

BEZELYEDE ASCOCHYTA YANIKLIĞI VE BUNUN FLUORESENT PSEUDOMONASLARLA BİYOLOJİK KONTROLÜ¹

Mehmet Erhan GÖRE

Tayyar BORA

**Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü
Bornova-İzmir/TURKEY**

**Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bitki Koruma Bölümü
Bornova-İzmir/TURKEY**

ÖZ: *Ascochyta* yanıklığı Türkiye'de bezelyenin önemli bir yeşil aksam hastalığıdır. Hastalığa içlerinde *Ascochyta pisi*, *A. pinodes* ve *A. pinodella*'nın bulunabildiği *Ascochyta* kompleksi fungal patojenler neden olmaktadır. Bu çalışmayla Ege ve Marmara bölgesinde hastalıktan sorumlu patojenler araştırılmış ve bunlar *A. pinodes* ve *A. pisi* olarak tanımlanmıştır. Bunun yanında, patojenisite testleriyle hastalığa karşı çeşitlerin dayanıklılık durumları incelenmiş, bu testlerde Bolero'nun tolerant, geriye kalan diğer çeşitlerin duyarlı ya da aşırı duyarlı bir reaksiyon sergiledikleri ortaya konmuştur. Aynı zamanda bu çalışmada fluorescent *Pseudomonas*ların *A. pinodes*'ten kaynaklanan *Ascochyta* yanıklığının entegre yönetiminin bir bileşeni olarak potansiyeli de ele alınmıştır. Dört izolat tarla koşullarında hastalığı baskılayıcılıkları ve bitki gelişimini uyarıcı etkileri açısından tek başlarına ve kombinasyonlar halinde denenmiştir. İzolatların bireysel kullanımı *Ascochyta* yanıklığını yeşil aksam ve kalıntı uygulamalarının her ikisinde de kombinasyon uygulamalarına göre daha yüksek oranda azaltmıştır. En umutvar izolat 51'le ortalama hastalık şiddeti yeşil aksamda %60, kalıntı uygulamalarında %55 oranında azalmıştır. Hastalığın baskılanması yanında *Pseudomonas*lar bitki boyunda ve verimde sağladıkları artışla bitki gelişimini de uyarmıştır. Ayrıca bu bakteriler bazı funguslarla 100 ppm gibi yüksek konsantrasyonlarda uyumlu bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: Biyolojik savaş, *Ascochyta pisi*, *A. pinodes* ve *A. pinodella*, *Ascochyta* yanıklığı, fluorescent *Pseudomonas*, bezelye.

ASCOCHYTA BLIGHT OF PEA AND ITS BIOLOGICAL CONTROL BY FLUORESCENT PSEUDOMONADS

ABSTRACT: *Ascochyta* blight is a serious foliar disease of pea in Turkey. The disease is caused by the "Ascochyta complex" of fungal pathogens which may include *Ascochyta pisi*, *A. pinodes* and *A. pinodella*. With this study, responsible pathogens from the disease in Aegean and Marmara regions were investigated and identified as *A. pinodes* and *A. pisi*. Besides, determination of the cultivars resistance against the disease was performed with pathogenicity test which clearly showed that Bolero expressed a tolerant reaction and the rest of the cultivars were found to be susceptible or more susceptible. Also, the potential of fluorescent pseudomonads as component of integrated management of *Ascochyta* blight caused by *A. pinodes* was investigated with this study. Four isolates were tested alone and in combinations for suppression of the disease and promotion of plant growth under field conditions. The

¹ Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

individual isolates significantly reduced the Ascochyta blight incidence when applied as either bacterial suspension through foliar and plant debris treatments, compared to the respective mixture isolates. The average mean of disease reduction with the most promising isolate 51 was 60% in foliar and 55% in plant debris treatment. In addition to disease suppression, pseudomonads promoted plant growth in terms of increased plant height and grain yield. Moreover, found compatible with some fungicides at the concentration as high as 100 ppm in vitro.

Keywords: Biological control, *Ascochyta pisi*, *A. pinodes* ve *A. pinodella*, *Ascochyta* blight, fluorescent *Pseudomonads*, peas.

GİRİŞ

İnsan beslenmesindeki yerini bundan 8000-9000 yıl önce alan ve Ortadoğu'da ilk kültüre alınan bezelye (*Pisum sativum* L.), günümüzde dünyada nohuttan sonra en yaygın kültürü yapılan baklagil bitkisidir. FAO'nun 2004 yılı verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 18 milyon ton'luk bir üretimi bulunan bitkinin insan ve hayvan beslenmesindeki yeri oldukça büyüktür. En çok gelişmiş ülkelerde üretimi yapılan bitkinin, tüketimi de yine en fazla bu ülkelerde olmaktadır. Türkiye'de ise bu bitki ortalama 1450 hektar araziye ekilmekte, 4000 ton üretim yapılmaktadır ve de hektardan 2770 Kg verim alınmaktadır (Anonymous, 2002). Dünyada bezelye üretimini sınırlandıran en önemli sorun ise *Ascochyta* yanıklığıdır (Bretag ve ark., 1995; Clulow, 1989; Wroth ve Khan, 1999). Bundan sorumlu 3 etmen bulunmaktadır. Bunlar *Ascochyta pinodes*, *A. pisi* ve *A. pinodella*'dır. Tüm dünyada yaygın olan ve ürün eksilişlerinin %96 gibi büyük bir kısmından sorumlu olan tür ise *A. pinodes*'tir (Bretag, 1991; Wroth, 1998). Toprakta saprofitik yeteneği oldukça yüksek olan bu etmen, tohum ve hastalıklı kalıntılarla taşınabilmekte ve bezelyenin tüm topraküstü organlarında enfeksiyon oluşturabilmektedir (Lawyer, 1984; McKenzie ve Morrall, 1973; Wallen, 1974). Bu etmen aynı zamanda çıkış öncesinde tohum çürüklüğü ve çıkış sonrasında ise fide kök boğazı çürüklüğünden sorumlu olabilmektedir (Ali ve ark., 1978; Barbetti ve Brown, 1993; Carter ve Moller, 1961). Tüm dünyada geçmişten günümüze hep araştırması yapılan dayanıklı çeşit ve kimyasal savaşla kontrol altına alınmaya çalışılan bu hastalığın önlenmesindeki güçlükler aşılabılmış değildir. Özellikle, dayanıklı çeşit çalışmalarından pratiğe henüz somut bir sonuç verilememiştir (Bretag, 1991; Wroth ve Khan, 1999). Çünkü hastalığa karşı dayanıklılıkta bir çok genin rol oynaması ve patojenin bir çok patotipinin bulunması kalıcı bir dayanıklı çeşit geliştirmeyi günümüze kadar mümkün kılmamıştır (Xue ve ark., 1998; Clulow ve ark., 1991; Nasir ve Hoppe, 1991). İnsan ve hayvan beslenmesinde kullanılan bezelye bitkisinde, yeşil aksama uygulanan kimyasallar ise doğrudan insan ve çevre sağlığı açısından bir tehdit oluşturmaktadır. Özellikle vejetasyon dönemindeki ilaçlamalar çevre kirliliğini artırması açısından dikkat çekicidir (Bretag, 1991). Hastalığın özelliği gereği tek ilaçlama ile yetinilememesi ilaç kullanımının sağlık sorunu kadar ekonomik sorun

yaratmasını da kaçınılmaz kılmaktadır. Dünyanın kimyasal savaşımdan insan sağlığı, çevre kirliliği, doğal denge ve ilaçlara bağıklık kazanma gibi nedenlerle uzaklaşmaya çalıştığı günümüzde; hastalıklarla biyolojik savaş gün geçtikçe ön plana çıkmaktadır (Bora ve Özaktan, 1998). Biyolojik savaş içinde ise 1980'lerden sonra bitki gelişimine olumlu etkileri, hızlı gelişmeleri ve güçlü antagonistik silahlarıyla ön plana çıkan etmen grubu olarak fluorescent Pseudomonasları görmekteyiz (Klopper ve ark., 1980; Lemanceau ve ark., 1992). Bitkilerin hem kök katmanında hem de toprak üstü organlarında epifitik olarak yaşayabilme, hızlı kolonize olabilme ve aynı zamanda hem bakteriyel hem de fungal patojenlere karşı antagonistik nitelikleriyle ön planda olan bu grup, bitkisel konukçusu açısından da çok seçici davranmayan bir tutum sergilemektedir (Lim ve ark., 1991; Velazhahan ve ark., 1999). İşte bu çalışmayla fluorescent Pseudomonasların bezelyenin en önemli hastalığı olan *Ascochyta* yanıklığına karşı kullanılabilme olanakları temelinde bir biyolojik savaş çalışması yürütülmüş ve hastalığın kontrolüne dönük yeni bir yaklaşımın geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaca dönük çalışmalar öncesinde, ülkemizde bu hastalıktan sorumlu olan türler belirlenmiş ve yaygın ekilişi yapılan çeşitlerin bu hastalığa karşı reaksiyonları saptanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Test Bitkisi ve Patojeni

Sanayi ölçeğinde en fazla tercih edilen ve tüketicinin taze tüketimde pazar payı en büyük olan Karina, test bitkisi çeşidi olarak seçilmiştir. Virulensliği bilinen *Ascochyta pinodes* 12 nolu izolat ise çalışmada test patojeni olarak kullanılmıştır (Göre ve Bora, 2003).

Antagonist Adayı Fluorescent Pseudomonaslar

Mikroparsel denemelerinde *Ascochyta* yanıklığına karşı in vitro ve in vivo koşullarda başarılı bulunan 4 izolata yer verilmiştir (Göre ve Bora, 2003). Bu izolatların hastalığa karşı tekli ve ikili kombinasyon performansları dikkate alınarak 17, 51 ve 122 nolu izolatlar tek başlarına, 17+122 ve 51+116 ise ikili kombinasyonlar şeklinde tarlada mikroparsel denemelerine alınmıştır. Adı geçen izolatlara ait bilgiler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Mikro parsel denemelerinde kullanılan fluorescent Pseudomonas izolatları.
Table 1. Isolates of fluorescent Pseudomonas used in the microplot field experiments.

İzolat Isolate	İzole edildiği yer Origin	İzolasyon Isolation	Biyolojik kontrolün mekanizması Mechanism of biological control	Fluoresent Renk Fluorescent colour
<i>P. putida</i> 17	Ege Ü. Z. F. Bahçesi	Tütün/Kök	Siderofor	Yeşil
<i>P. fluorescens</i> 51	Manisa/Hacıhaliller	Bezelye/Kök	Siderofor	Yeşil
<i>P. fluorescens</i> 116	Bursa/Karacabey	Bezelye/ Yaprak	Siderofor + Antibiosis	Mavi
<i>P. fluorescens</i> 122	Bursa/Karacabey	Bezelye/Sap	Siderofor + Antibiosis	Yeşil

Ascochyta Yanıklığından Sorumlu İzolatların Tanılanması

A. pinodes ve *A. pisi*'nin birbirinden ayrılmasında yulaf agar ortamından yararlanılmıştır. Eldeki izolatların *A. pinodella* (5-8µm x 2.5-4 µm) olup olmadığına karar vermede ise piknidiosporların ölçülmesi yeterli olmuştur. Çünkü bu etmen gerek *A. pinodes* (8-16 (-18) x 3-4.5 (-5) µm) gerekse de *A. pisi*'ye göre (10-16 x 3-4.5µm) daha küçük spora sahiptir (Jones, 1927).

Ascochyta pinodes'e Karşı Çeşitlerin Reaksiyonu

AG 7302, AG7306, AG 7307, Bolero, Greanpearl, Jof, Karina, Manuella, Puget, Ronda, Spring, Sprinter, Utrillo ve Viner çeşitlerinin *A. pinodes*'e karşı reaksiyonlarının araştırıldığı deneme, 3 haftalık bitkiler üzerinde; sıcaklığı 22±2°C'ye, orantılı nemi %60'a ve aydınlık periyodu 12 saate ayarlı iklim odasında 5 tekerrürlü ve her saksıda 3 bitki bulunacak şekilde yürütülmüştür. Patojenin Coon's agardaki 14 günlük kültüründen 4.10⁶ spor/ml'lik süspansiyonlar hazırlanmış ve 3 haftalık bitkilere, her bir tekerrür için 10 ml püskürtülmüştür. Bitkilerin üzeri inokulasyondan sonra polietilen torbayla örtülerek, 4 gün süreyle nemli periyod sağlanmıştır. Denemenin değerlendirilmesi inokulasyondan sonraki 9. günde, 0-5 ıskalasıyla yapılmıştır. Morrall ve Mc Kenzie (1974) tarafından geliştirilen bu ıskala, modifiye edilerek kullanılmıştır (0 Bitkide hastalık belirtisi yok; 1 Bitkinin yapraklarında zor seçilen küçük lekeler; 2 Bitkinin genelinde %25'ten fazla olmayan yaprak yanıklıkları ve sapta yüzeysel lezyonlar; 3 Bitkinin sahip olduğu yaprakların en az %50'si yanıklık belirtisi göstermekte, sapta derin lezyonlar; 4 Bitkinin genelinde yaprakların en az %75'i yanıklık belirtisi sergilemekte, sap lezyonları

oldukça belirgin, bitkide halsizlik; 5 Bitkide derin sap lezyonları ve yaprak yanıklıkları, bitki ölmeye yüz tutmuş).

Tarlada Mikroparsel Denemeleri

Aday antagonistlerin yeşil aksam ve kalıntılarda hastalık etmenine karşı etkililikleri Bornova Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü deneme tarlalarında tesadüf blokları deneme desenine göre kurulan 2 farklı denemeye ortaya konmuştur. Araştırma yaklaşık 1000 m²'lik bir alanda, 1.5 x 2 m boyutlarındaki 3 m²'lik parsellerde, 5 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Her parsel 4 sıradan oluşmuş, ve sıra arası 35-40 cm, sıra üzeri ise 15-20 cm olacak şekilde ekim yapılmıştır. Dekara yaklaşık 12 kg tohumun kullanıldığı denemede tarla 2 kez sürülmüş, arkasından diskaro ile düzeltilmiş ve kazayağı ile açılan çizgilere ekim yapılmıştır.

Yeşil aksam uygulamalarında bitkilerin 4 nodyumlu döneme gelmelerinin ardından antagonistlerin 10¹⁰ cfu/ml yoğunluğundaki 2 lt'lik süspansiyonu 15 m²'lik alana pülverize edilmiştir. Patojenin 3 lt'lik 1.10⁶ spor/ml konsantrasyonundaki süspansiyonu ise 24 saat sonra, negatif kontrol dışındaki tüm deneme alanının inokulasyonu için kullanılmıştır.

Tarla denemelerinin hastalıklı kalıntılara antagonistlerin uygulandığı bölümünde, gramında 1.10⁷ spor bulunan kalıttan 150 g'lık kısım önce her parselin yüzeyine yayılmış ve sonrasında 750 ml'lik 10¹⁰ cfu/ml dozundaki bakteri süspansiyonu ilgili işlemin tüm parsellerine uygulanmıştır. Arkasından hastalıklı kalıntıların tırmıkla toprağın 0-3 cm derinliğine karıştırılması sağlanmıştır. Deneme alanına tohumların ekimi kalıntıların bakterizasyonundan 5 gün sonra yapılmıştır.

Denemelerin değerlendirilmesi gerek yeşil aksam gerekse de hastalıklı kalıntı denemesinde her parselin her sırasından tesadüfi olarak seçilen 5 bitki üzerinde yapılmıştır. Böylece 20 bitki x 5 parsel, toplam 100 bitki üzerinde alınan ıskala değerleriyle sonuca gidilmiştir. Yeşil aksam uygulamasında kullanılan 0-5 ıskalası (0 Bitkide hastalık belirtisi yok; 1 Bitkinin genelinde %10'dan fazla ağırlığı olmayan, 1-2 nodyumdan çıkan yan dallardaki yapraklarda yanıklık veya lekeler; 2 Yapraklarda belirgin leke ve yanıklık saplarda %10 dolayında lezyon veya aynı zamanda her bitkide en çok 2 kapsülün leke taşıması; 3 Yaprakların %30'unda leke ve yanıklık saplarda lezyonlar nedeniyle kuruma ve kırılmalar dikkati çeker düzeyde veya aynı zamanda kapsüllerin en az 4'ünde leke var; 4 Hastalık bitkide yaprak lekeleri, yanıklıklar, kurumalar ve sap lezyonlarıyla en az %50 dolaylarında yayılmış durumda, kapsüllerin de en az yarısında lezyonlar, bitkinin genelinde halsizlik; 5 Hastalık bitkide yaprak lekeleri, yanıklıklar, kurumalar ve sap lezyonlarıyla en az %75 dolaylarında yayılmış durumda, kapsüllerin de en az %75'inde lezyonlar, bitki

kurumaya yüz tutmuş) ve hastalıklı kalıntı denemesinde kullanılan 0-4 iskalası (0 Herhangi bir belirti yok; 1 İlk 5 nodyuma kadar yaprak ve yaprak sapında yüzeysel lezyonlar; 2 Birinci iskala değerine ek olarak sapta yüzeysel lezyonlar; 3 5. nodyuma kadar yaprak ve sapta derin lezyonlar; 4 Bitki derin lezyonlar nedeniyle kısmen ölmüş veya ölmeye yüz tutmuş, bazı bitkilerin toprak üstü alanının hemen üzerinde infeksiyon nedeniyle kopmalar) bu çalışma sırasında tarafımızdan geliştirilmiştir.

Bezelye Üretiminde Yaygın Olarak Kullanılan Fungisitlerin Antagonistlere Etkisi

In vitro testlerde Chlorothalonil, Mancozeb, Methalaxyl ve Thiram gibi fungisitlerin 3, 10, 50 ve 100 ppm'lik dozları 40°C'ye soğutulmuş KB besiyerine verilmiştir. Fungisitlerin değişik doz basamaklarının bakteriyel antagonistlerin koloni gelişimine etkisi her bir doz serisine 3 yinlemeli ekimler yapılarak testlenmiştir. Ekimler 10¹⁰cfu/ml'lik bakteri süspansiyonunun 10⁻⁷'lik seyreltme serisinden her petriye 0.1 ml verilip bagetle yayılmasıyla yapılmıştır. 48 saat sonra her işlemin 3 petrisinde oluşan kolonilerin sayımı yapılarak bunların ortalaması alınmış ve koloni gelişimindeki engellenme değerleri Abbott 'a göre hesaplanmıştır.

Antagonistlerin Bitki Gelişimine Etkileri

Çiçek sayısı: Yeşil aksam deneme alanında ilk çiçeklenmeden 1 hafta sonra işlemlerde açan çiçek sayısı tespit edilmiştir.

Bitki boyu: Hastalık şiddetinin belirlenmesi amacıyla kullanılan bitkilerdeki ölçümlerle belirlenmiştir.

Verim: Hastalıklı kalıntı uygulamasında parsellerin 2. sırasındaki bitkiler hasat edilmiş ve sonrasında her parsel 4 sıradan oluştuğu için bu değerle çarpılmıştır. Deneme alanında 5 parseli bulunan her işlemin toplam verimi, ilgili parsellerdeki verimlerin toplanması sonrasında hesaplanmıştır.

BULGULAR

Ascochyta İzolatlarının Tanılanması

Çalışmanın bezelyede *Ascochyta* yanıklığından sorumlu etmenlerin belirlenmesine dönük yürütülen kısmında, ülkemizde patojen popülasyonun % 96.6 oranında *A. pinodes*'ten, %3.4 oranında ise *A. pisi*'den oluştuğu saptanmıştır (Çizelge 2). Bu ayırımın yapılmasında izolatların piknidium/piknidiospor ölçüleri ve yulaf agar ortamında oluşturduğu renk belirleyici olmuştur. Bu ortamda, 18°C'de, 8-12 günlük bir gelişmeden sonra havuç kırmızısı kiremit renginde piknidiospor yığınlarının görülmesi, *A. pisi*'yi; ten renginde bir gelişme ise *A. pinodes*'i karakterize etmiştir.

M. E. GÖRE ve T. BORA: BEZELYEDE *ASCOCHYTA* YANIKLIĞI VE BUNUN FLUORESENT
PSEUDOMONASLARLA BİYOLOJİK KONTROLÜ

Test Patojenine Karşı Çeşitlerin Reaksiyonu

Ülkemizde en yaygın ekilişi yapılan 14 çeşitle yürütülen çalışmalarda en düşük hastalık şiddeti Bolero çeşidinde saptanmış, bunu Jof ve Manuella izlemiştir. En çok ekiliş alanına sahip olması nedeniyle test bitkisi olarak seçilen Karina ise Viner çeşidinden sonra test patojenine karşı en duyarlı çeşit olarak saptanmıştır (Çizelge 3). Bu durum biyolojik savaş araştırma sürecinde, hastalığa karşı duyarlı bir çeşitle çalışılması gerekliliğini de karşılamaktadır.

Çizelge 3. Bezelye çeşitlerinde ölçülen hastalık şiddeti değerleri.

Table 3. Measured disease severity values on pea cultivars.

Çeşit Cultivar	Hastalık şiddeti* (%) Disease severity* (%)	Çeşit Cultivar	Hastalık şiddeti (%) Disease severity (%)
AG 7302	40	Manuella	18
AG 7306	47	Puget	40
AG 7307	23	Ronda	25
Bolero	1	Spring	25
Greenpearl	25	Sprinter	27
Jof	15	Utrillo	22
Karina	48	Viner	57

Değerler 5 yinelemenin ortalamasıdır.
Values are means of five replications.

Tarlada Mikroparsel Denemeleri

Yeşil aksam uygulamaları

Bu çalışma kapsamında yürütülen yeşil aksam tarla denemesi 07.02.2002 tarihinde kurulmuştur. Bitkilerin 4 nodumlu döneme gelmelerinin ardından önce antagonist sonra patojen spor süspansiyonu sırasıyla 14.03.2002 ve 15.03.2002 tarihlerinde uygulanmıştır. Hastalık belirtilerinin tarlada genel anlamda gözlenmesi ise 8-10 nodumlu dönemde 10.04. 2002'de olmuştur. Hastalık bu dönemden sonra tarlada işlemler arasında farklılıkları ortaya koyar bir tarzda gelişim izlemiştir. İlk gözlemin 19.04.2002'de yapıldığı denemede, antagonistler kontrole göre %60'le %68 aralığında değişen bir etkililik göstermiştir. Bu dönemde pozitif kontrolde saptanan hastalık şiddeti %36 olmuştur (Çizelge 4).

Bu çalışmada ayrıca antagonist izolatların bitki gelişimini artırıcı etkileri de araştırılmıştır. İlk gözlemin yapıldığı dönemde bitkilerdeki gelişim, pozitif kontrole göre boy olarak (cm) 51, 51+116, 17+122, 17 ve 122'de sırasıyla %7.6, %5.8, %5.3, %4.7 ve %2.9 daha fazla olmuştur. Antagonist uygulamalarında çiçeklenmenin de

fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu amaçla 02.04.2002 tarihinde gözlenen ilk çiçeklenmeden 7 gün sonra yani 08.04.2002 tarihinde tüm işlemlerde sadece açan çiçekler sayılmış ve çiçeklenme 17, 51, 122, 17+122 ve 51+116 nolu işlemlerde sırasıyla 57, 51, 39, 41 ve 43 adet olarak ölçülmüştür. Bu dönemde pozitif kontrol (sadece patojen uygulanan) ve negatif kontrolde (sadece su uygulanan) çiçek sayısı sırasıyla 40 ve 25 adette kalmıştır. Yeşil aksam alanındaki ikinci gözlem, 3 hafta sonra yapılmıştır. Bu geçen 3 hafta içerisindeki gözlemlerde hastalığın genel seyirindeki artışın yine pozitif kontrolde oldukça hızlı olduğu, özellikle sap kırılmalarının oluşumuna neden olan derin lezyonların bu dönemde oldukça sık rastlandığı gözlenmiştir. Çiçeklenme dönemiyle kapsüllerin yaklaşık 2-3 cm olduğu vejetasyon dönemini kapsayan 1. gözlemden farklı olarak 09.05 2002 tarihinde yapılan 2.gözlemde kapsüller dolmuş ve hasat olgunluğuna gelmiştir. 2. gözlemden antagonistlerin tümü yine test patojenine karşı etkili bulunmuştur. İzolatların kontrole göre % etkililikleri 51, 122, 17, 51+116 ve 17+122'de sırasıyla 59.6, 54.3, 51.7, 46.1 ve 43.5 olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4).

Antagonistlerin bitki gelişimini artırıcı etkilerini saptamak amacıyla bitkilerde yapılan ölçümlerde; pozitif kontrole göre 17+122, 17, 51+116, 51 ve 122 nolu işlemlerde sırasıyla %8.2, 6.3, 6.2, 5.6 ve 4'lik bir boy artışı saptanmıştır.

Hastalıklı Kalıntı

13.02.2002 tarihinde kurulan denemede, hastalık belirtileri bitkinin yine yaklaşık 7-10 nodyumlu döneminde yaygın olarak ortaya çıkmıştır. Hastalık gelişiminin oldukça dikkat çekici bir şekilde seyrettiği denemede pozitif kontrolde belirtilerin özellikle ilk 5 nodyuma kadar ki alanda yaygınlık gösterdiği saptanmıştır. Belirtiler özellikle bitkinin ana gövdesinde, sap lezyonları şeklinde yoğunlaşmıştır. Öyle ki bitkinin toprak üstündeki gövdesinin 1. cm'sinde lezyonlar sapı çepre çevre sarmıştır. Bu da aslında hastalığın yıldan yıla taşınmasında kalıntıların ne denli önemli olduğuna işaret etmektedir.

Antagonist parsellerinde özellikle ilk gözlemin yapıldığı 12.04.2002 tarihinde sap lezyonlarına oldukça az oranda rastlanmıştır. Denemenin değerlendirilmesi için bir 0-4 ıskalası geliştirilmiş ve bu ıskalaya göre alınan değerlerle antagonistlerin hastalığı oldukça iyi kontrol ettiği saptanmıştır. Antagonistlerin % etkililikleri 51, 17, 122, 17+122 ve 51+116'da sırasıyla 70.9, 69.5, 67, 67 ve 55.7 şeklinde gerçekleşmiştir (Çizelge 4).

Bu deneme kapsamında yeşil aksam uygulamalarında olduğu gibi antagonistlerin bitki gelişimini artırıcı etkileri de araştırılmıştır. Ancak bu ilk gözlemlerde önemli bir farklılık saptanamamıştır.

İlk gözlemi 12.04.2002 tarihinde yapılan denemenin ikinci gözlemi 09.05.2002 tarihinde yapılmıştır. İlk gözlemlerde hastalığın daha çok 5. nodyuma kadar ki alanda yaygınlık gösterdiği belirtilmişti. Lezyonların bu gözlemlerde daha da derinleştiği ve sekonder bulaşmalarla yukarıdaki yeşil aksama doğru taşındığı görülmüştür. Ancak, yukarı kısımdaki bu lezyonlar daha çok yaprak lezyonları şeklinde ortaya çıkmış sap lezyonları yine 5. nodyuma kadar ki alanda kümelenmiştir. Antagonistler bu gözlemlerde de oldukça etkili bulunmuştur. Öyle ki, özellikle 17, 51 ve 51+116 nolu işlemlerde sap lezyonlarının oldukça az olduğu, lezyonların ise derin olmadığı saptanmıştır. Kontrole göre % etkililikler ise 17, 51, 51+116, 122 ve 17+122'de sırasıyla %55.2, 54.4, 54, 43.6 ve 41.2 şeklinde gerçekleşmiştir (Çizelge 4).

Antagonistlerin bitki gelişimini artırıcı etkileri ise özellikle bu gözlemlerde oldukça açık bir şekilde ortaya çıkmıştır. Denemede 51 nolu izolatin bitki boyunu %6.4 oranında artırdığı, bunu %5.4'le 17+122, %5.1'le 51+116 ve %4.2'yle 17'nin takip ettiği saptanmıştır. Verim ise tüm antagonist işlemlerinde pozitif kontrole göre %5.1-14.6 arasında artış göstermiştir. En yüksek verim artışı 51 nolu izolatta %14.6 oranında saptanırken, bunu 122, %13.7 ile izlemiş, 17 ve 17+122 nolu antagonist uygulamalarında ise %12.8'lik bir değer saptanmıştır.

Üretim Alanında Kullanılan Fungisitlerin Antagonistlere Etkisi

Chlorothalonil'in 50 ppm'lik dozu sadece 17 nolu izolat üzerinde %41 oranında gelişmeyi baskılamış, 100 ppm'lik dozda ise bakteriyel gelişme 17'de %56, 122'de %33 ve 116'da %26 oranında engellenmiştir. Çalışmada mancozeb bakteriler üzerinde en etkili bulunan fungisit olmuştur. Öyle ki 100 ppm dozda 51, 17, 116 ve 122 üzerinde sırasıyla gelişmeyi %66, 62, 26 ve 20 oranında engellemiştir. Metalaxyl 50 ppm dozunda sadece 17 üzerinde %38 oranında etkili bulunmuş, bu değer 100 ppm dozunda %56'ya çıkmıştır. Ayrıca bu dozda fungisit 51 nolu izolat üzerinde de %13'lük bir etkililiğinin bulunduğu belirlenmiştir. 116 ve 122 üzerinde ise fungisit herhangi bir olumsuz etkisi saptanmamıştır. 17 nolu antagonist izolatin gelişimi thiram'ın 50 ppm'lik dozunda %38, 100 ppm'lik dozunda ise %53 oranında engellenmiştir. Fungisit 51, 116 ve 122 üzerinde ise herhangi bir etkisinin bulunmadığı saptanmıştır (Çizelge 5).

Çizelge 5. Seçilen fungusitlerin biyokontrol ajanları üzerine etkisi.

Table 5. The effect of selected fungicides on biocontrol agents.

Etkili maddeler Active ingredient	İzolatlar Isolates	Değişik doz basamaklarında saptanan ortalama koloni sayısı* Average number of the colonies in the different concentration of the fungicides*				
		0 ppm	3 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm
Chlorothalonil	17	34	34	32	20	15
	51	38	36	36	36	37
	116	35	35	35	35	26
	122	46	46	42	43	31
Mancozeb	17	34	34	18	16	13
	51	38	38	31	29	13
	116	35	30	28	28	26
	122	46	46	46	43	37
Metalaxyl	17	34	32	29	21	15
	51	38	38	35	38	33
	116	35	35	33	35	35
	122	45	45	45	43	45
Thiram	17	34	34	20	21	16
	51	38	38	38	38	38
	116	35	31	34	32	34
	122	46	45	45	45	45
Kontrol						
Etkili maddeler Active ingredient	İzolatlar Isolates	Kontrolle göre koloni azalışı (%) Colony decrease over control (%)				
		3 ppm	10 ppm	50 ppm	100 ppm	
Chlorothalonil	17	0	6	41	56	
	51	5	5	5	3	
	116	0	0	0	26	
	122	0	9	7	33	
Mancozeb	17	0	47	53	62	
	51	0	18	24	66	
	116	14	20	20	26	
	122	0	0	7	20	
Metalaxyl	17	6	15	38	56	
	51	0	8	0	13	
	116	0	6	0	0	
	122	0	0	4	0	
Thiram	17	0	41	38	53	
	51	0	0	0	0	
	116	11	3	9	3	
	122	2	2	2	2	

TARTIŞMA

Bu çalışma, dünyada bezelyenin en yıkıcı hastalığı olarak bilinen *Ascochyta* yanıklığının fluorescent Pseudomonaslarla önlenmesi olanakları üzerinde yürütülmüştür. Dünya genelinde, hastalığın kontrolüne dönük yapılan çalışmalara bakıldığında bunların daha çok dayanıklı çeşit ve kimyasal savaşım üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir (Bretag, 1991; Wroth ve Khan, 1999). Ancak, ne var ki dayanıklı çeşit geliştirme çabalarından pratiğe henüz somut bir sonuç aktarılamamıştır (Xue ve ark., 1998; Clulow ve ark., 1991; Nasir ve Hoppe, 1991). Öncelikli amacı biyolojik savaş temelinde hastalığın kontrolü olan çalışmamızda, Ege ve Marmara bölgesinden elde edilen 30 patojen izolatın tanısı yapılmış ve bunlardan en virulentisiyle (Göre ve Bora, 2003) hem hastalığın biyolojik savaşla kontrol olanakları, hem de mevcut önemli ticari çeşitlerin hastalık etmenine karşı reaksiyonları saptanmıştır. Sonuçları yurt dışındaki çalışmalarla örtüşen bulgular, eldeki izolatların %96 oranında *A. pinodes*'ten ve %4 oranında ise *A. pisi*'den oluştuğunu ortaya koymuştur (Bretag, 1991; Wroth, 1998). Hastalığa karşı çeşit reaksiyon testlerinde ise en düşük hastalık şiddeti %1'le Bolero çeşidinde gerçekleşmiş, bunu Jof ve Manuella çeşitleri sırasıyla %15 ve 18 değerleriyle izlemiştir. Çalışmalar, Bolero çeşidinde hastalığın diğer çeşitlere göre oldukça yavaş geliştiğini ortaya koymuştur.

Hastalığın biyolojik savaş yoluyla kontrol olanakları tarla koşullarında kurulan mikroparsel denemeleriyle belirlenmiştir. Bu denemelerde hastalığa karşı *in vitro* ve *in vivo* testlerde en umutvar bulunan antagonist izolatlar ve bunların ikili kombinasyonlarına yer verilmiştir (Göre ve Bora, 2003). Bilindiği üzere son yıllarda antagonistlerin bir karışım halinde uygulanmasıyla, biyolojik savaş ajanlarının aralarındaki sinerjiden yararlanılmakta, uygulama alanındaki toplam mikroflora üzerine daha doğrudan müdahale edilebilmekte ve ekolojik koşulların biyolojik savaş üzerindeki baskılayıcılığı böylece daha aza indirilebilmektedir (De Boer ve ark., 1997; Johnson ve ark., 1993; Pierson ve Weller, 1994).

Mikro parsel denemelerinde hastalığın karakteristik belirtileri, pozitif kontrol işlemlerinde 8-10 nodyumlu dönemde ortaya çıkmıştır. Nitekim yapılan literatür taramalarında da hastalığın tipik belirtilerinin genelde 10 nodyumlu dönemden önce ortaya çıktığı kayıtlıdır (Beasse ve ark., 2000; Garry ve ark., 1996; Xue ve ark., 1997). Bir vejetasyon dönemi boyunca yapılan 2 gözlemlerle değerlendirilen denemelerde pozitif kontrol ve antagonist uygulamaları arasında hastalığın seyri ve şiddeti açısından belirli oranda farklılıklar saptanmıştır. Öyle ki, yeşil aksam uygulamalarında hastalık %43-59, kalıntı uygulamalarında %41-55 oranlarında kontrol edilebilmiştir. Biyolojik savaşta en iyi etkinin maksimum %70 dolayında olabileceği düşünülürse elde edilen etkinin önemli olduğu kuşkusuzdur (Harvey, 1994). Hastalığın bu denli iyi kontrol edilmesinin yanında, çalışmada, antagonistlerin

çiçek sayısı, bitki boyu ve verimde sağladığı artışlarla bitki gelişimine olumlu etkilerinin bulunduğu da saptanmıştır. Bu tür bulgulara rizobakterilerin kullanıldığı çalışmalarda sıkça rastlanmaktadır (Albuquerque ve ark., 2003; Anith ve ark., 2003; Diby ve ark., 2003; Kochuthresiamma ve ark., 2003). Bu durum antagonistlerin yer ve besin yarışması ve antibiosis yoluyla hastalığı kontrol yeteneklerinden kaynaklanabilmektedir. Nitekim yapılan çalışmalarda fluorescent Pseudomonasların patojenleri daha çok besin ve yer yarışması (Elad ve Baker, 1985; Elad ve Chet, 1987), pyrrolnitritin, pyocyanine, 2,4 diacetyl phloroglucinol gibi metabolitlerin rol oynadığı antibiosis (Pierson ve Thomashow, 1992) ve siderofor salgılamak suretiyle (özellikle patojenlerin demir kullanımını sınırlandıran pseudobactin'le) (Kloepper ve ark., 1980; Lemanceau ve ark., 1992) kontrol ettikleri belirtilmektedir. Diğer önemli kimyasalları ise oluşturdukları litik enzimleridir. Örneğin, hücre duvarının parçalanmasında chitinase ve β -1-3 glucanase (Lim ve ark., 1991; Velazhahan ve ark., 1999), HCN üretimi (Defago ve ark., 1990) ve patojen tarafından üretilen toksinlerin parçalanmasıdır (Borowitz ve ark., 1992; Duffy ve Defago, 1997). Son yıllarda uyarılmış dayanıklılık yoluyla da fluorescent Pseudomonasların bitki patojenlerini başarıyla kontrol ettiği görülmektedir (Van peer ve ark., 1991; Vidhyasekaran ve Muthamilan, 1999).

Çalışmada 3, 10, 50 ve 100 ppm'den oluşan bir doz serisi kullanılarak antagonist izolatların bezelyede en çok kullanılan chlorothalonil, mancozeb, metalxyl ve thiram gibi fungusitlerle olan etkileşimi de araştırılmıştır. Yeşil aksam ve kalıntı uygulamalarında en iyi sonucun alındığı 51 ve 17 nolu fluorescent Pseudomonas izolatlarının fungusitlerle olan etkileşimine bakıldığında 51'in mancozeb dışında diğer fungusitlerden etkilenmediği gözlenmiştir. 17 ise tüm fungusitlerden en fazla etkilenen antagonist olmuştur. 116 ve 122 nolu izolatlar ise metalaxyl ve thiram'dan hiç etkilenmemiş, chlorothalonil ve mancozeb'in 100 ppm'lik dozunda koloni gelişmelerinde %20-30 arasında bir engellenme saptanmıştır.

Tohum kaynaklı Ascochyta infeksiyonlarının önlenmesinde en çok thiram ve metalaxyl, yeşil aksam infeksiyonlarının önlenmesinde ise en çok chlorothalonil ve mancozeb etkili maddeli preparatlar kullanılmaktadır. Pratikteki uygulamanın bu şekilde olduğu göz önünde tutulursa, 51'in mancozeb dışındaki tüm ilaçlarla birlikte veya dönüşümlü olarak kullanılabilceği yapılan bu çalışmayla ortaya konmuştur. Çalışmada 51'den sonra en başarılı bulunan 17 nolu izolat ise fungusitlerden en fazla etkilenen antagonist olmuştur. Bu nedenle bu izolatın adı geçen fungusitlerle birlikte kullanılmasının doğru olmayacağı, ancak konunun hastalığa etkili olabilecek başka fungusitlerin denenmesine açık olduğu kuşkusuzdur. Fungisitlerle etkileşimin ortaya konmaya çalışıldığı bu *in vitro* denemede 116 ve 122'nin ise yine tüm ilaçlarla kombine bir şekilde kullanılabilceği saptanmıştır.

Önceki çalışmalarda elde edilen sonuçların çalışmamız paralelinde olduğunu söylemek mümkündür. Yapılan çalışmalar Pseudomonasların fungusitlere karşı duyarlılığının oldukça düşük olduğunu göstermektedir (Pedersen ve ark., 2001). Levy ve arkadaşlarının (1988) yaptığı bir çalışmada *Mycosphaerella graminicola*, *Puccinia recondita f.sp. tritici*, *Geotrichum candidum*, *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotium rolfsii*'ye karşı başarılı bulunan 2 fluorescent Pseudomonas izolatının 2,4-D, dichlofob methyl, benomyl, captafol, chlorothalonil, fenarimol, mancozeb, maneb, metalaxyl, prochloraz, propiconazole, triadimefon gibi etkili maddelerden etkilenmediği belirlenmiştir.

Pestisitlerin mikroorganizmalar üzerinde etkilerinin araştırıldığı Odeyeni ve Alexander'ın (1977) yaptığı çalışmada thiramın bezelyede nodül oluşturan rhizobiumlara karşı etkisiz bulunduğu bildirilmektedir. Bunun yanında toprak mikrobiyal dengesine metalaxyl, mancozeb ve thiram'ın etkililiğinin araştırıldığı çalışmalarda da bakteri popülasyonu üzerinde herhangi bir olumsuzluk saptanmamıştır (Dığrak ve Özçelik, 1998).

Sonuç olarak, bu çalışma ile bezelyenin en önemli hastalığı olarak bilinen Ascochyta yanıklıklarının fluorescent Pseudomonaslarla kontrol edilebileceği saptanmıştır. Hastalık, yeşil aksama 4 nodyumlu dönemde, hastalıklı kalıntıya ise ekimden bir hafta önce yapılan antagonist uygulamalarıyla %55-60 oranlarında kontrol edilebilmiştir. Bunun yanında verim kalıntı uygulamasında kontrole göre %15'lik bir artış göstermiştir. Üstelik, antagonist izolatlardan 51, 116 ve 122 bezelyede en çok kullanılan chlorothalonil, metalaxyl ve thiram fungusitlerinden etkilenmemiştir. Bu sonuçlarla, bitki hastalıklarıyla entegre mücadele içerisinde yer alan, biyolojik savaşın öümüzdeki zaman diliminde önemini daha da artırması beklenmelidir. Bundan sonra ki yapılacak çalışmalarda elde edilen sonuçların makro parsel denemeleriyle de doğrulanması ve daha sonra biyopreparat geliştirmeye dönük çalışmalara geçilmesi gerekmektedir.

LİTERATÜR LİSTESİ

- Albuquerque, V. V., D. Terao, and R. L. R. Mariano. 2003. Growth-Promotion and Biocontrol of Fusarium Wilt In Micropropagated Plantlets Of *Musa* Sp., 6th International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). 5-10 October, Calicut, India, page 3-8.
- Ali, S., L. E. Nitschke, A. J. Dube, M. R. Krause and B. Cameron. 1978. Selection of pea lines for resistance to pathotypes of *Ascochyta pinodes*, *A.pisi* and *Phoma medicaginis* var. *pinodella*. Aust.J.Agric.Res. 39: 841-849.

- Anith, K. N., M. T. Momol and J. W. Kloepper. 2003. Plant Growth Promotion and Biological Control of Bacterial Wilt of Tomato by Plant-Growth Promoting Rhizobacteria, 6th International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). 5–10 October, Calicut, India, page 103 (Abstract).
- Anonymus. 2002. Türkiye İstatistik Yıllığı. Devlet İstatistik Enstitüsü.
- Barbetti, M. and A. Brown. 1993. Diseases, in: Growing Field Peas, J. Carpenter ed. Western Australia Department of Agriculture. Buletin 4239.
- Beasse, C., B. Ney and B. Tivoli. 2000. A simple model of pea (*Pisum sativum*) growth affected by *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Pathology*, 49:2, 187-200.
- Bora, T. ve H. Özaktan. 1998. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş. Prizma Matbaacılık, 205p.
- Borowitz, J. J., M. Stankie-Dicz, T. Lewicka and Z. Zukowska. 1992. Inhibition of fungal cellulase, pectinase and xylanase activity of plant growth promoting fluorescent pseudomonads. *Bull. OILB/SROP* 15: 103-106.
- Bretag, T. 1991. Epidemiology and control of *Ascochyta* blight of field peas. Ph.D. Thesis, La Trobe University.
- Bretag, T. W., T. V. Price, and P. J. Keane. 1995. Importance of seed-borne inoculum in the etiology of the *Ascochyta* blight complex of field peas (*Pisum sativum* L.) grown in Victoria. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 35: 4, 525-530.
- Carter, M. V. and W. J. Moller. 1961. Factors affecting the survival and dissemination of *Mycosphaerella pinodes* in south Australian irrigated pea fields. *Australian J. Agric. Res.* 12(5): 878-888 + plate 1.
- Clulow, S. A. 1989. The resistance of *Pisum* to *Mycosphaerella pinodes* (Berk.&Blox.) Vestergr. PhD Thesis, pp.1-198. The University of East Anglia, Norwich.
- Clulow, S. A., B. G. Lewis, and P. Matthews. 1991. A pathotype classification for *Mycosphaerella pinodes*. *Journal of Phytopathology*, 131: 4, 322-332.

- De Boer, M., I. van der Sluis, L.C. van Loon, and P. A. H. M. Bakker. 1997. *In vitro* compatibility between fluorescent *Pseudomonas spp.* strains can increase effectivity of Fusarium wilt control by combinations of these strains. Pages 380-382 in: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-Present Status and Future Prospects. Proc.Int. Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria, 4th. A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and S. Akino, eds. Nakanishi Printing, Sapporo, Japan.
- Defago, G., C. H. Berling, U. Burger, D. Hass, G. Kahr, C. Keel, C. Vosard, P. Wirthner and B. Wuthrich. 1990. Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In Hornby, D. (Ed.), Biological Control of Soilborne Plant Pathogens. CAB International, Wellingford, Oxon, UK, pp. 93-108.
- Dığrak, M. ve S. Özcelik. 1998. Effect of some pesticides on soil microorganisms. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 60, 916-922.
- Diby Paul, V. Srinivasan, M. Anandaraj and Y. R. Sarma. 2003. *Pseudomonas Fluorescens* Mediated Nutrient Flux In The Black Pepper Rhizosphere Microcosm And Enhanced Plant Growth. 6th International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). 5–10 October, Calicut, India, page 18-24.
- Duffy, B. K. and G. Defago. 1997. Zinc improves biocontrol of *Fusarium* crown and root rot of tomato by *Pseudomonas fluorescens* and represses the production of pathogen metabolites inhibitory to bacterial antibiotic biosynthesis. Phytopathology 87: 1250-1257.
- Elad, Y. and R. Baker. 1985. The role of the competition for iron and carbon in suppression of chlamyospore germination of *Fusarium spp.* by *Pseudomonas spp.* Phytopathology, 75: 1053-59.
- Elad, Y. and I. Chet. 1987. Possible role of competition for nutrition in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. Phytopathology, 77: 190-195.
- Garry, G., B. Tivoli, M. H. Jeuffroy and J. Citharel. 1996. Effect of Ascochyta blight caused by *Mycosphaerella pinodes* on the translocation of carbohydrates and nitrogenous compounds from the leaf and hull to the seed of dried-pea. Plant Pathology, 45: 4, 769-777.

- Göre, M. E. ve T. Bora. 2003. Bezelyede Ascochyta Hastalıklarıyla Biyolojik Savaşta Fluoresent Pseudomonasların Etkisinin Saptanması Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 172 sayfa.
- Harvey, W. and Jr. Spurr. 1994. Microbial ecology of fruit and vegetable surfaces: its relationship to postharvest biocontrol: In Biological Control of Postharvest Diseases: Theory and Practice. 11-23. C. L. Wilson, M. E. Wisniewski (Eds) CRC Pres, London.
- Johnson, K. B., V. O. Stockwell, R.J. McLaughlin, D. Sugar, J. E. Loper and R. G. Roberts. 1993. Effect of antagonistic bacteria on establishment of honey bee-dispersed *Erwinia amylovora* in pear blossoms and on fire blight control. *Phytopathology*, 83: 995-1002.
- Jones, L. K. 1927. Studies of the nature and control of blight, leaf and pod spot, and foot rot of peas caused by species of Ascochyta. N. Y. St. Agric. Exp. Sta. Bull. 547.
- Kloepper, J. W., J. Leong, M. Teintze and M. N. Schroth. 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature (Lond.)*, 227: 680-685.
- Kochuthresiamma, J., V. Sinju, G. Jinu, M. Jacob and C. K. Jacob. 2003. Plant Growth Promoting Rhizobacteria In Rubber (*Hevea brasiltensis*) Plantations. 6th International Workshop on Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). 5-10 October, Calicut, India, page 47 (Abstract).
- Lawyer, A. S. 1984. Foliar diseases caused by fungi. Pages 11-15 in Hagedorn, D. J. (ed.). *Compendium of Pea Diseases*, Am. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN.
- Lemanceau, P., P. A. H. M. Bakker, W. J. Dekogel, C. Alabouvette and B. Schippers. 1992. Effect of pseudobactin 358 produced by *Pseudomonas putida* WCS358 on suppression of *Fusarium* wilt of carnation by non patgogenic *Fusarium oxysporum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58: 2978-2980.
- Levy, E., Z. Eyal, and I. Chet. 1988. Suppression of *Septoria tritici* and leaf rust on wheat seedling leaves by pseudomonads. *Plant pathology*, 37: 4, 551-557.

- Lim, H., Y. Kim, and S. Kim. 1991. *Pseudomonas stutzeri* YLP-1 genetic transformation and antifungal mechanism against *Fusarium solani*, an agent of plant root rot. Appl. Environ. Microbiol., 57: 510-516.
- McKenzie, D. L. and R. A. Morrall. 1973. Diseases of three specialty legume crops in Saskatchewan in 1972. Field pea, lentil and faba bean, Can. Plant Dis. Surv., 53:187-190.
- Nasir, M. and H. H. Hoppe. 1991. Studies on pathotype differentiation within *Mycosphaerella pinodes*, a component of the Ascochyta-disease-complex of peas (*Pisum sativum* L.). Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 98: 6, 619-626.
- Odeyeni, O. and M. Alexander. 1977. Resistance of *Rhizobium* Strain to Phygon, Spergon and Thiram. Applied and Environmental Microbiology, American Society for Microbiology. P.784-790.
- Pedersen, H. C., I. Weiergang, M. M. Pontoppidan, L. Jorgensen and A. Svingel. 2001. Prolonged shelf-life or carrier-loaded dehydration sensitive micro-organism. Danisco Seed, Seed Technology, Dept., Hoejbygaardvej 31, DK-4960 Holeby, Denmark.
- Pierson, E. A. and D. M. Weller. 1994. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. Phytopathology, 84: 940-947.
- Pierson, L. S. and L. S. Thomashow. 1992. Cloning and heterologous expression of the phenazine biosynthetic locus from *Pseudomonas aureofaciens*. Mol.Plant-Microbe Interact., 5: 330-339.
- Van Peer, R., G. J. Niemann and B. Schippers. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. Phytopathology, 81: 728-734.
- Velazhahan, R., R. Samiyappan and P. Vidhyasekaran. 1999. Relationship between antagonistic activities of *Pseudomonas fluorescens* isolates against *Rhizoctonia solani* and their production of lytic enzyme. J.Plant Dis.Prot., 79: 782-786.
- Vidhyasekaran, P. and M. Muthamilan. 1999. Evaluation of powder formulations of *Pseudomonas fluorescens* Pfl for control of rice sheath blight. Biocontrol Sci.Technol., 9:67-74.

- Wallen, V. R. 1974. Influence of three Ascochyta diseases of peas on plant development and yield. *Can. Plant Dis. Surv.*, 54:86-90.
- Wroth, J. M. and T. N. Khan. 1999. Differential responses of field pea (*Pisum sativum* L.) to Ascochyta blight (*Mycosphaerella pinodes*) : rating diseases in the field. *Australian Journal of Agricultural Research*, 50: 4, 601-615.
- Wroth, J. M. 1998. Possible role for wild genotypes of *Pisum* spp. to enhance Ascochyta blight resistance in pea. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 38: 5, 469-479.
- Xue, A. G., T. D. Warkentin and E. O. Kenaschuk. 1997. Effects of timings of inoculation with *Mycosphaerella pinodes* on yield and seed infection of field pea. *Canadian Journal of Plant Science*, 77: 4, 685-689.
- Xue, A. G., T. D. Warkentin, B. D. Gossen, P. A. Burnett, A. Vandenberg and K. Y. Rashid. 1998. Pathogenic variation of western Canadian isolates of *Mycosphaerella pinodes* on selected *Pisum* genotypes. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 20: 2, 189-193.