir. Bakteri kodlu diskin etrafında oluşan inhibasyon zonu ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Her bakteri 3 petride test edilmiş ve bu 3 petriden elde edilen değerler yardımıyla biyoajanın oluşturduğu ortalama inhibasyon zonu belirlenmiştir.

Saksı denemelerinde antagonist bakterilerin buğday gelişimi ve hastalık gelişimi üzerine etkileri

In vitro petri denemeleri sonucunda toplam 212 adet antagonist bakteri izolatı içerisinde güçlü hiperparazitik etki gösteren 39 adet antagonist bakteri izolatı buğday bitkisinin gelişimi ve hastalık şiddeti üzerine etkinlikleri bakımından *in vivo* saksı denemelerinde biyoajan olarak kullanılmıştır. Saksı denemeleri Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne ait iklim odası koşullarında (35000 lüks ışık, 14 h aydınlık 10 h karanlık, 25/20±2°C (gündüz/gece) sıcaklık, %50-60±5 nem) yürütülmüştür (Şekil 1).



Şekil 1. *In vivo* saksı denemeleri.

Buğday tohumları %2'lik sodyum hipoklorit içinde 3 dakika bekletilerek, yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutulmuş, steril saf sudan geçirildikten sonra, steril kurutma kağıtları arasında kurumaya bırakılmıştır.

Her bir uygulama için 4 plastik bardak (çap 10 cm) kullanılmış ve uygulamalar tesadüfi dağıtılmıştır. Kontrol olarak antagonist bakteri izolatları verilmeden sadece patojen ile bulaşık toprağa tohum ekilen plastik saksılar kullanılmıştır.

Potansiyel biyoajan bakteri kültürleri dondurucudan çıkarılarak NA besi ortamı içeren petrilere ekilmiş, 27°C'de 24 h inkübasyona bırakılarak taze kültürleri elde edilmiştir. Gelişen taze bakteri kültürlerinden steril çubuk ile alınarak sdH₂O ile süspansiyon edilmiş ve hücre konsantrasyonu 1x10⁸ hücre/ml'ye ayarlanmıştır. Bu süspansiyondan 100 ml alınarak 1 L sıvı taşıyıcıya aktarılmıştır. Yatay çalkalayıcı inkübatörde 27°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra bu biyoformülasyonlar 50 kat musluk suyu ile seyreltilerek yapıştırıcı olarak 1/100 (kg/L) oranında toz şeker ilave edilmiştir. İçerisine buğday tohumları atılarak yine yatay çalkalayıcı inkübatörde tohum kaplaması yapılmıştır.

Patojen inokulumu hazırlamak amacıyla, 1000 ml'lik şişelerde 300 g buğday kepek kültürü hazırlanmıştır. Saf su ile nemlendirilen kültür, otoklavda 1 atm. basınç altında, 121°C'de 20 dakika bir gün aryla 2 defa sterilize edilmiştir. İnokulumda kullanılan patojen *B. sorokiniana* PDA besiyerinde 24°C'de 7 gün geliştirilmiş, steril su ilave edilmiş hif ve sporlar iyice kazınarak buğday kepek kültürüne aktarılmıştır. 15 gün, 24°C'de 14 h ışık ve 10 h karanlık koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Bu kültürler, daha sonra denemenin yapılacağı toprağa %5 oranında karıştırılarak patojenle bulaşık topraklar elde edilmiştir (Uçkun ve Yıldız 2004).

Denemede doğal tarla toprağı, kum ve yanmış çiftlik gübresi (1:1:1) karışımı iki defa steril edilmiştir. *B. sorokiniana* ile bulaştırılmış toprak plastik saksılara doldurulmuş, 10 gün süre ile plastik saksılarda yayılması beklendikten sonra, sıvı taşıyıcıda geliştirilen biyoajan bakteri kültürleri ile kaplanmış buğday tohumları saksı başına 6 adet ve 3 cm derinliğe olacak şekilde patojen ile bulaşık toprak

içeren saksılara ekilmiştir. Tohum ekiminden 20 gün sonra plastik saksılardaki çimlenen bitki sayısı 4'e indirilerek seyreltme yapılmıştır. Bitkiler, iklim odasında 35000 lüks ışık şiddetinde, 14 h aydınlık 10 h karanlık fotoperiyod koşullarında, 25/20±2°C (gündüz/gece) sıcaklıkta, %50–60±5 nemde geliştirilmiş ve düzenli olarak sulanmıştır (Ekmekçi ve Terzioğlu 1998).

Bitkilerin çıkışı ile beraber düzenli olarak gözlem yapılmış ve 4 hafta sonra saksılardaki bitkilerin kökleri çekilerek, toprakları yıkanmış ve bitki boyu (cm), yaprak sayısı (adet), kök sayısı (adet) ve yaş ağırlık (g/bitki) değerleri saptanmış, ayrıca bu bitkiler 60°C'ye ayarlı etüvde 48 h bekletilerek toplam kuru gövde ve kök ağırlıkları (g) tartılmıştır. Ayrıca 0-7 skalası (Aktaş 2001) kullanılarak her bir bitkide *B. sorokiniana*'nın oluşturduğu hastalık oranının değerlendirilmesi yapılmıştır (Çizelge 2 ve Şekil 2).

Çizelge 2. Buğdayda kök ve kök boğazı çürüklüğü skalası

| Skala değeri | Hastalığın tanımı | % |
|--------------|--|---------|
| 0 | Sağlam | 0 |
| 1 | Hafif kahverengi | 1 – 15 |
| 3 | Orta derecede kahverengileşme (1. yaprak kınına kadar ilerlemiş) | 16 – 40 |
| 5 | Şiddetli kahverengileşme | 41 – 70 |
| 7 | Bitki ölmüş | 71- 100 |

Hastalık şiddeti değerleri (%) Tawsend-Heuberger formülü, uygulamaların yüzde etkileri ise Abbott formülü yardımıyla hesaplanmıştır (Karman 1971).

Tawsend-Heuberger formülü:

$$\text{Hastalık Şiddeti (\%)} = [\sum (n.V) / Z.N]$$

n : skalada farklı hastalık derecelerine isabet eden örnek adedi

V: skala değeri

Z: en yüksek skala değeri

N: gözlem yapılan toplam örnek adedi

$$\text{Yüzde etki} = [\text{Kontrol hastalık} - \text{Uygulama hastalık}] / \text{Kontrol hastalık} \times 100$$

İçerisinde 4 adet bitki olan her bir saksı bir tekerrür olarak alınmıştır. Her bir bitkideki lezyonun kökteki oranı 0-7 skalasına göre gruplandırılmıştır. Daha sonra her tekerrürde (4 adet bitki) Tawsend-Heuberger formülü yardımıyla hastalık şiddeti (%) belirlenmiştir. Elde edilen hastalık şiddeti değerlerine açı transformasyonu uygulandıktan sonra, kontrol ile hastalık şiddetleri arasında fark olup olmadığını tespit etmek amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Fark tespit edildikten sonra her bir izolatın hastalık şiddetine olan etkisini tespit için Abbott formülünden yararlanılmıştır. Etkiler arasında farkı belirlemek için tekerrürler bazında elde edilen etki değerlerine açı transformasyonu uygulandıktan sonra varyans analizi yapılmıştır. İzolatlar arasındaki gruplandırma için Duncan çoklu aralık testi kullanılmıştır.

Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması



Şekil 2. 0-7 hastalık skalası görünümü istatistik analizler

Sonuçların değerlendirilmesi

Çalışmada elde edilen sonuçlar IBM.SPSS 20 programı ile analiz edilmiştir. Elde edilen veriler, Ward yöntemine göre hiyerarşik sınıflandırma analizine tabi tutulmuştur.

SONUÇLAR

In vitro da engelleme zonu testi

Petri denemelerinde patojen fungusu karşı antifungal özellikleri bakımından test edilen toplam 25 farklı türe ait 212 adet antagonistik bakteri izolatının etkili izolat sayıları ve oluşturdukları minimum-maksimum engelleme zonu değerleri Çizelge 3'de verilmiştir. Çizelge 3'e göre toplam 121 izolatın 12-41 mm arasında değişen engelleme zonu oluşturdukları tespit edilmiştir. *Bacillus zoohelcum*, *B. thuringiensis*, *B. alcolophilus*, *B. licheniformis*, *B. oleronius*, *B. bronchiseptica* ve *B. reuszeri* türlerine ait toplam 12 izolatın etkisiz olduğu belirlenirken, diğer türlere ait bakteri izolatlarının büyük oranda etkili bulunduğu ve fungusu karşı değişen oranlarda engelleme zonu oluşturdukları saptanmıştır (Şekil 3).

Çizelge 3. In-vitro'da test edilen toplam ve etkili antagonist bakterilerin sayısı ve oluşturdukları engelleme zonları

| Sıra no | Test edilen bakteri türleri | Toplam izolat sayısı | Etkili izolat sayısı | Minimum-maksimum engelleme zonu (mm) |
|---------|--|----------------------|----------------------|--------------------------------------|
| 1 | <i>Bacillus megaterium</i> | 79 | 48 | 12-40 |
| 2 | <i>Bacillus cereus</i> | 16 | 9 | 13-41 |
| 3 | <i>Brevibacillus choshinensis</i> | 16 | 8 | 13-39 |
| 4 | <i>Bacillus atrophaeus</i> | 15 | 12 | 12-40 |
| 5 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 12 | 6 | 20-40 |
| 6 | <i>Bacillus subtilis</i> | 9 | 8 | 30-40 |
| 7 | <i>Pseudomonas putida</i> | 9 | 3 | 17-20 |
| 8 | <i>Bacillus pumilus</i> | 8 | 6 | 14-40 |
| 9 | <i>Bacillus</i> sp. | 8 | 3 | 16-23 |
| 10 | <i>Bacillus psychrosaccharolyticus</i> | 6 | 3 | 20-37 |
| 11 | <i>Bacillus sphaericus</i> | 6 | 2 | 15-21 |
| 12 | <i>Bacillus laevolacticus</i> | 4 | 4 | 13-38 |
| 13 | <i>Bacillus mycoides</i> | 3 | 3 | 12-40 |
| 14 | <i>Brevibacillus centrosporus</i> | 3 | 1 | 35-37 |
| 15 | <i>Bacillus coagulans</i> | 2 | 1 | 40-42 |
| 16 | <i>Pantoea agglomerans</i> | 2 | 2 | 40-40 |
| 17 | <i>Pseudomonas agarici</i> | 1 | 1 | 15-16 |
| 18 | <i>Serretia grimesii</i> | 1 | 1 | 15-16 |
| 19 | <i>Bergeyella zoohelcum</i> | 4 | 0 | 0 |
| 20 | <i>Bacillus thuringiensis</i> | 3 | 0 | 0 |
| 21 | <i>Bacillus alcalophilus</i> | 1 | 0 | 0 |
| 22 | <i>Bacillus licheniformis</i> | 1 | 0 | 0 |
| 23 | <i>Bacillus oleronius</i> | 1 | 0 | 0 |
| 24 | <i>Bordetella bronchiseptica</i> | 1 | 0 | 0 |
| 25 | <i>Brevibacillus reuszeri</i> | 1 | 0 | 0 |
| | Toplam sayı | 212 | 121 | |



Şekil 3. In vitro da antagonist bakterilerin oluşturdukları engelleme zonları.

In vitro petri denemelerinde patojen fungusu karşı etkili olduğu belirlenen izolatlar arasından azot fiksasyonu ve fosfat çözübilme özellikleri de dikkate alınarak in vivo saksı denemelerinde kullanılmasına karar verilen bakteri izolatları Çizelge 4'de verilmiştir.

Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması

Çizelge 4. *In vitro* petri denemelerinde *B. sorokiniana*'ya karşı etkili bulunan bakteri izolatlarının lokasyon, konukçu, azot fiksasyonu, fosfatı çözebilme ve patojene karşı oluşturdukları engelleme zonu (EZ) değerleri (mm)

| Sıra no | İzolat no | MIS tanı sonucu | Bİ | Lokasyon | Konukçu | N | P | EZ |
|---------|-----------|-----------------------------------|-------|----------|------------|----|----|----|
| 1 | FDG-37 | <i>Pseudomonas fluorescens</i> | 0.563 | Erzurum | Baklagil | + | + | 40 |
| 2 | KBA-10 | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.776 | Erzurum | Kayısı | K+ | + | 40 |
| 3 | RK-79 | <i>Pantoea agglomerans</i> | 0.762 | Erzurum | Elma | + | + | 41 |
| 4 | RK-92 | <i>Pantoea agglomerans</i> | 0.889 | Erzurum | Armut | + | K+ | 40 |
| 5 | TV- 20E | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.519 | Van | Buğdaygil | + | - | 30 |
| 6 | TV- 40D | <i>Bacillus atrophaeus</i> | 0.472 | Van | Buğdaygil | K+ | Z+ | 35 |
| 7 | TV- 57A | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.628 | Van | Buğdaygil | + | - | 38 |
| 8 | TV- 59D | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.504 | Van | Taraxacum | K+ | - | 38 |
| 9 | TV- 61C | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.624 | Van | Buğdaygil | + | - | 27 |
| 10 | TV- 6D | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.750 | Van | Buğdaygil | + | + | 40 |
| 11 | TV- 96B | <i>Bacillus laevolacticus</i> | 0.429 | Van | Buğdaygil | + | - | 13 |
| 12 | TV-103B | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.514 | Van | Buğdaygil | K+ | - | 32 |
| 13 | TV-12H | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.744 | Van | Buğdaygil | K+ | - | 30 |
| 14 | TV-13B | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.687 | Van | Ahududu | K+ | Z+ | 37 |
| 15 | TV-13C | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.595 | Van | Ahududu | + | Z+ | 35 |
| 16 | TV-22B | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.431 | Van | Adaçayı | K+ | Z+ | 39 |
| 17 | TV-30C | <i>Paenibacillus lentimorbus</i> | 0.729 | Van | Buğdaygil | K+ | + | 13 |
| 18 | TV-32C | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.474 | Van | Buğdaygil | + | Z+ | 30 |
| 19 | TV-3C | <i>Bacillus pumilus</i> | 0.464 | Van | Çavdar | + | - | 40 |
| 20 | TV-3D | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.563 | Van | Çavdar | K+ | + | 40 |
| 21 | TV-53D | <i>Brevibacillus choshinensis</i> | 0.689 | Van | Taraxacum | K+ | K+ | 30 |
| 22 | TV-54A | <i>Cellulomonas turbata</i> | 0.597 | Van | Buğdaygil | K+ | - | 13 |
| 23 | TV-56F | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.457 | Van | Buğdaygil | + | + | 29 |
| 24 | TV-67C | <i>Bacillus pumilus</i> | 0.630 | Van | Ahududu | - | - | 35 |
| 25 | TV-6E | <i>Achromobacter xylosoxidans</i> | 0.717 | Van | Buğdaygil | K+ | + | 13 |
| 26 | TV-6F | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.831 | Van | Buğdaygil | K+ | - | 37 |
| 27 | TV-71C | <i>Pseudomonas agarici</i> | 0.345 | Van | Sedum | Z+ | Z+ | 13 |
| 28 | TV-73A | <i>Bacillus pumilus</i> | 0.650 | Van | Buğdaygil | K+ | + | 37 |
| 29 | TV-73F | <i>Bacillus pumilus</i> | 0.594 | Van | Buğdaygil | K+ | Z+ | 36 |
| 30 | TV-77B | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.483 | Van | Buğdaygil | K+ | - | 36 |
| 31 | TV-83A | <i>Bacillus pumilus</i> | 0.568 | Van | Maydanoz | K+ | - | 14 |
| 32 | TV-83D | <i>Bacillus atrophaeus</i> | 0.460 | Van | Maydanoz | K+ | - | 13 |
| 33 | TV-87A | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.467 | Van | Şekr panc. | + | - | 30 |
| 34 | TV-89E | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.690 | Van | Glayöl | K+ | - | 36 |
| 35 | TV-91C | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.474 | Van | Buğdaygil | + | Z+ | 24 |
| 36 | TV-93B | <i>Bacillus subtilis</i> | 0.732 | Van | Pancar | K+ | - | 38 |
| 37 | BFT | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.776 | Erzurum | Buğdaygil | + | Z+ | 12 |
| 38 | BRT | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.654 | Erzurum | Buğdaygil | + | Z+ | 12 |
| 39 | RO | <i>Bacillus megaterium</i> | 0.446 | Erzurum | Buğdaygil | + | Z+ | 12 |

MIS: Mikrobiyal tanı sistemi; BI: Benzerlik indeksi; N: Azot fiksasyonu; P: Fosfatı çözebilme; +: Pozitif; K+: Kuvvetli pozitif; -: Negatif; Z+: Zayıf pozitif

Çizelge 4'e göre 17 adet *B. megaterium*, 6 adet *B. subtilis*, 5 adet *B. pumilus*, 2 adet *B. atrophaeus*, 2 adet *P. agglomerans*, 1 adet *A. xylooxidans*, 1 adet *B. laevolacticus*, 1 adet *B. choshinensis*, 1 adet *C. turbata*, 1 adet *P. lentimorbus*, 1 adet *P. agarici* ve 1 adet *P. fluorescens* olmak üzere toplam 39 adet antagonist bakteri izolatı *in vivo* saksı denemelerinde kullanılmak üzere seçilmiştir. Seçilen bu bakteri izolatları, azot fiksasyonu, fosfatı çözebilme ve antifungal aktivite özelliklerinden en az bir yada bir kaçını bir arada gösterebilme özelliğine sahiptir.

Saksı denemelerinde antagonist bakterilerin buğday gelişimi ve hastalık gelişimi üzerine etkileri

Saksı denemelerindeki uygulamaların bitki gelişimi üzerine etkileri Çizelge 5'de verilmiştir.

Çizelge 5 incelendiğinde, bitki boyu kontrol olarak kullanılan sıvı taşıyıcının uygulandığı bitkilerde 28.50 cm, sadece patojen uygulamasında 26.56 cm olurken; diğer uygulamalarda bitki boyu 14.10 cm ile 36.43 cm arasında değişmiştir. Bitki boyundaki en büyük artış 17 nolu *B. pumilus* TV3C (36.43 cm) uygulamasından elde edilmiş ve bunu sırası ile *P. agglomerans* RK-79 (35.41 cm), *B. megaterium* TV-56F (34.93 cm) ve *B. megaterium* TV91C (34.24 cm) izolatları takip etmiştir (Şekil 4).

Ortalama yaprak sayısı sıvı taşıyıcının uygulandığı ve sadece patojen uygulamasında 3.83 ve 3.62 adet olurken; diğer uygulamalarda 1.87 ile 4.99 adet arasında değişmiştir. Bitki yaprak sayısındaki en büyük artış 24 nolu *B. megaterium* TV-91C (4.99 adet) uygulamasından elde edilmiş ve bunu *B. megaterium* TV-56F (4.87 adet), *B. atrophaeus* TV-83D (4.83 adet) ve *B. pumilus* TV-3C (4.79 adet) izolatları takip etmiştir (Şekil 5).

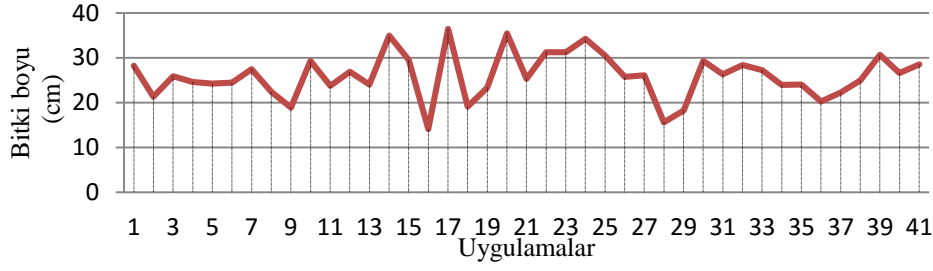
Bitki yan kök sayısı, sıvı taşıyıcı uygulamasında 5.18 adet, sadece patojen uygulamasında 4.93 adet olmuştur. Diğer uygulamalarda bu sayı 3.87 ile 5.66 adet arasında değişmiştir. Yan kök sayısındaki en büyük artış 14 no'lu *B. megaterium* TV-56F (6.31 adet) uygulamasından elde edilmiştir. Bu izolatı *P. agglomerans* RK-92 (5.66 adet), *B. atrophaeus* TV-83D (5.50 adet) ve *B. megaterium* TV-87A (5.41 adet) izolatları takip etmiştir (Şekil 6).

Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması

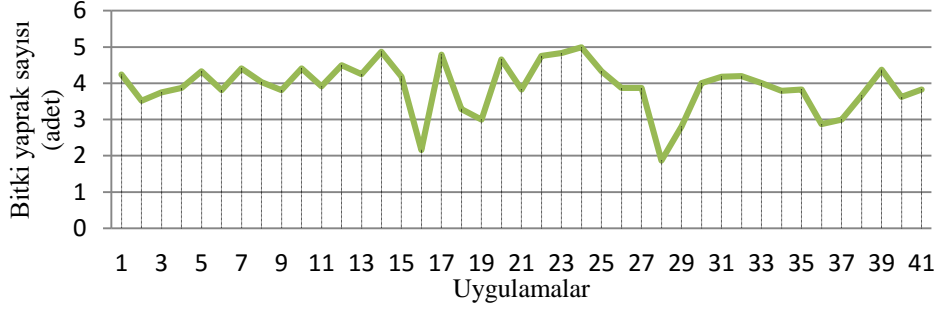
Çizelge 5. Antagonist bakteri izolatlarının bazı bitki gelişim parametreleri üzerine etkisi

| Sıra no | İzolat | Bakteri türü | BB | YS | KS | YA | TKKA | TKGA |
|---------|---------|-------------------------|-------|------|------|-------|-------|-------|
| 1 | TV 103B | <i>B. megaterium</i> | 28.24 | 4.24 | 5.22 | 0.330 | 0.017 | 0.122 |
| 2 | BRT | <i>B. megaterium</i> | 21.33 | 3.52 | 4.22 | 0.160 | 0.013 | 0.076 |
| 3 | TV 61C | <i>B. megaterium</i> | 25.87 | 3.75 | 4.75 | 0.255 | 0.020 | 0.121 |
| 4 | TV 6E | <i>A. xylooxidans</i> | 24.58 | 3.87 | 4.29 | 0.257 | 0.011 | 0.061 |
| 5 | TV 87A | <i>B. megaterium</i> | 24.24 | 4.33 | 5.41 | 0.280 | 0.012 | 0.078 |
| 6 | TV 54A | <i>C. turbata</i> | 24.43 | 3.81 | 4.68 | 0.232 | 0.025 | 0.129 |
| 7 | TV 73A | <i>B. pumilus</i> | 27.45 | 4.41 | 5.33 | 0.352 | 0.024 | 0.134 |
| 8 | TV 67C | <i>B. pumilus</i> | 22.37 | 4.03 | 4.70 | 0.235 | 0.021 | 0.116 |
| 9 | TV 77B | <i>B. subtilis</i> | 18.91 | 3.81 | 5.20 | 0.176 | 0.011 | 0.064 |
| 10 | TV 3D | <i>B. megaterium</i> | 29.33 | 4.41 | 5.33 | 0.383 | 0.018 | 0.112 |
| 11 | TV 93B | <i>B. subtilis</i> | 23.70 | 3.91 | 4.83 | 0.236 | 0.015 | 0.075 |
| 12 | TV 73F | <i>B. pumilus</i> | 26.87 | 4.50 | 5.25 | 0.382 | 0.011 | 0.068 |
| 13 | TV 89E | <i>B. subtilis</i> | 24.00 | 4.25 | 4.25 | 0.272 | 0.006 | 0.031 |
| 14 | TV 56F | <i>B. megaterium</i> | 34.93 | 4.87 | 6.31 | 0.605 | 0.020 | 0.123 |
| 15 | TV 53D | <i>B. choshinensis</i> | 29.52 | 4.18 | 4.89 | 0.435 | 0.025 | 0.167 |
| 16 | RO | <i>B. megaterium</i> | 14.10 | 2.16 | 5.25 | 0.107 | 0.005 | 0.026 |
| 17 | TV 3C | <i>B. pumilus</i> | 36.43 | 4.79 | 5.25 | 0.757 | 0.034 | 0.217 |
| 18 | TV 59D | <i>B. megaterium</i> | 19.10 | 3.29 | 4.39 | 0.183 | 0.016 | 0.102 |
| 19 | TV 57A | <i>B. megaterium</i> | 23.33 | 3.00 | 5.33 | 0.265 | 0.086 | 0.079 |
| 20 | RK-79 | <i>P. agglomerans</i> | 35.41 | 4.66 | 4.58 | 0.530 | 0.020 | 0.100 |
| 21 | TV 13C | <i>B. megaterium</i> | 25.33 | 3.83 | 4.33 | 0.360 | 0.020 | 0.118 |
| 22 | TV 22B | <i>B. megaterium</i> | 31.25 | 4.75 | 5.08 | 0.476 | 0.027 | 0.176 |
| 23 | TV 83D | <i>B. atrophaeus</i> | 31.25 | 4.83 | 5.50 | 0.652 | 0.018 | 0.092 |
| 24 | TV 91C | <i>B. megaterium</i> | 34.24 | 4.99 | 5.00 | 0.695 | 0.037 | 0.246 |
| 25 | TV 71C | <i>P. agarici</i> | 30.49 | 4.33 | 4.91 | 0.451 | 0.021 | 0.120 |
| 26 | TV 40D | <i>B. atrophaeus</i> | 25.75 | 3.87 | 4.68 | 0.357 | 0.023 | 0.133 |
| 27 | TV 32C | <i>B. megaterium</i> | 26.08 | 3.87 | 4.58 | 0.467 | 0.016 | 0.097 |
| 28 | BFT | <i>B. megaterium</i> | 15.62 | 1.87 | 3.87 | 0.040 | 0.004 | 0.023 |
| 29 | TV 13B | <i>B. subtilis</i> | 18.27 | 2.81 | 5.08 | 0.140 | 0.019 | 0.105 |
| 30 | TV 6F | <i>B. subtilis</i> | 29.33 | 4.00 | 4.16 | 0.292 | 0.011 | 0.093 |
| 31 | FDG-37 | <i>P. fluorescens</i> | 26.30 | 4.18 | 5.22 | 0.282 | 0.023 | 0.142 |
| 32 | TV 6D | <i>B. megaterium</i> | 28.35 | 4.20 | 5.35 | 0.342 | 0.030 | 0.188 |
| 33 | TV 30C | <i>P. lentimorbus</i> | 27.25 | 4.00 | 4.00 | 0.297 | 0.013 | 0.090 |
| 34 | TV 83A | <i>B. pumilus</i> | 23.95 | 3.79 | 4.54 | 0.220 | 0.011 | 0.073 |
| 35 | KBA-10 | <i>B. megaterium</i> | 23.99 | 3.83 | 4.72 | 0.237 | 0.012 | 0.102 |
| 36 | TV 12H | <i>B. subtilis</i> | 20.25 | 2.87 | 3.87 | 0.127 | 0.004 | 0.030 |
| 37 | TV 96B | <i>B. laevolacticus</i> | 22.25 | 3.00 | 4.25 | 0.165 | 0.011 | 0.060 |
| 38 | TV 20E | <i>B. megaterium</i> | 24.93 | 3.66 | 4.47 | 0.227 | 0.015 | 0.092 |
| 39 | RK-92 | <i>P. agglomerans</i> | 30.66 | 4.37 | 5.66 | 0.432 | 0.022 | 0.150 |
| 40 | Kontrol | Sadece patojen | 26.56 | 3.62 | 4.93 | 0.262 | 0.024 | 0.158 |
| 41 | Kontrol | Sıvı taşıyıcı | 28.50 | 3.83 | 5.18 | 0.272 | 0.020 | 0.121 |

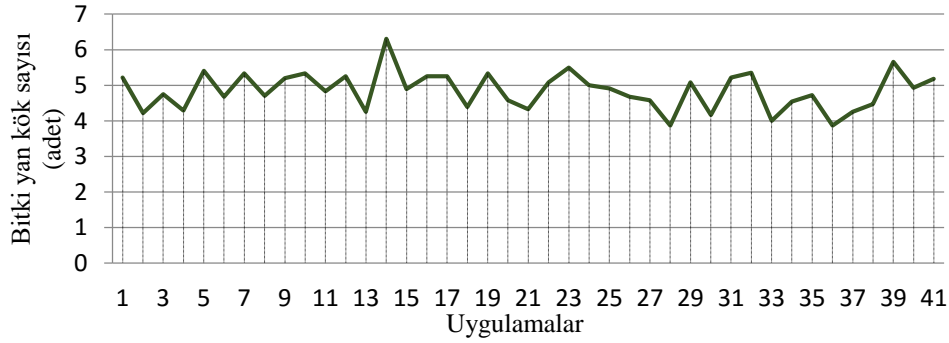
BB: Bitki boyu (cm); YS: Yaprak sayısı (adet); KS: Kök sayısı (adet); YA: Yaş ağırlık (g/bitki); TKKA: Toplam kuru kök ağırlığı (g); TKGA: Toplam kuru gövde ağırlığı (g)



Şekil 4. Saksı denemelerinde uygulamaların bitki boyu üzerine etkileri.



Şekil 5. Saksı denemelerinde uygulamaların bitki yaprak sayısı üzerine etkileri.



Şekil 6. Saksı denemelerinde uygulamaların bitki yan kök sayısı üzerine etkileri.

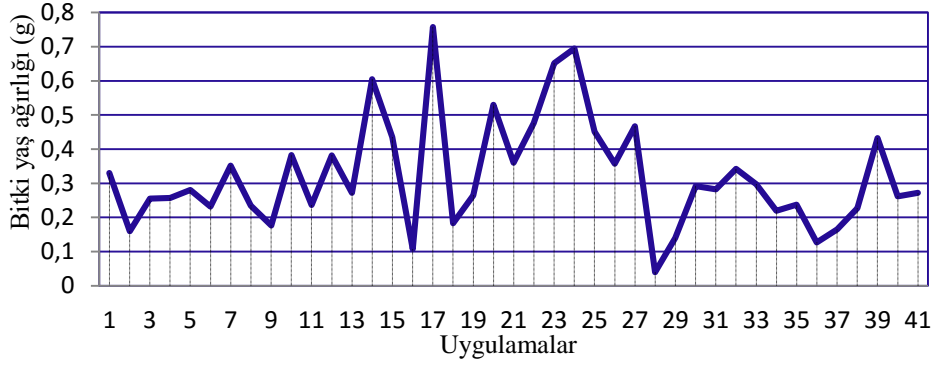
Yaş ağırlık değerleri, sıvı taşıyıcı ve sadece patojen uygulamasında sırası ile 0.272 ve 0.262 g olmuştur. Maksimum yaş ağırlık 17 no'lu *B. pumilus* TV-3C (0.757 g) uygulamasından elde edilmiştir. Bu izolatu *B. megaterium* TV-91C (0.695 g), *B. atrophaeus* TV-83D (0.652 g) ve *B. megaterium* TV-56F (0.605 g) takip etmiştir (Şekil 7).

Toplam kuru kök ağırlığı, sıvı taşıyıcıda 0.020 g ve sadece patojen uygulamasında ise 0.024 g olmuştur. Maksimum kuru kök ağırlığı ise 19 no'lu *B. megaterium* TV-57A (0.086 g) uygulamasından elde edilmiştir. Bu izolatu *B. megaterium* TV-91C (0.037 g), *B. pumilus* TV-3C (0.034 g) ve *B. megaterium* TV-22B (0.027 g) takip etmiştir (Şekil 8).

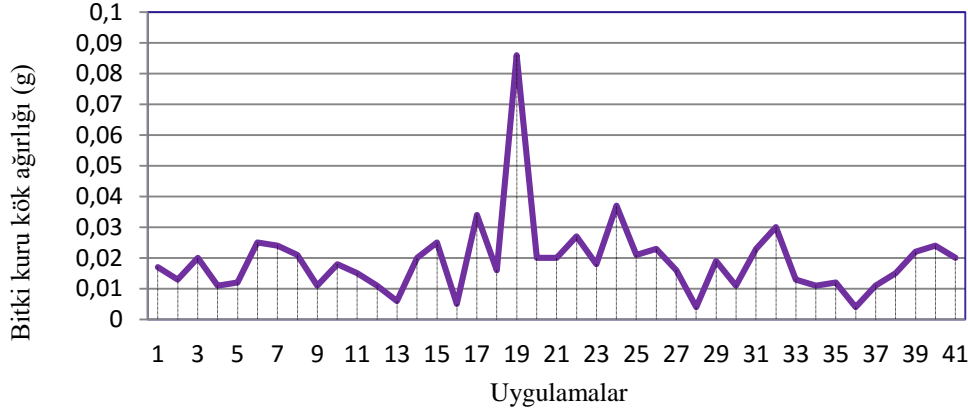
Toplam kuru gövde ağırlığı ise; sıvı taşıyıcıda 0.121 g, sadece patojen uygulamasında ise 0.158 g olmuştur. Maksimum toplam kuru gövde ağırlığı 24

Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyoajan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması

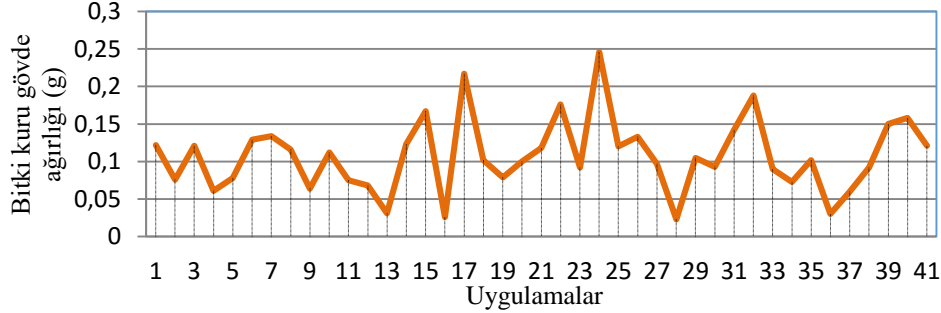
no'lu *B. megaterium* TV-91C (0.246 g) uygulamasından elde edilmiş bu izolatı *B. pumilus* TV-3C (0.217 g), *B. megaterium* TV-6D (0.188 g) ve *B. megaterium* TV-22B (0.176 g) izolatları takip etmiştir (Şekil 9).



Şekil 7. Saksı denemelerinde uygulamaların bitki yaş ağırlığı üzerine etkileri.



Şekil 8. Saksı denemelerinde uygulamaların bitki kuru kök ağırlığı üzerine etkileri.



Şekil 9. Saksı denemelerinde uygulamaların toplam kuru gövde ağırlığı üzerine etkileri.

Patojene karşı etki değerlendirmesi ve hastalık şiddeti değerlendirmesi Çizelge 6'da verilmiştir. Antagonist bakterilerin saksı denemesinde *B. sorokiniana*'ya karşı etkileri ise Şekil 10'da verilmiştir.

Çizelge 6. Saksı denemelerinde antagonist bakteri izolatlarının *B. sorokiniana*'ya karşı etki ve hastalık şiddeti değerlendirilmesi

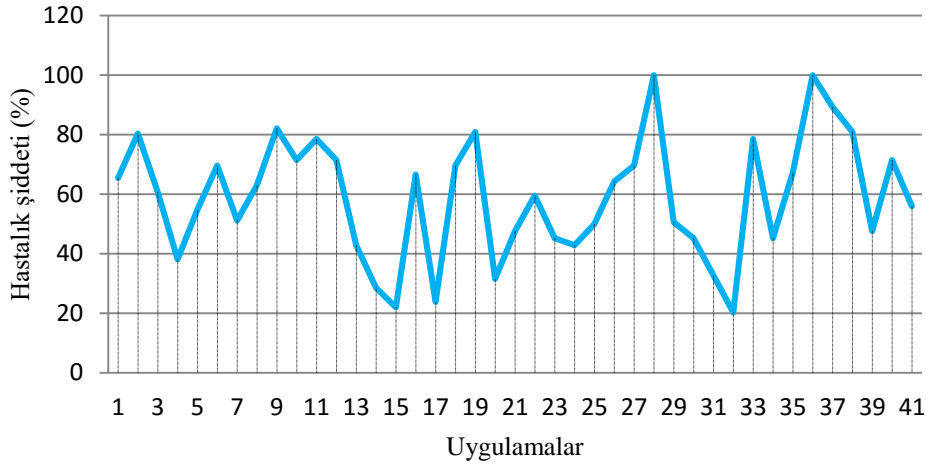
| Sıra no | İzolasyon no | Bakteri türü | Patojene karşı etki değerlendirilmesi | | | | Patojene karşı hastalık şiddeti değerlendirilmesi | | | |
|---------|--------------|------------------------|---------------------------------------|------------------|---------------------|------|---|------------------|---------------------|------|
| | | | n | Minimum Maksimum | Ortalama± Std. Hata | Grup | n | Minimum Maksimum | Ortalama± Std. Hata | Grup |
| 1 | TV 103B | <i>B. megaterium</i> | 4 | 14.29-57.15 | 32.90±8.92 | c-j | 4 | 42.85-85.71 | 65.47±8.99 | b-1 |
| 2 | BRT | <i>B. megaterium</i> | 4 | 0.00-28.58 | 17.77±6.17 | g-k | 4 | 71.42-100.00 | 80.35±6.76 | a-f |
| 3 | TV 61C | <i>B. megaterium</i> | 4 | 28.58-57.15 | 37.79±6.74 | a-j | 4 | 42.85-71.42 | 60.71±6.84 | b-k |
| 4 | TV 6E | <i>A. xylooxidans</i> | 4 | 28.58-85.72 | 60.53±14.80 | a-e | 4 | 14.28-71.42 | 38.09±14.29 | g-k |
| 5 | TV 87A | <i>B. megaterium</i> | 4 | 0.00-66.67 | 45.24±15.25 | a-j | 4 | 33.33-100.00 | 54.76±15.25 | b-k |
| 6 | TV 54A | <i>C. turbata</i> | 4 | 19.05-35.72 | 28.73±3.54 | c-j | 4 | 71.42-100.00 | 78.57±7.15 | a-f |
| 7 | TV 73A | <i>B. pumilus</i> | 4 | 5.26-76.20 | 46.56±15.97 | a-i | 4 | 23.80-85.71 | 51.19±14.07 | c-k |
| 8 | TV 67C | <i>B. pumilus</i> | 3 | 28.58-47.62 | 37.68±5.51 | a-j | 3 | 52.38-71.42 | 60.31±5.72 | b-k |
| 9 | TV 77B | <i>B. subtilis</i> | 4 | 0.00-28.58 | 15.61±7.57 | h-k | 4 | 71.42-100.00 | 82.14±6.84 | a-d |
| 10 | TV 3D | <i>B. megaterium</i> | 4 | 21.06-28.58 | 26.70±1.88 | d-j | 4 | 71.42-71.42 | 71.42±0.00 | b-h |
| 11 | TV 93B | <i>B. subtilis</i> | 4 | 71.26-85.72 | 78.39±3.34 | a | 4 | 0.00-28.58 | 21.44±7.15 | f-k |
| 12 | TV 73F | <i>B. pumilus</i> | 4 | 21.86-42.86 | 29.50±3.68 | c-j | 4 | 71.42-71.42 | 71.42±0.00 | b-h |
| 13 | TV 89E | <i>B. subtilis</i> | 3 | 21.06-85.72 | 45.12±20.42 | a-i | 3 | 14.28-71.42 | 52.37±19.05 | c-k |
| 14 | TV 56F | <i>B. megaterium</i> | 4 | 52.64-85.72 | 70.31±8.95 | a-d | 4 | 21.06-28.58 | 26.70±1.88 | d-j |
| 15 | TV 53D | <i>B. choshinensis</i> | 4 | 42.86-90.48 | 70.66±10.01 | a-c | 4 | 9.52-57.14 | 29.04±10.11 | i-k |
| 16 | RO | <i>B. megaterium</i> | 4 | 5.26-71.43 | 31.08±14.28 | c-j | 4 | 28.57-85.71 | 66.66±13.04 | b-1 |
| 17 | TV 3C | <i>B. pumilus</i> | 4 | 47.62-85.72 | 75.90±7.29 | ab | 4 | 14.36-62.38 | 31.44±10.20 | g-k |
| 18 | TV 59D | <i>B. megaterium</i> | 4 | 21.06-42.86 | 28.50±3.95 | c-j | 4 | 57.14-78.57 | 69.99±3.50 | b-1 |
| 19 | TV 57A | <i>B. megaterium</i> | 2 | 0.00-38.10 | 19.05±19.05 | i-k | 2 | 61.90-100.00 | 80.95±19.05 | a-c |
| 20 | RK-79 | <i>P. agglomerans</i> | 4 | 35.72-85.72 | 68.08±11.62 | a-e | 4 | 14.28-64.28 | 31.54±11.80 | g-k |
| 21 | TV 13C | <i>B. megaterium</i> | 2 | 28.58-76.20 | 52.39±23.81 | a-g | 2 | 23.80-71.42 | 47.61±23.81 | d-k |

Çizelge 6'ın devamı

| Sıra no | İzolasyon no | Bakteri türü | Patojene karşı etki değerlendirilmesi | | | | Patojene karşı hastalık şiddeti değerlendirilmesi | | | |
|---------|--------------|-------------------------|---------------------------------------|------------------|---------------------|------|---|------------------|---------------------|------|
| | | | n | Minimum Maksimum | Ortalama± Std. Hata | Grup | n | Minimum Maksimum | Ortalama± Std. Hata | Grup |
| 22 | TV 22B | <i>B. megaterium</i> | 3 | 21.06-64.29 | 37.98±13.33 | a-j | 3 | 35.71-71.42 | 59.52±11.90 | b-k |
| 23 | TV 83D | <i>B. atrophaeus</i> | 4 | 19.05-85.72 | 54.39±17.76 | a-g | 4 | 14.28-80.95 | 45.23±17.98 | f-k |
| 24 | TV 91C | <i>B. megaterium</i> | 3 | 42.10-85.72 | 58.48±13.71 | a-f | 3 | 14.28-52.38 | 39.68±12.70 | g-k |
| 25 | TV 71C | <i>P. agarici</i> | 4 | 19.05-63.16 | 49.13±10.13 | a-i | 4 | 33.33-80.95 | 50.00±10.56 | c-k |
| 26 | TV 40D | <i>B. atrophaeus</i> | 4 | 28.58-42.86 | 34.22±3.48 | b-j | 4 | 57.14-71.42 | 64.28±4.12 | b-j |
| 27 | TV 32C | <i>B. megaterium</i> | 4 | 0.00-60.53 | 34.97±11.07 | c-j | 4 | 35.71-100.00 | 64.28±11.52 | b-i |
| 28 | BFT | <i>B. megaterium</i> | 4 | 0.00-0.00 | 0.00±0.00 | k | 4 | 100.00-100.00 | 100.00±0.00 | a |
| 29 | TV 13B | <i>B. subtilis</i> | 3 | 28.95-78.58 | 51.72±14.47 | a-h | 3 | 21.42-64.28 | 46.03±12.77 | d-k |
| 30 | TV 6F | <i>B. subtilis</i> | 3 | 28.58-63.16 | 49.63±10.67 | a-i | 3 | 33.33-71.42 | 49.20±11.44 | d-k |
| 31 | FDG-37 | <i>P. fluorescens</i> | 4 | 38.10-85.72 | 66.39±10.54 | a-e | 4 | 14.28-61.90 | 32.73±10.49 | g-k |
| 32 | TV 6D | <i>B. megaterium</i> | 4 | 71.43-85.72 | 79.39±3.38 | a | 4 | 14.28-28.57 | 20.23±3.57 | k |
| 33 | TV 30C | <i>P. lentimorbus</i> | 3 | 0.00-36.84 | 12.28±12.28 | jk | 3 | 57.14-100.00 | 85.71±14.29 | ab |
| 34 | TV 83A | <i>B. pumilus</i> | 4 | 28.58-85.72 | 53.64±11.88 | a-g | 4 | 14.28-71.42 | 45.23±11.90 | e-k |
| 35 | KBA-10 | <i>B. megaterium</i> | 4 | 0.00-66.67 | 31.05±13.67 | e-j | 4 | 33.33-100.00 | 67.26±13.69 | b-g |
| 36 | TV 12H | <i>B. subtilis</i> | 4 | 0.00-0.00 | 0.00±0.00 | k | 4 | 100.00-100.00 | 100.00±0.00 | a |
| 37 | TV 96B | <i>B. laevolacticus</i> | 3 | 0.00-14.29 | 6.52±4.17 | jk | 3 | 85.71-100.00 | 90.47±4.76 | ab |
| 38 | TV 20E | <i>B. megaterium</i> | 4 | 0.00-38.10 | 19.05±8.70 | g-k | 4 | 61.90-100.00 | 80.95±8.70 | a-e |
| 39 | RK-92 | <i>P. agglomerans</i> | 4 | 28.58-84.22 | 52.01±11.64 | a-g | 4 | 14.28-71.42 | 47.62±11.98 | d-k |
| 40 | Kontrol | Sadece patojen | 4 | | | | 4 | 90.47-100.00 | 98.09±1.91 | a |

*Etki değerlendirilmesi (F=4,442; p<0,01), hastalık şiddeti değerlendirilmesi (F=5,214; p<0,01)

Çizelge 6. incelendiğinde; patojene karşı etki değerlendirmesinde en düşük etki ortalama 0.00'lık değer ile *B. subtilis* TV-12H ve *B. megaterium* BFT uygulamasından elde edilirken, en yüksek değer 79.39 ile *B. megaterium* TV-6D uygulamasından elde edilmiştir. Bu izolatu *B. subtilis* TV-93B (78.39), *B. pumilus* TV-3C (75.90), *B. choshinensis* TV-53D (70.66), *B. megaterium* TV-56F (70.31) ve *P. fluorescens* FDG-37 (66.39) izolatları takip etmiştir. Patojene karşı hastalık şiddeti değerlendirmesinde ise; en düşük hastalık oranı ortalama %20.23 ile *B. megaterium* TV-6D uygulamasından elde edilmiştir. Bu izolatu *B. subtilis* TV-93B (%21.44), *B. megaterium* TV-56F (%26.70), *B. choshinensis* TV-53D (%29.04), *B. pumilus* TV-3C (%31.44) ve *P. fluorescens* FDG-37 (%32.73) izolatları takip etmiştir. Hastalık şiddeti değerleri sıvı taşıyıcı ve sadece patojen uygulamasında sırası ile 55.94 ve 71.42 olmuştur. En düşük hastalık şiddeti değeri 32 no'lu *B. megaterium* TV-6D (%20.23) uygulamasından elde edilmiş olup bunu sırası ile *B. choshinensis* TV-53D (%22.02) ve *B. pumilus* TV-3C (%23.80) uygulaması takip etmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. Saksı denemelerinde uygulamaların hastalık şiddeti üzerine etkileri.

Otuzdokuz adet antagonist bakteri uygulamasının *B. sorokiniana*'ya karşı etkisinin test edildiği saksı denemelerinde etkili bulunan *B. megaterium* TV-6D, *B. choshinensis* TV-53D ve *B. pumilus* TV-3C izolatlarının buğday bitkisinde kök gelişimi ve kök çürüklüğü hastalığına etkisi Şekil 11'de verilmiştir.

Buğday kök çürüklüğüne neden olan *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)'ya karşı PGPR ve biyojan bakterileri kullanılarak kontrollü koşullarda biyolojik mücadele imkanlarının araştırılması





Şekil 11. Bazı antagonist bakterilerin *B.sorokiniana*'ya karşı saksı denemelerindeki etkisi (1-39: Bakteri uygulamaları, Ş: Sadece patojen, K: Sadece taşıyıcı).

TARTIŞMA VE KANI

Daha önce yapılan saksı ve arazi çalışmalarında buğdayda bitki beslemesi üzerine etkili olan çok sayıda bakteri izolatının hububatta kök çürüklüğüne neden olan *B.*

sorokiniana'ya karşı biyolojik mücadelede kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Yapılan *in vitro* petri denemelerinde *B. sorokiniana* patojenine karşı etkili bulunan toplam 39 adet antagonist bakterinin hastalığın gelişimi üzerine de etkileri test edilmiştir.

In vitro koşullarda patojene karşı petride oluşturdukları inhibasyon zonu açısından 40 mm inhibasyon zonu oluşturarak en etkili bulunan izolatlar *P. fluorescens* FDG-37, *B. megaterium* KBA-10, TV-3D ve TV-6D, *P. agglomerans* RK-79 ve RK-92 ve *B. pumilus* TV-3C izolatları olmuştur. *In vivo* koşullarda patojene karşı etki değerlendirme sonucuna göre; en etkili izolat %79.39 engelleme oranı ile 32 no'lu *B. megaterium* TV6D izolatı olmuştur. Bu izolatı, %78.39 engelleme ile 11 no'lu *B. subtilis* TV-93B, %75.90 engelleme ile 17 no'lu *B. pumilus* TV3C, %70.66 engelleme ile 15 no'lu *B. choshinensis* TV53D izolatı ve %70.31 engelleme ile 14 no'lu *B. megaterium* TV56F izolatı takip etmiştir. *In vivo* da etkili bulunan bu izolatların *in vitro* petri denemelerinde 30-40 mm arasında inhibasyon zonu oluşturdukları saptanmıştır. Çalışmada *in vitro* ve *in vivo* sonuçları arasında bir uyum görünse de pratikte bu uyum her zaman beklenen bir durum değildir (Kotan 1997, Kotan 2002, Kotan et al. 2004, Karagöz 2009).

B. licheniformis ve *B. subtilis* türlerinin *B. sorokiniana*'ya karşı en etkili türler olduğu ve test edilen bu bakteriyel biyoajanların fungus hiflerinde nekrozlara sebep oldukları, konidi oluşumunu engelledikleri, klamidospore formasyonunda ve sitoplazmada düzensizliklere neden oldukları belirlenmiştir (Alippi et al. 2000). Başka bir çalışmada ise; *B. sorokiniana*'nın biyolojik kontrolünde etkili bulunan *Stenotrophomonas maltophilia* strain C3 bakteri izolatının en az 2 farklı kitinaz enzimi ürettiği kromatografik olarak belirlenmiş olup, bu enzimlerin biyolojik mücadelede etkili olduğu belirtilmiştir (Zhang et al. 2001). Bitki kök rizosferindeki patojenlerin bastırılmasında kullanılan PGPR ya da biyoajan bakterilerinin rekabet özelliklerinin de biyoajan organizmaya önemli avantaj sağladığı bilinmektedir. Nitekim yapılan bir çalışmada; soya ve bezelye tohumlarından sızan etanol ve acetaldehidin'in *Phythium ultimum*'un sporangiumları tarafından emilerek hifsel gelişiminin teşvik edildiği görülmüştür. *P. putida* N1R ile soya ve bezelye tohumlarının muamelesi sonucu, ortamdaki etanol karbon kaynağına dönüştürülerek, patojen organizmanın sporangial üremesi ve hif gelişimi zayıflatılmış ve bu yolla kontrol sağlanmıştır (Paulitz 1991). Yapmış olduğumuz bu çalışmada da etkili bulunan izolatların rekabetçi özelliklerinden ve kitinaz aktivitelerinden dolayı patojeni baskıladıkları düşünülmektedir. Bunun aydınlatılabilmesi için ileride daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

B. subtilis TV-93B, *B. megaterium* TV56F, *B. choshinensis* TV53D, *B. pumilus* TV3C ve *B. megaterium* TV6D izolatların tamamı buğdayda bitki boyu ve yaprak sayısında sadece patojen uygulaması yapılan kontrole göre artışlara sebep olmuştur. *B. megaterium* TV56F, *B. pumilus* TV3C ve *B. megaterium* TV6D

izolatları yan kök sayısı ve toplam yaş ağırlıkta; *B. choshinensis* TV53D, *B. pumilus* TV3C ve *B. megaterium* TV6D izolatları ise toplam kuru kök ve toplam kuru gövde ağırlığında artışa sebep olmuşlardır. *B. subtilis* TV-93B dışındaki diğer izolatların tamamının (*B. megaterium* TV56F, *B. choshinensis* TV53D, *B. pumilus* TV3C ve *B. megaterium* TV6D) hastalık şiddetini önemli seviyede azalttığı belirlenmiştir. Bu izolatlardan *B. subtilis* TV-93B ve *B. pumilus* TV-3C izolatları sadece azotu fikse etme özelliğine sahipken, diğer izolatların tamamının azotu fikse etme özelliğinin yanında fosfatı çözebilme özelliğine de sahip olduğu tespit edilmiştir. Buğday bitkisinde vejetatif aksamdaki elde edilen olumlu etkilerin bir kısmının bakterilerin hormonal aktivitenin yanısıra azot fiksasyonu ve fosfat çözebilme özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim, Karagöz (2009) yaptığı çalışmada; bakteriyel organizmalar kullanarak marulda bakteriyel leke hastalığını kontrol ederken, aynı zamanda marul gelişimi üzerine de bu biyoajanların önemli katkılar sağlayarak yaş ve kuru ağırlık artışına sebep olduğunu belirlemiştir. PGPR bakterilerin başta azot fiksasyonu olmak üzere, fosfatı çözebilme, kalsiyumu çözebilme, demir alımına yardımcı olma, hormon üretimi, amino asit ve organik asit üretimi gibi etkileri sayesinde bir çok bitkide verim artışlarına sebep oldukları bilinmektedir. Buğdayda da arazide yapılacak denemelerde bu antagonistik bakterilerin verim üzerine etkinlikleri de test edilmesi gerekmektedir.

Ülkemizde hububatta PGPR bakterilerinin bitki gelişimi ve verim üzerine etkinliklerini belirlemek ve etkili bakteriyel izolatların etki mekanizmalarını aydınlatmak amacı ile yapılan çalışmalarda; *B. megaterium* M3, *B. subtilis* OSU142, *Azospirillum brasilense* Sp245 ve *Raoultella terrigena* bakteri uygulamalarının toprak enzimleri üzerinde de olumlu katkılarının olduğu belirlenmiştir (Turan et al. 2011). *B. megaterium* M3, *B. subtilis* OSU142, *Azospirillum brasilense* Sp245 ve *Raoultella terrigena* bakteri uygulamalarının buğday ve arpa bitkisi üzerinde bitki gelişimi üzerinde katkılarının yanı sıra bitki klorofil oranında artışlara ve bazı fizyolojik parametrelerde de pozitif yönde etkilere sebep olduğu saptanmıştır (Turan et al. 2012a).

Tohum inokulasyon yöntemi kullanılarak buğdayda yürütülen başka bir çalışmada, *B. megaterium* M3, *B. subtilis* OSU142 ve *Azospirillum brasilense* Sp245 bakteri izolatlarının inorganik fosfatı çözerek vejetatif gelişmede önemli katkılar sağladıkları ve verimde önemli artışlara sebep oldukları belirlenmiş, özellikle *B. megaterium* M3 izolatının bitki gelişimi üzerine önemli katkıları olduğu saptanmıştır (Turan et al. 2012b). *B. megaterium* M3, *B. subtilis* OSU142, *Azospirillum brasilense* Sp245 ve *Raoultella terrigena* bakteri uygulamalarının buğday ve arpa bitkisinin gelişimi üzerinde önemli katkılarının yanı sıra, don zararı ve bitkilerde sistemik dayanıklılık mekanizmasında görev alan bazı antioksidan enzim aktiviteleri üzerine de etkileri olduğu tespit edilmiştir (Turan et al. 2013). Çalışmada kullanılan antagonist bakteri izolatlarının etki mekanizmalarının da benzer olduğu düşünülmektedir.

Bitki boyu ve yaprak sayısındaki en büyük artışlar *B. pumilus* TV3C ve *P. agglomerans* RK-79 izolatlarından elde edilmiştir. Bu izolatların hastalık şiddetini de önemli seviyede azalttığı belirlenmiştir. Lindh et al. (1991) yapmış oldukları bir çalışmada insan, hayvan ve bitkisel dokulardan izole ettikleri 65 *P. agglomerans* straininden sadece bitkilerden izole edilen 22 strainin alpha-methyl-glycoside'den geç asit üretmeleri yönüyle diğerlerinden farklı bir fenotipik özellik gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bu bakterinin sıcaklıktaki düşüşü takiben intracelluler proteinlerinin oranında bir artış olduğu ve bunun bakterinin soğuga adaptasyonunda rol oynadığı bildirilmiştir. Koda et al. (2000) ve Nunes et al. (2001) yaptıkları bir çalışmada *P. agglomerans* strain CPA-2'nin soğuk depo şartlarında armutlarda problem oluşturan *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum*'a karşı çok iyi koruma sağladığını tespit etmişlerdir. Bu özelliğinden dolayı *P. agglomerans*'ın Doğu Anadolu gibi çok soğuk iklime sahip bölgelerde dahi hububat ekim alanlarında kolaylıkla kullanılabilceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak; kök çürüklüğü hastalıklarına karşı mevcut çeşitlerin tamamen dayanıklı olmaması, çevre faktörlerinin etkisi ve hastalık etmenlerinin kompleks yapısı nedeniyle, kök hastalıklarının mücadelesi için entegre bir mücadele yönteminin uygulanması gerekmektedir. Bu yöntem; dayanıklı çeşit, münavebe, bitki yetiştirme teknikleri, biyolojik mücadele ve kimyasal mücadeleyi içine alan entegre bir mücadele yöntemi olmak durumundadır. Çalışma kapsamında, kök ve kök boğazı çürüklüğü hastalık etmenlerinden *B. sorokiniana*'ya karşı biyolojik mücadelede kullanılabilcek etkili antagonist bakteri izolatları (*B. megaterium* TV-6D, *B. choshinensis* TV-53D ve *B. pumilus* TV-3C) belirlenmiştir. Bu izolatların aynı zamanda bitkinin vejetatif gelişimi üzerine de etkili oldukları tespit edilmiştir. Hem bitki gelişimi, hem de hastalık şiddeti üzerine etkili bulunan bu izolatların tek başına ya da kombinasyonlarının tarla şartlarında da test edilmesi gerekmektedir. Farklı lokasyonlarda kurulacak denemeler sonucunda, hububat tarımında kök hastalıklarının önlenebileceği ve bitki gelişimi üzerine etkili olan bir biyolojik ürünün geliştirilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Agrios G. N. 1997. Plant pathology. Department of Plant Pathology, University of Florida, Academic Press, p 635.
- Aktaş H. 2001. Önemli hububat hastalıkları ve sürvey yöntemleri, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Yayını, 74 s., Ankara.
- Aktaş B. 2010. Kuru koşullar için ıslah edilmiş bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinin karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora tezi, s 126.
- Alippi A. M., Perelló A. E., Sisterna M. N., Greco N. M. and Cordo C. A. 2000. Remove from marked records potential of spore-forming bacteria as biocontrol agents of

- wheat foliar diseases under laboratory and greenhouse conditions. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 107 (2): 155-169.
- Anonim 2012. Türkiye İstatistik Kurumu verileri. www.tuik.gov.tr (Erişim tarihi: 28.07.2015)
- Anonymous 2012. Food and Agricultural Organization (FAO). www.fao.org (Erişim tarihi: 28.07.2015)
- Bora T. ve Özaktan H. 1998. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Anabilim Dalı, İzmir. s 205.
- Conner R. L. 1990. Interrelationship of cultivar reactions to common root rot, black point, and spot blotch in spring wheat. *Plant Disease*, 74: 224-227.
- Couture L. and Sutton J. C. 1978. Control of spot blotch in barley by fungicide applications timed according to weather factors. *Phytoprotection*, 59: 65-75.
- Demirci F. 2003. Bazı buğday çeşitlerinin önemli kök ve kök boğazı hastalık etmenleri (*Fusarium* spp., *Bipolaris sorokiniana*)'e karşı reaksiyonlarının belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 9 (4), 460-466.
- Dickson J. G. 1956. *Diseases of Field Crops*, McGraw-Hill Book Company, Inc. Newyork (2nd ed.), 517.
- Duczek L. J., Verma P. R. and Spurr D. T. 1985. Effect of inoculum density of *Cochliobolus sativus* on common root rot of wheat and barley. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 7: 382-386.
- Eken C. ve Demirci E. 1998. Erzurum yöresinde buğday ve arpa ekim alanlarında *Drechslera sorokiniana*'nın yayılışı, morfolojisi ve patojenitesi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 22 (2), 175-180.
- Ekmekci Y. and Terzioglu S. 1998. Interactive effects of vernalization, day length and light intensity on the number of leaves and flag leaf area in some wheat cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 22: 303-312.
- Harman G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol: Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84(4), 377-393.
- Karagöz K. 2009. Bazı PGPR bakterilerin marulun gelişimi ve Marul Yaprak Leke hastalığı üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 95 s.
- Karman M. 1971. *Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları*. 279s., Bornova-İzmir.
- Koda N., Aoki M., Kawahara H., Yamade K. and Obata H. 2000. Characterization and properties of intracellular proteins after cold acclimation of the ice-nucleating bacterium *Pantoea agglomerans* (*Erwinia herbicola*) IFO12686. *Cryobiology*, 41 (3), 195-203.
- Kotan R. 1997. Biber ve domatesteki bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye.)'nın biyolojik ve kimyasal kontrolü. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Erzurum, 49 s.

- Kotan R. 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metotlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Erzurum, 217 s.
- Kotan R., Sahin F. and Ala A. 2004. Nutritional similarity in carbon source utilization of *Erwinia amylovora* and its potential biocontrol agents. Journal of Turkish Phytopathology, 33 (1-3), 25-38.
- Kün E. 1988. Serin iklim tahılları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No:1032 Ders Kitabı, Ankara, 322 s.
- Ledingham R.J., Atkinson T.G., Horricks J.S., Mills J.T., Piening L.J. and Tinline R.D. 1973. Wheat losses due to common root rot in the prairie provinces of Canada, 1969-1971. Canadian Plant Disease Survey, 53: 113-122.
- Lindh E., Kjaeldgaard P., Frederiksen W. and Ursing J. 1991. Phenotypical properties of *Enterobacter agglomerans* (*Pantoea agglomerans*) from human, animal and plant sources. APMIS: Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica, 99 (4), 347-352.
- Luz W.C. and Bergstrom G.C. 1986. Temperature-sensitive development of spot blotch in spring wheat cultivars differing in resistance. Fitopatologia Brasileira, 11: 197-204.
- Nunes C., Usall J., Teixido N. and Vinas I. 2001. Biological control of postharvest pear disease using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2. International Journal of Food Microbiology, 70 (1-2), 53-61.
- Paulitz T. C. 1991. Effect of *Pseudomonas putida* on the stimulation of *Pythium ultimum* by seed volatiles of pea and soybean. Phytopathology, 81: 1282-1287.
- Piening L.J., Atkinson T.G., Horricks J.S., Ledingham R.J., Mills J.T. and Tinline R.D. 1976. Barley losses due to common root rot in the prairie provinces of Canada, 1970-1972. Canadian Plant Disease Survey, 56: 41-45.
- Szekeres A. 2006. Echophysiological and molecular investigation of *Trichoderma* strains isolated from winter wheat rhizosphere. Acta Biologica Szeged, 49: 61.
- Tinline R.D. and Ledingham R.J. 1979. Yields losses in wheat and barley cultivars from common root rot in field tests. Canadian Journal of Plant Science, 59: 313-320.
- Turan M., Güllüce M., Karadayi M., Barıs O. and Sahin F. 2011. Role of soil enzymes produced by PGPR strains in wheat growth and nutrient uptake parameters in the filed conditions. Current Opinion in Biotechnology, 22 (1), 133.
- Turan M., Güllüce M. and Sahin F. 2012a. Effects of plant-growth-promoting rhizobacteria on yield, growth, and some physiological characteristics of wheat and barley plants. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 43 (12), 1658-1673.

- Turan M., Güllüce M., von Wiren N. and Sahin F. 2012b. Yield promotion and phosphorus solubilization by plant growth-promoting rhizobacteria in extensive wheat production in Turkey. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 175 (6), 818-826.
- Turan M., Güllüce N., Cakmakçı R. and Sahin F. 2013. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. *Journal of Plant Nutrition*, 36 (5), 731-748.
- Uçkun Z. ve Yıldız M. 2004. İzmir, Aydın ve Denizli illeri buğday alanlarındaki kök ve kökboğazi hastalıklarının yoğunluğunun ve etmenlerinin belirlenmesi. *Bitki Koruma Bülteni*, 44 (1-4), 79-92.
- Wallwork H. 2000. Cereal root and crown diseases. SARDI, Adelaide, 58 p.
- Wiese M. V. 1987a. Compendium of Wheat Diseases, American Phytopathological Society, St. Paul, MN, (2nd ed.), 112.
- Wiese M. V. 1987b. Compendium of Barley Diseases, American Phytopathological Society, St. Paul, MN, (2nd ed.) 78.
- Zhang Z., Yuen G.Y., Sarath G. and Penheiter A.R. 2001. Chitinases from the plant disease biocontrol agent, *Stenotrophomonas maltophilia* C3. *Phytopathology*, 91(2), 204-211.