

Domateste *Rhizoctonia solani* ve *Pythium deliense* Tarafından neden olunan Çökerten Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı İnokulasyon Yöntemlerinin Etkinliklerinin Belirlenmesi¹

Ayşe AŞKIN², Filiz ÜNAL², Ercan KOCA²

Determination of the Efficiency of Different Inoculation Methods for the Biological Control of Tomato Damping-Off Caused by *Rhizoctonia solani* and *Pythium deliense*

Abstract: Rhizobacterial isolates can be applied with different inoculation methods in studies of the biological control of plant disease agents. These methods include mixing the suspension of bacteria with autoclaved soil, dipping the roots of seedlings in a bacterial suspension during transplanting or coating seeds with a bacterial suspension before sowing. In this study, the effect of the biocontrol agent *Pseudomonads putida* 10fp, which was isolated from a tomato rhizosphere, was evaluated for its biocontrol potential against the tomato damping-off disease agents, *Rhizoctonia solani* and *Pythium deliense*, under *in vivo* conditions by using different inoculation methods (application dose and format). There was no difference in the disease incidence recorded for treatments in which *P. putida* fp10 was applied into the soil, seed or seed+soil and at different doses (10^8 , 10^9 and 10^{11} cfu/ml) against damping-off. However, plant growth was affected at different levels of inoculation. The best growth of both tomato varieties was observed after the application of a bacterial suspension into the soil at 10^8 cfu/ml .

Keywords: *Biological control, fluorescent Pseudomonads, Rhizoctonia solani, Pythium deliense, inoculation methods.*

Öz: Rizosfer bakterileri ile bitki hastalık etmenlerinin biyolojik mücadelesi üzerine yapılan çalışmalarda kök bakteri izolatları farklı şekillerde uygulanabilmektedirler. Bu metodlar bakteri süspansiyonunun steril toprağa karıştırılması, şaşırtma esnasında fide köklerinin bakteri süspansiyonuna daldırılması veya ekimden önce yüksek sayıdaki bakteri ile tohumların kaplanması içermektedir. Bu çalışmada, domates rizosferinden izole edilen ve çökerten zararına yol açan *Rhizoctonia solani* ve *Pythium deliense*' ye karşı *in vivo* koşullarda etkili olduğu daha önceki çalışmalarla belirlenen *Pseudomonas putida* 10fp

¹Bu çalışma, 16-18 Mayıs 2017 tarihinde Tekirdağ'da düzenlenen II. Uluslararası Balkan Kongresi'nde poster olarak sunulmuş ve özet olarak basılmıştır. Doktora tezinin bir bölümüdür.

² Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü - ANKARA

Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: ayse.askin@tarim.gov.tr

Alınış (Recieved): 29.09.2017

Kabul edilmiş (Accepted): 09.03.2017

Domateste Çökerten Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı İnokulasyon Yöntemleri

izolatının, bu patojenlere karşı farklı uygulama dozu ve uygulama biçimindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçlar göstermiştir ki *P. putida* fp10' nun çökertene karşı tohum, toprak ya da tohum+toprak şeklinde 10^8 , 10^9 and 10^{11} cfu/ml gibi farklı konsantrasyon uygulamaları hastalık şiddetinde farklılık yaratmazken, bitki gelişimini farklı şekillerde etkilemiştir. Her iki domates çeşidinde de en iyi fide gelişimi 10^8 cfu/ml konsantrasyonunda bakteri süspansiyonunun topraklara yapılan uygulama şeklinde görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Biyolojik mücadele, floresan *Pseudomonas*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium deliense*, inokulasyon metodları

Giriş

Çökerten hastalığı, domates yetiştiriciliğinde erken dönemde sorun olan önemli hastalıklardan birisidir. Çimlenen tohumlarda ve genç fidelerde ölümlere yol açar. Fidelik koşulları uygun olduğu takdirde hastalık, fidelerin tamamen tahrip olmasına neden olabilmektedir. Çökertenin oluşmasında değişik toprak fungusları etkili olur. En fazla sorumlu olan fungus *Pythium* spp. dir (Stephens *et al.* 1982). Bu fungus yanında *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* spp. ve *Phytophthora* spp. de çökerten oluşumunda etkili olan diğer toprak patojenleridir (Karahan 1965, Stephens *et al.* 1982, Walker 1952). Domates fideliklerinde çökerten hastalığı ülkemizde de oldukça önemlidir. Hastalığın mücadelesinde kullanılmak üzere çok sayıda Bitki Koruma ürünü ruhsatlı bulanmakta olup her geçen gün yenileri eklenmektedir (Bitki Koruma Ürünleri, <http://www.bku.gov.tr>). Karahan (1965) ve Aşkın (2008), Ankara' da biber ve domates fideliklerinde çökertene neden olan önemli etmenler olarak *Pythium* spp. ve *Rhizoctonia solani*' yi belirlemiştir.

Floresan *Pseudomonas*lar, hastalıkların baskılandığı topraklarda toprak kaynaklı hastalıkların azaltılmasında en etkili rizosfer bakterileridir. Bu bakteriler ilk kez 1980' li yıllarda gündeme gelmiştir (Klopper and Schroth 1981b). Birçok sekonder metabolitlerinin diğer mikroorganizmaların gelişimini engellemesi, birlikte buldukları diğer toprak bakterilerinden daha fazla mikroorganizmaları engelleyici etkiye sahip olmaları, tohum uygulaması şeklinde verilseler de rizosfer popülasyonunda baskın duruma geçmeleri ve rizosferde kolonize olabilmeleri gibi özelliklere sahip olmaları patojen olmayan *Pseudomonas*ları başarılı bir biyolojik mücadele elemanı yapmaktadır (Rovira *et al.* 1992, Stephens *et al.* 1993, Haas and Keel 2003).

Biyolojik mücadele etmeni olarak veya bitkide gelişimi teşvik ederek etkili olan floresan *Pseudomonas*ların farklı ürünlerde (domates, pamuk, hıyar, tatlı mısır, bezelye, soya fasulyesi vb.) çökertene neden olan fungal etmenlere karşı etkinlikleri değişik çalışmalarla ortaya konulmuştur (Van Wees *et al.* 1997, Ramamoorthy *et al.* 2001a, Soylu *et al.* 2005).

Rizosfer bakterileri ile bitki patojenlerinin biyolojik mücadelesi üzerine yapılan çalışmalarda bakteriler değişik şekillerde uygulanabilmektedirler. Bu yöntemler; bakteri süspansiyonunun steril toprağa karıştırılması, şaşırtma esnasında fide köklerinin bakteri süspansiyonuna daldırılması veya ekimden önce yüksek sayıdaki bakteri ile tohumların kaplanmasıdır (Kluepfel 1993). Bu konuda değişik araştırmacıların farklı bulguları olmuştur.

Kimi çalışmada tohum uygulaması hastalık gelişiminin engellenmesinde daha etkili bulunurken (Howell and Stipanovic 1980, Clemente *et al.* 2000b, Shah-Smith and Burns 1996) kiminde toprak uygulaması hastalık çıkışının baskılanmasında daha iyi sonuçlar vermiştir (Ellis *et al.* 1999, Howell and Stipanovic 1980, Hendrix and Campbell 1983, Ibrahim and Mihanna 2002).

Bu çalışma daha önceden yapılan *in vivo* çalışmalar sonucunda domateste çökerten etmeni *Rhizoctonia solani* ve *Pythium ultimum*'a karşı etkili bulunan (Aşkın, 2008) antagonist floresan *Pseudomonas putida* fp10 bakteri izolatının hastalık etmenleri tarafından neden olunan hastalık çıkışının yanısıra bitki gelişimi üzerine farklı bakteri konsantrasyonlarında ve uygulama şekillerinde etkilerini araştırmak amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve yöntem

Bitki materyali, Hastalık etmenleri ve Antagonist bakteri izolatı

Çalışmalarda Ankara İlinde en fazla ekimi yapılan ve hastalık çıkışı gözlenen 73-14 (sırik domates) ve Joker (yer domatesi) çeşitleri kullanılmıştır. Antagonist biyokontrol bakteri etmeni olarak Ankara İlinin Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan ilçelerinde domates yetiştiriciliği yapılan tarlalardaki sağlıklı domates bitkisinin rizosferinden izole edilmiş, tütünde HR testi yapılarak patojen olmadığı belirlenmiş, domateste çökerten hastalığına sebep olan *Rhizoctonia solani* ve *Pythium deliense*'ye karşı etkili olduğu tespit edilmiş *Pseudomonas putida* fp10 izolatı (Aşkın, 2008) kullanılmıştır. *P. putida* fp10 izolatının moleküler tanılaması 16rRNA primeri kullanılarak yapılmış olup, NCBI veri tabanında yapılan araştırma sonucunda kullanılan izolatımızın %100 benzerlikte *P. putida* olarak belirlenmiştir. Domates fide çökerten hastalık etmenleri olarak da aynı bölgedeki hasta domates fidelerinden izole edilmiş, en yüksek patojeniteye sahip *R. solani* ve *P. deliense* fungal hastalık etmenleri kullanılmıştır.

Saksı denemelerinde kullanılan topraklar 1:1:1 oranında bahçe toprağı:dere kumu:yanmış ahır gübresi karışımı şeklinde hazırlanarak toprak sterilizatöründe 121 °C' de 75 dak. iki gün ard arda steril hale getirilmiştir.

Etkinlik testlerinde fungal inokulum hazırlamak amacıyla mısır unu-kum ortamı kullanılmıştır. Bu amaçla %3 mısır unu- %97 kum karışımına 20 kısım su ilave edilerek hazırlanan ortam cam şişelere doldurmuş ve birbirini takip eden 2 gün ard arda steril hale getirilmiştir.

Domateste Cökerten Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı İnokulasyon Yöntemleri

Fungal inokulumu hazırlamak amacıyla Yeast Dekstroz Agar (YDA) üzerinde geliştirilmiş 3-4 günlük *R. solani* ve Corn meal agar (CMA) üzerinde geliştirilmiş 5 günlük *P. deliense*, içerisinde mısır unu-kum bulunan şişelere 10'ar adet olmak üzere 5mm çaplı fungus diskleri konulmuştur. *R. solani* inokulumu 24±2 °C'de, *Pythium* spp. inokulumu ise 21±1 °C 'de 2-2.5 hafta süreyle inkübe edilmişlerdir (Papavizas and Davey 1962, Hatat 1995). Daha sonra saksı toprağına *R. solani* inokulumu % 4, *Pythium deliense* inokulumu ise % 5 (ağırlı/ağırlık) oranında olacak şekilde karıştırılmıştır (Papavizas and Davey 1962, Williams and Asher 1996, Ramamoorthy *et al.* 2002).

Antagonist *Pseudomonas* izolatının saksı koşullarında bitki gelişimi ve hastalık etmenlerince oluşturulan hastalık çıkışı üzerine *in vivo* etkileri

Bu denemede antagonist bakterinin 10⁸, 10⁹ ve 10¹¹ cfu/ml konsantrasyonları kullanılmıştır. Antagonist bakteri *P. putida* fp10, Joker ve 73-14 domates çeşitleri için; (i) tohuma, (ii) toprağı ve (iii) tohum+ toprağı olmak üzere 3 farklı şekilde ayrı ayrı uygulanmıştır. Deneme sonunda her iki domates çeşidinde *R. solani* + *P. deliense* hastalık etmenlerince oluşturulan hastalık şiddetinin yanısıra, bakteri uygulamasının bitki gelişimi (fide boyları) üzerine olan etkinlikleri belirlenmiştir. Deneme öncesinde domates tohumlarının çimlenme oranları (%), ISTA kurallarına göre belirlenmiştir. İçine steril kurutma kağıtları yerleştirilip nemlendirilen 4 adet petri kabına 100'er adet domates çeşidi tohumu yerleştirilmiştir. Petriker 20-30 °C' de muhafaza edilmiş ve 5. ve 14. günlerde sayımlar yapılmıştır.

Domates tohumları 3 dk %1 lik NaOCl ile yüzeysel dezenfeksiyon yapılmış ve üç kez steril destile su ile yıkanarak kurutulmuştur. Mc Farland skalasına göre (Barret 1975) 10⁸, 10⁹ ve 10¹¹ cfu/ml' ye ayarlanan bakteri süspansiyon konsantrasyonları 1 g tohuma 10 ml gelecek şekilde hazırlanmış ve bu süspansiyonda tohumlar bir gece süreyle (12 saat) bekletilmiştir. Bakterilerin homojen dağılımını sağlamak için süspansiyona 1-2 damla Tween 80 ilave edilmiştir (Ramamoorthy *et al.* 2002).

Saksı denemelerinde 6 numaralı saksılar kullanılmış ve daha önce patojenlerin inokule edildiğı bu saksılara 7-10 günlük gelişme periyodundan sonra 25'şer adet domates tohumu ekilmiştir. *P.putida* 10fp ayrı ayrı uygulanmıştır.

Bitkiler 24±2 °C sıcaklık ve % 75-80 nem, 14 saat aydınlık 10 saat karanlık periyot koşullarında yetiştirilmişlerdir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekrarlı olarak düzenlenmiştir. Bitkiler düzenli olarak sulanmıştır. Otuz günün sonunda *R. solani* + *P. deliense* test patojenlerine karşı oluşan hastalık şiddeti 0-4 skalasına göre değerlendirilmiş (Chandler and Santelman 1968) (Çizelge 1). Uygulamaların bitki gelişimine olan etkinliğinin belirlenmesi için fide boyları ölçülmüştür.

Uygulamalar arasındaki farklılığın ortaya konulması için SPSS istatistik programı kullanılarak varyans analizleri yapılmıştır. Skalaya göre elde edilen

değerler Towsend –Heuberger formülüne uygulanarak hastalık şiddeti hesaplanmış, hastalık şiddeti değerlerinden Abbott formülü ile bakteri izolatlarının etkinlikleri belirlenmiştir. Hastalık şiddetlerinin açı değerleri karşılıkları alınmış. Bu değerler üzerinden yapılan Duncan testi ile hastalık şiddetleri kıyaslanmıştır.

Fide gelişimleri SPSS istatistik programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve izolatlar arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile tespit edilmiştir ($P \leq 0.05$).

Çizelge 1. Hastalık şiddeti değerlendirmesi için kullanılan 0-4 skalası

Table1. 0-4 scales used for detemination of disease severity

Skala değeri	Açıklama
0	Fidede herhangi bir zararlanma yok
1	Fidenin toprak yüzeyi ile birleştiği yerde renk açılması ve küçük lezyonlar
2	Daha büyük lezyonlar gövdeyi çevirmiş durumda
3	Gövdeyi çevreleyen büyük lezyonlar, sonuçta konkav bir görünüm
4	Organizma zararı sonucu ölü bitki

Bulgular ve tartışma

Deneme sonunda *P.putida* fp10 nolu antagonist adayı bakteri izolatının **73-14** domates çeşidinde tohuma, toprağa, ya da tohum+toprağa şeklindeki uygulamalar ile farklı bakteri konsantrasyonları (10^8 , 10^9 ve 10^{11} cfu/ml) arasında bir fark olmadığı görülmüştür (Çizelge 2, Şekil 1). Farklı uygulamaların hastalık çıkışı üzerine olan etkinliğin belirlendiği çalışmalar sonucunda, Tohum+toprak uygulamasında % 55.04, toprak uygulamasında % 50.18, tohum uygulamasında ise % 46.90 oranlarda hastalık çıkışını engellediği belirlenmiştir.

Çizelge 2. *P. deliense* + *R. solani* uygulamasından sonra *P. putida* fp10 nolu bakterinin farklı uygulama şekli ve dozlarında 73-14 domates çeşidinde ortaya çıkan ortalama hastalık oranı ve etki değerleri

Table 2. Average disease severity and efficacy values in different application shapes and doses of *P. putida* fp10 after *P. deliense* + *R. solani* application in 73-14 tomato variety

Uygulama şekli	Ortalama Hastalık Oranı (%)*	% Etki	Uygulama dozu	Ortalama Hastalık Oranı
Tohum+toprak	30.64 ± 2.33 a	55.04	10^9	39.58 ± 5.09 a
Toprak	33.95 ± 2.61 a	50.18	10^8	43.03 ± 4.47 a
Tohum	36.19 ± 4.30 a	46.90	10^{11}	44.08 ± 4.48 a
Kontrol	68.15 ± 2.77 b			

Domateste Çökerten Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı İnokulasyon Yöntemleri

* Dört tekrerrüt ortalamasıdır. Aynı harfle ifade edilen değerler arasında fark yoktur. $P \leq 0.05$

Bakteri uygulama Şekli ve konsantrasyonların bitki gelişimi üzerine olan etkinliklerin belirlendiği çalışmalarda, uygulama Şekli yönünden değerlendirildiğinde, tohum ve tohum + toprağa yapılan uygulamalarda fide boyunun bütün yoğunluklarda aynı olduğu, toprak uygulamasında en iyi etkiyi 10^8 yoğunluğun (22.45 cm) sağladığı belirlenmiştir (F: 4.040, P: 0.003). Uygulama dozu bakımından ise 10^8 en yüksek etkiyi toprak uygulamasında, 10^9 tohum+toprak uygulamasında, 10^{11} ise bütün uygulamalarda aynı etkiyi göstermiştir (izelge 3, Şekil 1).

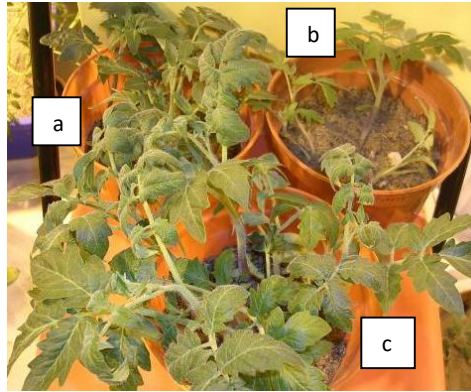
Çizelge 3 *P. deliense* + *R. solani* uygulamasından sonra *P. putida* fp10 nolu bakterinin farklı uygulama Şekli ve dozlarının 73-14 domates eŐisinde fide gelişimine (cm) etkileri *
Table 3. Effects of different application shapes and doses of seedlings (cm) on 73-14 tomato variety of tomato seedlings of *P. putida* fp10 after *P. deliense* + *R. solani* application *

Uygulama Şekli	Uygulama dozu		
	10^8	10^9	10^{11}
Tohum	13.45 \pm 0.84 a*** B**	16.45 \pm 2.00 a AB	15.55 \pm 0.36 a A
Toprak	22.45 \pm 1.36 a A	17.85 \pm 1.42 b AB	15.25 \pm 0.96 b A
Tohum+ toprak	16.38 \pm 0.63 a B	19.55 \pm 1.33 a A	17.30 \pm 1.15 a A
Kontrol	15.45 \pm 0.99 B	15.45 \pm 0.99 B	15.45 \pm 0.99 A

* 5 adet domates fidesine ait ortalama

** Aynı sütundaki farklı büyük harf taşıyan değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı olup uygulama dozlarını değerlendirmektedir.

*** Aynı satırdaki farklı küçük harf taşıyan değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı olup uygulama Şeklini değerlendirmektedir.



Şekil 1 Toprağa 10^8 cfu/ml konsantrasyonunda bakteri uygulaması yapılmış 73-14 çeşidi domates bitkisi. a. Sağlıklı bitki, b. Hasta bitki, c. Bakteri izolatu uygulanmış bitki

Fig. 1 Bacteria treated to soil at the concentration of 10^8 cfu/ml in 73-14 variety tomato a. Healthy plant, b. disease plant, c. Bacteria applied plant

Joker domates çeşidinde bakterinin tohuma, toprağa ya da tohum + toprağa uygulanması ve farklı uygulama yoğunlukları (10^8 , 10^9 ve 10^{11} cfu/ml) arasında önemli bir fark olmamıştır (Çizelge 4, Şekil 2). Tohum+toprak uygulamasında etki % 61.18, toprak uygulamasında % 60.49, tohum uygulamasında ise % 56.77 olmuştur

Çizelge 4 *P. deliense* + *R. solani* uygulamasından sonra *P. putida* fp10 nolu bakterinin farklı uygulama şekli ve dozlarında joker domates çeşidinde ortaya çıkan ortalama hastalık oranı ve etki (%)

Table 4. Average disease severity and efficacy values in different application shapes and doses of *P. putida* fp10 after *P. deliense* + *R. solani* application in joker tomato variety

Uygulama şekli	Ortalama Hastalık Oranı (%)*	% Etki	Uygulama dozu	Ortalama Hastalık Oranı
Tohum+toprak	23.78 ± 1.65 a	61.18	10^9	32.74 ± 4.52 a
Toprak	24.20 ± 1.95 a	60.49	10^8	33.69 ± 4.40 a
Tohum	26.48 ± 2.10 a	56.77	10^{11}	35.36 ± 4.39 a
Kontrol	61.25±2.43 b			

* Dört tekerrür ortalamasıdır. Aynı harfle ifade edilen değerler arasında fark yoktur. $P \leq 0.05$

Farklı uygulama şekli ve dozları fide boylarını farklı şekillerde etkilemişlerdir (F: 2,853; P: 0,022). Uygulama şekli yönünden değerlendirildiğinde, 10^9 ve 10^{11} dozlarında tohum ve 10^8 dozunda toprak (21.48) ve tohum+toprak (21.10) uygulamaları en yüksek fide boyu değerini vermiştir. Uygulama dozları bakımından değerlendirildiğinde ise, 10^8 toprak ve toprak+tohum uygulamasında etkili olurken, 10^9 ve 10^{11} cfu/ml uygulamaları aynı etkiyi göstermiştir (Çizelge 5, Şekil 2).

Çizelge 5 *P. deliense* + *R. solani* uygulamasından sonra *P. putida* fp10 nolu bakterinin farklı uygulama şekli ve dozlarının joker domates çeşidinde fide gelişimine (cm) etkileri *

Table 5. Effects of different application shapes and doses of seedlings (cm) on joker tomato variety of tomato seedlings of *P. putida* fp10 after *P. deliense* + *R. solani* application *

Uygulama şekli	Uygulama dozu		
	10^8	10^9	10^{11}
Tohum	13.13*±1.00b*** B**	17.73 ± 2.47 a A	16.65 ± 1.77 a A
Toprak	21.48 ± 0.82 a A	17.42 ± 1.93 b A	17.90 ± 1.49 ab A
Tohum+ toprak	21.10 ± 0.81 a A	17.00 ± 0.14 b A	18.73 ± 1.18 ab A
Kontrol	15.53 ± 0.56 B	15.53 ± 0.56 A	15.53 ± 0.56 A

* 5 adet domates fidesine ait ortalama

** Aynı sütundaki farklı büyük harf taşıyan değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı olup uygulama dozlarını değerlendirmektedir.

*** Aynı satırdaki farklı küçük harf taşıyan değerler istatistiksel olarak birbirinden farklı olup uygulama şeklini değerlendirmektedir.

Domateste Çökerten Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı İnokulasyon Yöntemleri



Şekil 2 Tohum + toprağa 10^8 cfu/ml konsantrasyonunda bakteri uygulaması yapılmış joker çeşidi domates bitkisi a. Sağlıklı bitki, b. Hasta bitki, c. Bakteri izolatu uygulanmış bitki
Fig. 2 Bacteria treated to soil at the concentration of 10^8 cfu/ml in joker variety tomato a. Healthy plant, b. disease plant, c. Bacteria applied plant

P.putida fp10' un tohuma uygulamasında tohum bakterizasyonu için 12 saatlik bir inkübasyon periyodu kullanılmıştır. Tohuma yapılan bakteri uygulamalarında iyi bir tohum bakterizasyonu, sonucu olumlu yönde etkilemektedir. Clemente *et al.* (2000b), domateste çökerten etmeni *R. solani*' nin kontrolünde floresan Pseudomonasların 2 saat süreli tohum bakterizasyonu ile kıyaslandığında 12 saatlik tohum bakterizasyonunun tohum içine giren bakteri sayısını artırdığını tespit etmişlerdir. 1×10^9 cfu/ml içeren *P. fluorescens* P190, her tohumda ortalama 5.55×10^5 olarak ölçülmüştür. En yüksek koruma 12 saat süreyle yapılan tohum bakterizasyonunda olmuştur. 2 saat tohum bakterizasyonunda koruma % 19 iken 12 saatte bu oran %31 olmuştur.

Yapılan çalışmalarda Laboratuar ve sera testleri bazı rizosfer bakterilerinin tohum, yumru ya da toprağa uygulandığında bitki gelişimini artırdığını göstermiştir. (Kloepper and Schroth 1981a). Bizim çalışmamızda bakterinin tohum, toprak ya da tohum+toprak şeklinde uygulanması her iki domates çeşidinde de fide gelişimini olumlu etkilerken en iyi fide gelişimi 10^8 cfu/ml konsantrasyonunda bakterilerin toprağa yapılan uygulamasında görülmüştür. Yürüttüğümüz araştırma sonunda uygulama şekillerinin (tohum, toprak, tohum+toprak) çökertene karşı oluşan hastalığı korumada en yüksek etki her iki çeşitte de tohum+toprak uygulamasında daha sonra ise toprak ve tohum uygulamasında görülmekle beraber her üç uygulamadaki hastalık şiddetleri arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Bu konuda değişik araştırmacılara ait farklı bulgular bulunmaktadır. *P. fluorescens* pf5 tarafından üretilen pyoluteorin tohum kaplaması şeklinde uygulandığında pamuk fidelerinde çökertene neden olan *P. ultimum*' u engellemede başarılı olurken toprağa verildiğinde etkili olamamıştır. Bunun nedeni bakteri tarafından oluşturulan antifungal maddelerin toprak kolloidleri tarafından etkisiz kılınmasına bağlanmıştır

(Howell and Stipanovic 1980). Yine, Clemente *et al.* (2000b), yürüttükleri araştırmada tohum bakterizasyonunun domateste çökertene neden olan *R. solani*'yi engellemede etkili sonuç verirken fide çıkışında ya da 7 gün sonra sulama suyu şeklinde verilen bakterizasyonun korumadaki başarıyı engellediğini tespit etmişlerdir. Diğer taraftan, Yoem *et al.* (1995), hıyarlarda çökertene neden olan *R. solani* ve *P. ultimum*'un azalmasında *P. fluorescens* M45' in tohum uygulaması ve MC07' nin toprak uygulamasının oldukça etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Her iki bakteri izolatının kombinasyonu tek tek uygulanmalarından daha başarılı sonuç vermiştir. Bir başka çalışmada şekerpancarından izole edilen *P. fluorescens* 54/96 bezelyede çökertene neden olan *P. ultimum*' a karşı toprağa sulama suyu şeklinde verildiğinde tohum kaplamasına göre daha etkili olmuştur (Ellis *et al.* 1999). *Pythium* hifleri tohuma doğru hızla çimlendiklerinden (Hendrix and Campbell 1983) bakteri, patojenin oospor çimlenmesini engelleyerek hastalığı baskılamıştır. Bu patojene karşı etkili bir kontrolde 10^3 cfu/ml *P. fluorescens* 54/96 populasyonu yeterli olmuştur. 7 gün sonra topraktaki bu yoğunluk 10^6 cfu/ml'ye ulaşmıştır. Ibrahim and Mihanna (2002), patlıcanda çökertene neden olan *R. solani*'ye karşı 103, 106 ve 115 nolu *Pseudomonas* izolatlarının toprağa yapılan uygulamalarının tohum kaplaması uygulamalarından daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçların farklı çökerten etmenleri ve farklı etki mekanizmalarına göre değiştiği görülmektedir.

Deneme sonunda bakteri uygulama konsantrasyonları ($10^8, 10^9, 10^{11}$ cfu/ml) arasında her iki çeşitte en düşük hastalık oranı 10^9 uygulamasında, daha sonra ise 10^8 ve 10^{11} cfu/ml uygulamasında görülmekle beraber her üç uygulamadaki hastalık şiddetleri arasındaki fark istatistik olarak önemsiz bulunmuştur. Raaijmakers and Weller (1998), eşik yoğunluğu üzerindeki yoğunluklarda patojen olmayan *Pseudomonas* spp.'nin hastalıkları baskılama düzeyinde önemli bir artışa neden olmadığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda da bakteri izolatının patojenlere karşı gösterdiği korumada, farklı uygulama dozları arasında önemli bir fark olmamıştır. Bu sonuç diğer araştırmacıların Shah-Smith and Burns (1996), Raaijmakers and Weller (2001), Schmidt *et al.* (2004) bulgularıyla paralellik göstermiştir.

Sonuç olarak domateste çökerten etmeni patojenler *P. deliense* ve *R. solani*'ye karşı her iki çeşit içinde *P. putida* fp10' un 10^8 cfu/ml dozunda toprak uygulamasının hem hastalığı önlemede hem de fide gelişiminde tercih edilebileceği söylenebilir.

Kaynaklar

- Aşkın A. ve Katırcıoğlu Y.Z., 2008. Ankara İli Ayaş, Beypazarı ve Nallıhan İlçelerinde Domates Fideliklerindeki Çökerten etmenlerinin Tespiti ve Patojenisite Durumları. Bitki Koruma Bülteni. Bitki Koruma Bülteni, 48.
- Bitki Koruma Ürünleri, <http://www.bku.gov.tr>. Erişim Tarihi. 20.09.2017
- Barret, T. 1975. Preparation of bacterial vaccine. In Proceeding of the first work shop of phytobacteriology. R. N. Goodman (ed.). Columbia. University of Missouri, p. 1-6.

Domateste Çökerten Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı İnokulasyon Yöntemleri

- Chandler, J.M and Santelman, P.W. 1968. Interaction of four herbicides with *Rhizoctonia solani* on seedling cotton. Weed Science, (16); 453-454.
- Clemente, G., Quadrelli, A.M., Melegari, A. and Escande, A. 2000b. [Inoculation methods of fluorescent Pseudomonas to control tomato damping off \(Rhizoctonia solani AG-4\)](#). Fifth International PGPR Workshop. Organizator: APS, Argentina. <http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/posters/ant22/AliciaMeleg.htm>. Erişim tarihi:2008
- Ellis, R.J., Timms Wilson, T.M., Beringer, J.E., Rhodes, D. Renwick, A., Stevenson, L and Bailey, M. J. 1999. Ecological basis for biocontrol of damping-off disease by *Pseudomonas fluorescens* 54/96. Journal of Applied Microbiology, 87, 454-463.
- Haas, D and Keel, C. 2003. Regulation of antibiotic production in root colonizing *Pseudomonas* spp. and relevance for biological control of plant diseases. Annual Review of Phytopathology, 41, 1117-1153.
- Hendrix, J. and Campbell, W. A. 1983. Some phytiaceous fungi. In Zoosporic Plant Pathogens (ed. BUczacki, S.t.), pp. 123-160. London Academim pres.
- Howell, C. R. and Stiponavic, R. D. 1980. Suspension of *Pythium ultimum* induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotics, pyoluteorin. Phytopathology, 70 (8); 712-715.
- İbrahim, G. H. and Al- Mihanna, A. A. 2002. The use of some plant oils and antagonistic bacteria to reduce the incidence of damping off caused by *Rhizoctonia solani* in eggplant. Arab- Universities Journal of Agricultural Sciences, 10 (1); 351-361.
- Karahan, O. 1965. Muhtelif Sebzelerde Zararlı Hastalık Amilleri ve Mücadele T.B.A.Z.M. E.Müdürlüğü Sayı:42.
- Kloepper, J. W. and Schroth, M. N. 1981a. Plant-growth promoting rhizobacteria and plant growth under sinotobiotic conditions. Phytopathology. 71, 642-644.
- Kloepper, J. W. and Schroth, M. N. 1981b. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. Phytopathology, 72, 33-36.
- Kluepfel, D. A. 1993. The behavior and tracking of bacteria in the rhizosphere. Annu. Rev. Phytopath, 31, 441-72.
- Papavizas, G. C. and Davey, C. B. 1962. Activity of Rhizoctonia in soil as affected by carbon dioxide. Phytopathology, 52, 759-766.
- Raaijmakers, J. M. and Weller, D.M. 1998. Natural plant protection by 2,4-Diacetyl-phloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp in take-all decline soils. Mol. Plant-Microbe Interact, 11, 144-152.
- Raaijmakers, J., M. and Weller, D., M. 2001. Exploiting genotypic diversity of 2,4-Diacetyl-phloroglucinol- producing *Pseudomonas* spp.: characterization of superior root-colonizing *P. fluorescens* strain Q8r1-96. Applied and Environmental Microbiology, pp. 2545-2554.
- Ramamoorthy, V., Raguchander, T. and Samiyappan, R. 2002. Enhancing resisance of tomato and hot pepper to *Pythium* diseases by seed treatment with fluorescent *Pseudomonas*. European Journal of Plant Pathology, 108, 429-441.
- Rovira, A., Ryder, M. and Haris, A. 1992. Biological control of root diseases with pseudomonas, 175-183, Tjamas, E. S. Et al. (Eds), Plenum pres, New York.
- Schmidt, C. S., Agostini, F., Leifent, G., Killham, K. and Mullins, C. E. 2004. Influence of inoculum density of the antagonistic bacteria *Pseudomonas fluorescens* and

- Pseudomonas corrugata* on sugar beet seedling colonisation and suppression of *Pythium* damping off. Plant and Soil, 265 (1-2); 111-122.
- Shah-Smith D. A. and Burns, R. G. 1996. Biological control of damping-off of sugar beet by *Pseudomonas putida* applied to seed pellets. Plant Pathology, 45, 572-582.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, Ş. and Ekici, Ö.K. 2005. Antagonistic potentials of rhizosphere-associated bacterial isolates against soil-borne diseases of tomato and pepper caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. Pakistan Journal of Biological Sciences 8, 43-48.
- Stephens, C. T., Herr, L. J., Schmitthenner, A. F., and Powell, C. C. 1982. Characterization of *Rhizoctonia* isolates associated with damping-off of bedding plants. Plant Dis. 66:700-703
- Stephens, C. T., and Powell, C. C. 1982. *Pythium* species causing damping-off of seedling bedding plants in Ohio greenhouses. Plant Dis. 66:731-733.
- Stephens, P. M., Crowley, J. J. and O'Connell, C. 1993. Selection of *Pseudomonas* strains inhibiting *Pythium ultimum* on sugarbeet seeds in soil. Soil Biology and Biochemistry, 25, 1283-1288.
- Walker, J. C. 1952. Diseases of vegetable crops. McGraw-Hill Book Company. Inc. New York, 529 pp.
- Williams, G. E. and Asher, M. J. C. 1996. Selection of rhizobacteria for the control of *Pythium ultimum* and *Aphanomyces cochlioides* on sugar-beet seedlings. Crop Protection, 15(5); 479-486.