

Geliş Tarihi: 11.10.2004

Farklı Floresant Pseudomonas (FP) İzolatları ve Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) *Glomus intraradices*'in Domates'teki Bazı Morfolojik Parametrelere ve Fusarium Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) Etkisi

Ahmet AKKÖPRÜ⁽¹⁾

Semra DEMİR⁽¹⁾

Hatice ÖZAKTAN⁽²⁾

Özet: Bu araştırmada 13 farklı nonpatojenik Floresant Pseudomonas (FP) izolatı ile Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF) *Glomus intraradices* Schenck&Smith'in domates bitkisinin bazı morfolojik parametreleri (bitki boyu, yaş ve kuru ağırlık) ve Fusarium solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) (FOL) karşı etkileri, iklim odasında saklı testleriyle araştırılmıştır. *G. intraradices* (*G.i.*) inokulasyonu tohum ekimi sırasında (75 spor/10 g toprak), FP süspansiyonları (10^9 hücre/ml) ise domates fidelerinin köklerine uygulanmıştır. *G.i.* kontrol % 48 oranında hastalığı baskımlarken FP+FOL % 12-68, FP+FOL+*G.i.* uygulamalarında ise hastalık şiddetinde % 48-92 oranında bir azalma saptanmıştır. 58/1 21/1K, 17 ve D/2 no'lu FP izolatları tüm uygulamalarda hastalığı engelleme açısından oldukça başarılı olurken, 70 no'lu FP izolatı ise hastalık üzerinde etkisiz bulunmuştur. Domates bitkisinin morfolojik parametreleri özellikle üçlü inokulasyonlarda (FP+FOL+*G.i.* uygulamaları) kontrol bitkilerine göre daha yüksek bulunmuştur. AMF'nin kolonizasyon oranları da uygulamalara göre farklılık göstermekle beraber % 13-68 oranında değişmiştir. Bu değerlendirmeler ışığında AMF ve FP izolatlarının, gerek tek ve gerekse ikili inokulasyonlarının bitki gelişimi ve dayanıklılığının artırılması açısından etkili olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Floresant Pseudomonas (FP), Arbusküler Mikorhizal Fungus (AMF), Fusarium solgunluğu, domates, dayanıklılık

Effect of Different Fluorescent Pseudomonad (FP) isolates and an Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF) *Glomus intraradices* on Some of the Morphological Parameters of Tomato and Fusarium Wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) in Tomato

Abstract: The effects of thirteen nonpathogenic Fluorescent Pseudomonad (FP) isolates and Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF), *Glomus intraradices* Schenck &Smith, were examined on some of the morphological parameters (plant length, fresh and dry weight) of tomato and Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) (FOL) in tomato in pots tests in this research. While *G. intraradices* (*G.i.*) was inoculated (75 spor/10 g soil) during the seed sowing, the FP bacteria suspensions (10^9 cfu/ml) were applied to the roots of tomato seedlings grown in pots. Treatments of *G.i.*, FP+FOL and FP+FOL+*G.i.* reduced the disease severity respectively by 48 %, 12-68 % and 48-92 %. Respectively although FP isolates, 58/1, 21/K, 17 and D/2, performed very successfully in all the treatments in terms of reduced disease, the isolate of 70 was not effective on the disease. Morphological parameters of tomato were found to be higher than the control plants, particularly in triple inoculations (FP+FOL+*G.i.* treatments). The colonization rates of *G.i.* revealed differences in various treatments, and changed at rates of 13-68 %. Results showed that single or dual inoculations of AMF and FP isolates could effectively increase plant growth and resistance.

Key words: Fluorescent Pseudomonads (FP), Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF), Fusarium wilt, tomato, resistance

Giriş

Bir çok tarla ve bahçe bitkisinde olduğu gibi domates bitkisinde de ekonomik anlamda verim kayıpları, çökerten, fide yanıklığı, kök ve kök boğazı çürüklüğü, kök kahverengileşmesi ve solgunluk gibi toprak kökenli patojenlerden kaynaklanan hastalıklardan dolayı meydana

gelmektedir (Yücel, 1989; Yıldız, 1999). Domateste görülen solgunluk hastalığının etmeni olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL)'de toprak kökenli patojenler içinde önemli bir grubu oluşturmaktadır (Yıldız, 1999).

⁽¹⁾ Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 65080 - VAN

⁽²⁾ Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 35100, Bornova-İZMİR

Toprak kökenli hastalık etmenleri, mücadele olanakları oldukça sınırlı olan etmenler arasında yer almakta olup, bu grup üyelerine karşı fungusit uygulaması ile istenilen etkiye ulaşılamamaktadır (Yücel, 1989; Blancard, 1993; Bora ve ark., 1994). Son yıllarda hastalıkla mücadelede etkin yol olarak solarizasyon önerilmekte ise de fungusun toprağın 80 cm derinliğinde bulunabilmesi bu uygulamada da istenilen sonuçlara ulaşılmasını engellemektedir (Yücel, 1989; Blancard, 1993).

Yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı FOL ile mücadele yöntemlerinin yetersiz kalması ve dünyada çevre sağlığı konusundaki hassasiyetinin artması, araştırmacıları ekolojik tarım çerçevesinde, biyolojik savaş alanında çalışmaya ve yeni biyolojik savaş elemanları bulmaya yöneltmiştir. Söz konusu biyolojik savaş elemanları arasında Arbusküler Mikorhizal (AM) funguslar ve Floresant Pseudomonas (FP) bakterileri önemli yere sahiptirler (Caron ve ark., 1985; 1986; Bora ve ark., 1994; Demir, 1998). Gerek AM fungusları ve gerekse FP bakterileri, hem bitkiyi bazı kök hastalıklarına karşı korumak hem de bitki gelişimi artırmak yönünde oldukça etkili simbiyotlar olarak kabul edilmektedirler (Bora ve ark., 1994; Smith ve Read, 1997; Duijff ve ark., 1999).

Bitki kökleri ile belirli fungusların ortaklaşa yaşamları sonucu oluşturdukları yapıya "Mikorhiza" denir. Bu simbiyotik yaşam kara bitkilerinde mikroorganizmalar ile bitkiler arasındaki en yaygın simbiyotik yaşam şekillerinden biridir. Mikorhizal funguslar içerisinde Arbusküler Mikorhizal (AM) funguslar bitkiye sağladıkları yararlar açısından önemli yere sahiptirler. Bu simbiyotik ilişkide, bitki fungus'a karbonhidrat ve bazı besin maddeleri vermekte fungus ise bitkinin başta fosfor olmak üzere bazı besin elementleri ve su alınımını arttırmaktadır (Demir, 1998). AM fungusları besin elementi alınımını arttırmak yoluyla, mikorizosferdeki fizyolojik ve mikrobial değişimlerle bitkinin morfolojik yapısını kuvvetlendirmekte ve bitki dokularındaki kimyasal bileşikleri değiştirerek, fungal kök hastalıklarını ve nematodları baskı altında tutmaktadır (Azcón-Aguilar ve Barea, 1996).

AM fungusları ile *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 'nin farklı yetiştirme ortamlarında aralarındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada; kullanılan ortama bağlı olarak *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* popülasyonunun değişen oranlarda baskılandığı tespit edilmiştir (Caron ve ark., 1985). Yine Caron ve ark. (1986), *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*'ye karşı AMF ile fosfor (P) konsantrasyonunun etkisini araştırmış ve bütün P konsantrasyonlarında, AM funguslarının patojen yoğunluğunu azalttığını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada, soya fasulyesinde *Fusarium* etmenine karşı AM fungusları ile yapılan çalışmada, bu simbiyotlar ile hastalığa karşı yüksek seviyede kontrol sağlandığı belirtilmiştir (Zambolim ve Schenck, 1983).

Bu araştırmada kullanılan bir diğer biyolojik savaş elemanı, bir rizosfer üyesi olan FP (Fluorescent

Pseudomonas) bakterileri olmuştur. Bir çok patojene karşı kullanılan bu mikroorganizmalar, rekabet, antibiosis ve kazanılmış dayanıklılık sistemleri ile hastalık etmenlerini baskı altına almakta, aynı zamanda PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) etkileri ile de bitki gelişimini olumlu yönde etkilemektedirler. FP'ler rizosferde bulunan diğer mikroorganizmalar ile, özellikle patojenik karakterde olanlarla, yer ve rizosferde bulunan demir (F^{+3}) için rekabete girerler, kök yüzeyinde çok hızlı bir şekilde kolonize olur ve patojenin kökten girişini belirli oranda engelleyebilirler. Demir rekabetinde ise F^{+3} 'e yüksek affiniteye sahip siderefor üreterek, fungal patojen sporlarını F^{+3} açlığına uğratar ve çimlenmelerini engellerler (Bora ve ark., 1995).

Birçok toprak kaynaklı fungal patojene karşı biyolojik kontrol sağlayan FP bakterilerinin *Fusarium* solgunluk etmenlerine karşı da etkili olduğu bildirilmektedir. Toprak kaynaklı Pseudomonasların ürettiği demir şelatörler ile fungal gelişiminin engellenmesinin incelendiği bir çalışmada, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*'nin önemli düzeyde baskılandığı belirtilmiştir (Vandenbergh ve ark., 1983).

Bora ve ark.; (1994), kavun ve karpuzda *Fusarium* solgunluğuna karşı FP bakterilerini kullanarak yapmış oldukları tarla denemesinde, hastalık etmeninin ümit var düzeyde engellendiğini, özellikle kavunda bazı FP izolatlarının uzun süre % 83 gibi yüksek oranda hastalığı baskıladığını tespit etmiş ve izolatların biyopreparat elde edilmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Çeşitli sebzelerde *Fusarium* solgunluğuna karşı FP bakterilerini kullanan bir çok araştırmacı, hastalık etmeninin etkili düzeyde engellendiğini belirtmişlerdir (Larkin ve Fravel, 1998; Duijff ve ark., 1999).

Yukarıda sözü edilen biyolojik savaş elemanlarının bir birleriyle olan ilişkileri üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Paulitz ve Linderman (1989), yapmış oldukları çalışmada AM fungusları ile FP bakterileri arasındaki ilişkiyi incelenmiş, yapılan gözlemler sonucu ilk haftada FP'lerin ürettiği oldukları antibiyotiklerden dolayı, AM funguslarının sporulasyonunu geciktirdiği, fakat bir haftadan sonra FP bakterileri ile bulaşık olan yada olmayan örnekler arasında AM funguslarının sporulasyonu açısından önemli bir fark olmadığı belirtilmiştir.

Yapılmış olan literatür çalışmalarında, AM fungusları ve FP bakterilerinin birlikte *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* üzerinde etkilerine yönelik bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada önemli bir domates hastalığı olan *Fusarium solgunluğuna* karşı AM fungusu *Glomus intraradices* ve FP bakterilerini birlikte ve tek tek kullanarak hastalık gelişimi üzerine olan etkilerinin ve solgunluk gibi mücadelesi çok zor olan hastalıklarla savaşmada daha etkili ve çevre dostu alternatif bir mücadele yönteminin ortaya konması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bitki: Test bitkisi olarak domates (*Lycopersicon lycopersicum* L. syn: *L. esculentum*.)'nin FOL'a karşı hassas olduğu bilinen Süper Marmande cv kullanılmıştır

Bitki Yetiştirme Ortamı: Yetiştirme ortamı olarak 1:1:1 oranında kum, ponza ve topraktan oluşan harç materyali kullanılmıştır. Toprak materyali Van merkez Kalecik köyünden temin edilmiştir. Bütün harç materyalleri 121 °C ve 1 atmosfer basınçta 1,5 saat otoklavlandıktan sonra steril ortamlarda harç yapılarak kullanılmıştır.

İzolatlar

Patojen izolatı: *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* (FOL)'ye ait Davutlar (Kuşadası)'dan izole edilmiş 83 no'lu izolat (Yıldız, 1999).

AMF: *Glomus intraradices*'e ait OM/95izolatı (Demir ve Onoğur, 1999).

FP: Değişik konukçu bitkilerden izole edilmiş farklı 13 FP izolatı (Çizelge 1).

Çizelge 1. FP izolatlarının, alındıkları bölgeler, izole edildikleri konukçu ve organları ile UV altındaki florasan renkleri

No	İzolat	İzole edildiği Yer	İzole edildiği bitki/bitki organı	UV altındaki florasan renk
1	67	Çaybaşı/Torbalı - İzmir	Domates / Kök	Zayıf yeşil
2	58/1	KarasilYenişehir- Bursa	Domates / Kök	Sarımsı yeşil
3	75	Bayındır Tire yolu - İzmir	Domates / Kök	Zayıf mavi
4	62	Çeltikli Yenişehir - Bursa	Domates / Kök	Yeşil
5	73/1	Bayındır merkez - İzmir	Domates / Kök	Mavi
6	33/K	Aksakal /Bandırma - Balıkesir	Domates / Kök	Sarımsı yeşil
7	70	Aslanlar - İzmir	Domates / Kök	Mavi
8	18/2	Kırkağaç/Gelenbe - Manisa	Domates / Kök	Zayıf mavi
9	21/1K	Kocaavşar - Balıkesir	Domates / Kök	Mavimsi
10	D1	Arpalık/Turgutlu - Manisa	Domates / Kök	-
11	D2	Tire - İzmir	Domates / Kök	Yeşil
12-	50	Gülbahçe - İzmir	Bakla / Yaprak	Mavi
13-	17	EÜ Zir. Fak. Bahçesi	Tütün / Kök	Yeşil

Yöntem

AMF (+) ve AMF (-) domates fidelerinin yetiştirilmesi: Domates fideleri %10'luk formaldehit (%36) ile dezenfekte edilmiş plastik küvetlerde yetiştirilmiş, AMF (+) küvetlere bitki yetiştirme ortamı + *G. intraradices* izolatı (75 spor / 10 g toprak), AMF (-) küvetlere ise bitki yetiştirme ortamı + steril kum konulmuştur. Ekimi yapılacak domates tohumları % 2'lik sodyum hipoklorit içinde 5 dakika tutulmuşlar, daha sonra steril destile su ile yıkanmışlardır. Tohum ekiminden itibaren 8 hafta boyunca iklim odasında bekletilen küvetler 4-5 günde bir saf su ile sulanmışlardır.

Patojen inokulumunun hazırlanması: FOL'ün geliştirilmesinde PDA besiyeri, çoğatılmasında ise mısır unu-kum kültürü kullanılmıştır (Turhan ve Grosman, 1987)

Bitki yetiştirme ortamı ve patojen inokulasyonu: Fidelerin şaşırtılacağı 16x18 cm ebatlarındaki saksılar %10'luk sodyum hipoklorit ile dezenfekte edilmiş, saksı tabanına 4-5 cm kalınlığında steril ponza ve üzerine 5.5. kg yetiştirme ortamı eklenmiştir. Patojen inokulasyonunun yapılacağı saksılara ise 19/1 oranında FOL inokulumu

karıştırılmıştır. Hazırlanan saksılar, fideler şaşırtılmadan önce 48 saat bekletilmiş, daha sonra domates fideleri şaşırtılmaya hazır hale gelmiştir. Bu arada fidelerde, şaşırtılmadan önce AMF oluşumu tespit edilmiş ve *G. intraradices*'in ortalama % 58 oranında domates fidelerinde kolonize olduğu belirlenmiştir.

FP süspansiyonunun hazırlanması ve köklere uygulanması: Domates fidelerinin FP izolatları ile inokulasyonlarında King-B besiyerinde geliştirilmiş 24 saatlik FP kültürleri kullanılmış ve traşlanan bitki kökleri 10⁹ hücre/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonlarına 30 dk. daldırılarak fidelerin inokulasyonları sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra şaşırtmaya hazır hale gelmişlerdir.

Tesadüf parseli deneme desenine göre 8 farklı muamele grubu oluşturulmuş ve her muamele 6 tekerrürlü olup her bir tekerrürde 3 domates fidesi yer almıştır. Saksılar 10 hafta süresince 24-26 °C'de 15 saat, 14-16 °C'de 10 saat'e ayarlı ve %60 nisbi neme sahip iklim odasında tutulmuş ve deneme süresince haftada iki defa saf su ile sulanmışlardır. Ayrıca deneme boyunca üç kez zayıflatılmış besin çözeltisi uygulanmıştır (Vosatka ve Gryndler, 1999'dan modifiye edilerek).

Hastalık şiddetinin belirlenmesi: İklim odasında 10 hafta süresince tutulan domates fidelerinde *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*'nin neden olduğu hastalık şiddetini belirlemek amacıyla gözlemler yapılmış ve bitkideki genel solgunluk belirtileri değerlendirilmiştir. Bu amaçla 0-4 skalası kullanılmıştır (0= Hastalık yok, 1= Bitkinin % 25'i yada daha azı solgun, 2= Bitkinin % 50'si solgun, 3= Bitkinin % 70'i solgun, 4= Bitkiler ölü) (Bora ve ark., 1994).

Morfolojik parametrelerin saptanması: Hastalık şiddetinin tespitinden sonra domates bitkilerinin boyları (cm) ölçülmüş (kök boğazının toprakla kesiştiği yerden, ana gövdedeki çiçek tablasına kadar olan kısım), kök ve yeşil aksam ağırlıkları ayrı ayrı tartılmıştır. Yaş ağırlıkları tespit edilen bitki kök ve yeşil aksam örnekleri kese kağıtlarına konarak 70°C'de 48 saat süresince kurutma dolaplarında tutulmuş, daha sonra kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Kacar, 1984).

AMF kök kolonizasyonunun belirlenmesi: Domates bitkilerinin köklerinde *G. intraradices*'in varlığını ve

kolonizasyon yüzdesini saptamak üzere köklerde boyama işlemi yapılmıştır (Phillips ve Hayman, 1970'den modifiye edilerek). Lactophenol blue çözeltisi ile boyanmış köklerdeki AMF'un kolonizasyon yüzdesini saptamak üzere mikroskop altında (40x10-10x10 büyütme derecelerinde) sayımlar yapılmış ve bu amaçla *Grid-Line Intersect Metodu* kullanılmıştır (Giovanetti ve Mosse, 1980).

Çalışma sonunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SAS (1998) paket programı kullanılmış ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

Bulgular ve Tartışma

G. intraradices ve 13 farklı FP izolatının domates bitkisindeki bitki boyu, bitki yaş ve kuru ağırlık gibi bazı morfolojik gelişim parametrelerine etkileri tespit edilmiş ve elde edilen değerler Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. *Glomus intraradices*(*G.i.*) ve FP izolatlarının uygulandığı domates bitkilerinin boy, yaş ağırlık ve kuru ağırlık değerleri

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)	Bitki Yaş Ağırlık (g)	Bitki Kuru Ağırlık (g)
Kontrol	23.5 c	24.7 c	4.6 ab
<i>G.i.</i>	21.1 de	25.2 c	4.7 ab
FP (73/1)	24.8 b	22.6 d	4.1 b
FP (33/K)	21.8 de	20.2 e	3.8 c
FP (70)	20.2 e	17.5 f	3.4 c
FP (D/2)	24.6 b	30.6 a	5.5 a
FP (50)	23.3 c	27.9 b	5.2 a
FP (17)	25.8 b	27.7 b	5.0 a
FP (75)	25.7 b	23.2 cd	4.2 b
FP (62)	27.3 a	21.8 d	3.6 c
FP (18/2)	26 ab	21.8 d	5.0 a
FP (58/1)	23.6 c	21.8 d	4.2 b
FP (D/1)	22.9 d	24.7 c	4.7 ab
FP (67)	25.6 b	25.1 c	4.8 ab
FP (21/1K)	23.5 c	23.1 cd	4.6 ab

Duncan çoklu testine göre aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

Çizelge 2'de de görüleceği üzere AMF ve FP izolatlarının bitkilerin morfolojik gelişimi üzerindeki etkileri farklı olmuştur. Bitki boyu açısından en iyi sonuç FP 62 izolatının yer aldığı uygulamada elde edilirken bu izolatı sırasıyla FP 18/2 ve FP 67 izolatları izlemiştir. Bitkideki yaş ve kuru ağırlık açısından ise her iki parametrenin FP D/2 izolatının yer aldığı uygulamada en yüksek değere ulaştığı görülmüştür (Çizelge 2). Nitekim Sastry ve ark. (2000) FP'lerin bitki kuru ağırlığını, Requena ve ark. (1997) da sürgün ve kök ağırlığını önemli düzeyde artırdığını belirtmişlerdir. Bu arada *G. intraradices*'in bitkideki yaş ve kuru ağırlık parametreleri açısından kontrol bitkileri ile aynı istatistik grup içinde yer aldığı, bitki boyu açısından ise kontrol bitkilerinden daha düşük bir değere sahip olduğu ortaya konmuştur. Bødker ve ark. (1998) da

AMF'nin sürgün P içeriğini artırdığını ancak bu artışın sürgün kuru ağırlığına yansımadığını ifade etmişlerdir. Aynı saptamalar Ravnskov ve ark. (1998) tarafından da yapılmış ve AMF'nin sürgün kuru ağırlığını değiştirmedeğini belirtmişlerdir.

G. intraradices ve FP izolatlarının ikili inokulasyonlarının domates bitkilerinin morfolojik gelişimine etkisi ve bu etkiye dayalı olarak uygulamaların aldığı değerler Çizelge 3'de verilmiştir. İkili inokulasyonlarda bitki boyu açısından en iyi kombinasyon *G.i.* + FP (33/K) inokulasyonu olurken, *G.i.* + FP (17) kombinasyonu hem yaş hem de kuru ağırlık bakımından en iyi ikili inokulasyon olmuştur (Çizelge 3). Bu arada bazı ikili kombinasyonların morfolojik parametre değerlerinin kontrol grubuna ait bitkilerden daha düşük olduğu ve bu

farkın istatistiki olarak da önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 3). Bu iki biyolojik savaş elemanının birlikte kullanıldığı diğer araştırmalarda benzer veya farklı sonuçlar elde edilmiştir (Meyer ve Linderman, 1986; Vosatka ve Gryndler, 1999). Ayrıca yapılan çalışmalar ışığında, ikili

inokulasyonların genelde bitki boyu ve ağırlığını artırdığı, ancak bu artışın bakteri ve AMF türüne göre de farklılıkların olabileceği, mikroorganizmalara göre elde edilen sonuçların değişkenlik gösterebileceği ifade edilmiştir (Walley ve Germida, 1997).

Çizelge 3. *G.i*+FP ikili inokulasyonlarının domates bitkisinde oluşturdukları, bitki boyu, yaş ağırlık ve kuru ağırlık değerleri

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)	Bitki Yaş Ağırlık (g)	Bitki Kuru Ağırlık (g)
Kontrol	23.5 c	24.7 cd	4.6 b
<i>G.i.</i>	21.1 e	25.2 c	4.7 b
<i>G.i.</i> + FP (73/1)	22.0 d	20.8 f	3.9 cd
<i>G.i.</i> + FP (33/K)	27.8 a	20.7 f	4.0 c
<i>G.i.</i> + FP (70)	23.8 c	25.9 c	4.7 b
<i>G.i.</i> + FP (D/2)	21.8 de	27.0 b	5.1 a
<i>G.i.</i> + FP (50)	25.1 b	27.7 b	4.9 b
<i>G.i.</i> + FP (17)	24.6 b	28.5 a	5.3 a
<i>G.i.</i> + FP (75)	22.9 c	19.8 f	3.9 cd
<i>G.i.</i> + FP (62)	25.0 b	23.8 d	4.0 c
<i>G.i.</i> + FP (18/2)	24.5 b	23.5 d	4.6 b
<i>G.i.</i> + FP (58/1)	19.7 f	20.5 f	4.0 c
<i>G.i.</i> + FP (D/1)	22.4 cd	23.5 d	4.4 bc
<i>G.i.</i> + FP (67)	24 bc	23.5 d	4.4 bc
<i>G.i.</i> + FP (21/1K)	19.7 f	22.2 e	4.8 b

Duncan çoklu testine göre aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

Biyolojik savaş elemanlarının, *G.i.* ve FP izolatlarının, tekli inokulasyonlarının FOL'ün hastalık şiddeti ve buna bağlı olarak bitkide değişen morfolojik gelişim parametreleri Çizelge 4'de verilmiştir. Buna göre 33/K,70 ve 62 no'lu FP izolatları hastalığı engelleme açısından başarısız bulunurken, FOL kontrole göre bitkilerde hastalık şiddetinde önemli derecede artış kaydedilmiştir (Çizelge 4). Bununla beraber, 58/1, 17 ve 73/1 no'lu FP izolatları ile AMF izolatı hastalık şiddetinde sırasıyla %68, %56, %56 ve % 48 oranlarında azalışa yol açmışlardır (Çizelge 4). Hastalığı baskılamada oldukça etkili olan bu izolatlar morfolojik gelişim açısından ise herhangi bir artış sağlayamamışlardır (Çizelge 4). Toprak kaynaklı fungal etmenleri ve nematodları baskılamada oldukça etkili olan AM funguslarının, engelleme etkisi bu çalışmada da görülmüş ve elde edilen sonuçlar Caron ve ark., (1985; 1986), ve Özgönen ve ark., (1999)'nın bulgularıyla da paralellik göstermiştir. Hasan Dar ve ark., (1997)'da mikorhiza ile kolonize olmuş kök rizosferi çevresinde *Fusarium solani* propagüllerinin azaldığını ve hastalık oluşumunun baskılandığını ifade etmişlerdir. FOL'ü baskılamada AMF izolatına göre daha başarılı bulunan FP izolatlarının hastalık üzerindeki etkileri farklı olmuştur (Çizelge 4). Ramamoorthy ve ark. (2002) *Pseudomonas fluorescens*'in FOL'ün hastalık şiddetini baskımlarken uyarılmış dayanıklılık mekanizmalarının aktivasyonunu sağladığını ve bitkiyi dayanıklı hale getirdiğini ifade etmişlerdir. Vandenberg ve ark. (1983) FP izolatları tarafından FOL'ün baskılanmasında FOL yoğunluğunun önemli olduğunu belirtmişlerdir.

G.i. ve FP izolatlarının ikili inokulasyonlarının FOL'ün hastalık şiddetine etkisi ve bu uygulamalarda yer alan bitkilere ait morfolojik parametre değerleri de tespit edilmiş ve bu değerler Çizelge 5'te verilmiştir. Çizelge 5'ten de görüleceği üzere ikili inokulasyonların hastalık şiddeti üzerindeki etkisi birbirinde istatistiki açıdan da önemli farklılıklar göstermiştir. *G.i.* + FP (73/1) ve *G.i.* + FP (70) ikili inokulasyonları hastalık şiddetini artırırken, *G.i.* + FP (D/1) kombinasyonu ise hastalık üzerinde etkisiz bulunmuştur. İkili inokulasyonların hastalığı baskılama yönündeki etkileri açısından en başarılı kombinasyonlar; *G.i.* izolatı ile 58/1, D/2, 21/1K, 62 ve 18/2 no'lu FP izolatlarının yer aldığı ikili inokulasyonlar olurken, bu kombinasyonların hastalık şiddetinde meydana getirdikleri azalış sırasıyla %92, % 68, % 56, %48 ve % 48 olmuştur. Söz konusu kombinasyonlar içinden *G.i.* + FP (D/2) kombinasyonunun morfolojik gelişim açısından da olumlu sonuçlar verdiği, hastalık oranını düşürmekle beraber morfolojik gelişimi de teşvik ettiği ortaya konmuştur (Çizelge 5). Budi ve ark. (1999), Gram (+) *Penibacillus* sp. ve AMF'nin birlikte *Phytophthora parasitica*'ya etkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada, bakteri+AMF+patojen üçlü uygulamasının hastalık şiddetini, AMF ve bakterilerin tekli uygulamalarına göre daha iyi baskıladığını tespit etmişlerdir. Nitekim bu çalışmada da aynı durum gözlenmiş ve gerek AMF gerekse FP izolatlarının ikili inokulasyonlarının tekli inokulasyonlara göre hastalığı baskılamada daha etkili oldukları ortaya konmuştur (Çizelge 4, Çizelge 5).

Çalışma kapsamında mevcut uygulamaların AMF *Glomus intraradices*'in kolonizasyonu üzerine olan etkileri de ele alınmış ve fungusun kolonizasyon oranları Çizelge 6'da verilmiştir. Uygulamalara göre farklılık göstermekle beraber *G.i.*'nin kolonizasyon oranları %13-%68 arasında değişmiştir. Genel olarak *G.i.* kontrole göre kolonizasyon oranlarında azalma tespit edilmekle beraber, *G.i.* + FP (75) kombinasyonundaki kolonizasyon oranı *G.i.* kontrol ile aynı olmuştur (Çizelge 6). Yapılan birçok çalışmada FP bakterilerinin mikorhizal oluşum üzerinde negatif

etkilerinin olmadığı ve bu bakterilerin salgılamış olduğu anti-fungal komponentlerin AMF'lerin kök kolonizasyonuna olumsuz etkilerinin gözlenmediği ifade edilmiştir (Meyer ve Linderman, 1986; Barea ve ark., 1998; Edwards ve ark., 1998). Bu çalışmada da *G.i.* kontrole göre kolonizasyon oranlarında azalma kaydedilmekle beraber, mikorhiza oluşumu ve dolayısıyla kolonizasyonun başlaması açısından olumsuz bir etki tespit edilmemiştir (Çizelge 6).

Çizelge 4. *G.i.* ve FP izolatlarının tek olarak, FOL'ün oluşturduğu hastalık şiddetine, bitki yaş ve kuru ağırlıkları ile bitki boyuna etkileri

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)	Bitki Yaş Ağırlık (g)	Bitki Kuru Ağırlık (g)	Hastalık Şiddeti (%)
FOL	24.9 d	27.8 ef	4.8 b	25 d
FOL + <i>G.i.</i>	24.5 d	27.4 ef	4.0 c	13 f
FOL + FP (73/1)	21.8 ef	24.9 f	3.8 c	11 fg
FOL + FP (33/K)	18.5 g	25.3 f	3.7 c	55 a
FOL + FP (70)	19.7 f	20.0 g	2.7 d	38 c
FOL + FP (D/2)	22.5 e	36.9 b	6.1 a	19 e
FOL + FP (50)	27.6 b	38.7 a	6.1 a	16 ef
FOL + FP (17)	27.2 b	34.8 c	5.8 ab	11 fg
FOL + FP (75)	24.6 d	31.3 d	5.0 b	22 de
FOL + FP (62)	21.7 ef	23.8 f	3.1 cd	41 b
FOL + FP (18/2)	21.6 ef	26.8 ef	4.3 bc	19 e
FOL + FP (58/1)	22.7 e	19.8 g	4.6 b	08 g
FOL + FP (D/1)	29.1 a	38.0 a	6.5 a	16 ef
FOL + FP (67)	26.8 c	38.8 a	5.9 ab	19 e
FOL + FP (21/1K)	24.6 d	29.8 e	4.9 b	19 e

Duncan çoklu testine göre aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

Çizelge 5. *G.i.* +FP ikili inokulasyonlarının, FOL'ün oluşturduğu hastalık şiddetine, bitki yaş ve kuru ağırlıkları ile bitki boyuna etkileri

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)	Bitki Yaş Ağırlık (g)	Bitki Kuru Ağırlık (g)	Hastalık Şiddeti (%)
FOL	24.9 bc	27.8 cd	4.8 bc	25 c
<i>G.i.</i> + FOL + FP (73/1)	20.8 de	24.7 d	4.0 c	33 b
<i>G.i.</i> + FOL + FP (33/K)	23.7 c	34.8 b	5.1 b	19 d
<i>G.i.</i> + FOL + FP (70)	21.8 d	22.1 e	2.9 d	38 a
<i>G.i.</i> + FOL + FP (D/2)	24.5 bc	39.8 a	6.8 a	08 f
<i>G.i.</i> + FOL + FP (50)	23.4 c	36.2 ab	5.4 b	22 cd
<i>G.i.</i> + FOL + FP (17)	28.5 a	34.2 b	4.7 bc	16 d
<i>G.i.</i> + FOL + FP (75)	21.4 d	28.9 c	4.4 bc	16 d
<i>G.i.</i> + FOL + FP (62)	27.0 a	30.1 c	4.5 bc	13 de
<i>G.i.</i> + FOL + FP (18/2)	23.0 c	33.4 b	5.6 b	13 de
<i>G.i.</i> + FOL + FP (58/1)	22.7 cd	33.6 b	5.4 b	02 g
<i>G.i.</i> + FOL + FP (D/1)	26.5 ab	34.7 b	5.6 b	25 c
<i>G.i.</i> + FOL + FP (67)	23.8 c	28.5 c	4.2 bc	16 de
<i>G.i.</i> + FOL + FP (21/1K)	25.3 b	34 b	5.6 b	11 e

Duncan çoklu testine göre aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

Çizelge 6. FOL ve FP bakteri izolatlarının *Glomus intraradices*'in kök kolonizasyonuna etkileri

Uygulamalar	<i>G. intraradices</i> Kolonizasyonu (%)
<i>G.i.</i>	68 a
<i>G.i.</i> + FOL	56 b
<i>G.i.</i> + FP (73/1)	53 b
<i>G.i.</i> + FP (73/1) + FOL	62 ab
<i>G.i.</i> + FP (33/K)	57 b
<i>G.i.</i> + FP (33/K) + FOL	36 d
<i>G.i.</i> + FP (70)	29 e
<i>G.i.</i> + FP (70) + FOL	25 e
<i>G.i.</i> + FP (D/2)	46 c
<i>G.i.</i> + FP (D/2) + FOL	35 d
<i>G.i.</i> + FP (50)	52 b
<i>G.i.</i> + FP (50) + FOL	42 c
<i>G.i.</i> + FP (17)	22 f
<i>G.i.</i> + FP (17) + FOL	38 d
<i>G.i.</i> + FP (75)	68 a
<i>G.i.</i> + FP (75) + FOL	61 ab
<i>G.i.</i> + FP (62)	55 b
<i>G.i.</i> + FP (62) + FOL	36 d
<i>G.i.</i> + FP (18/2)	49 c
<i>G.i.</i> + FP (18/2) + FOL	31 de
<i>G.i.</i> + FP (58/1)	40 cd
<i>G.i.</i> + FP (58/1) + FOL	63 ab
<i>G.i.</i> + FP (D/1)	24 e
<i>G.i.</i> + FP (D/1) + FOL	39 cd
<i>G.i.</i> + FP (67)	22 f
<i>G.i.</i> + FP (67) + FOL	13 g
<i>G.i.</i> + FP (21/K)	38 d
<i>G.i.</i> + FP (21/ 1K) + FOL	46 c

Duncan çoklu testine göre aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki fark $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

Sonuç

Söz konusu bu çalışma ile önemli rizosfer üyesi ve biyolojik savaş elemanı olan AM fungus ve FP bakterilerinin uygun kombinasyonlarının bitki sağlığı ve gelişimi üzerinde olumlu katkılarının olduğu ve bu katkıların ikili inokulasyonlarda, tekli inokulasyonlara göre daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Bu bakımdan farklı konukçu x patojen x biyolojik savaş elemanı patosistemlerinde de bu etkilerin ne düzeyde olduğu araştırılmalıdır. Öte yandan solgunluk gibi mücadele olanakları oldukça sınırlı olan hastalıklar için yukarıda bahsedilen kombinasyonların denenmesi ve uygulamaya aktarılmasının bu tür hastalıklarla mücadelede etkili olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M., 1996. Arbuscular Mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens-an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6: 457-464.
- Barea, J.M., Andrade, G., Bianciotto, V., Dowling, D., Lohrke, S., Bonfante, P., O'Gara, F., Azcón-Aguilar, C., 1998. Impact on Arbuscular Mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for biocontrol

- of soil-borne fungal pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 64(6): 2304-2307.
- Blancard, D., 1993. *Maladres dela tomato INRA* (Domates Hastalıkları, Çev: Abak., K., Sarı, N., Abak, M.F., Ç.Ü., Adana, Hasad Yayıncılık, Bitkisel Üretim Serisi 2).
- Bora, T., Yıldız, M., Özaktan, H., 1994. Effect of Fluorescent Pseudomonads on Fusarium wilt of watermelon, *J. Turk. Phytopath.*, 23(1): 19-25.
- Bora, T., Yıldız, M., Özaktan, H., 1995. *Sidereför Üreten Bakterilerle Bazı Kültür Bitkilerinde Fusarium Solgunluklarının Önlenmesi Üzerinde Araştırmalar*. TÜBİTAK-TOGTAG 1074 No'lu Proje Kesin Raporu, 28 s.
- Bødker, L., Kjølter, R., Rosendahl, S., 1998. Effect of phosphate and the Arbuscular Mycorrhizal Fungus *Glomus intraradices* on disease severity of root rot of peas (*Pisum sativum*) caused by *Aphanomyces euteiches*. *Mycorrhiza*, 8: 169-174.
- Budi, S., Van Tuinen, D., Martinotti, G., Gianninazzi, S., 1999. Isolation from the *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacterium compatible with Arbuscular Mycorrhizae development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 65(11): 5148-5150.
- Caron, M., Fortin, J.A., Richard, C., 1985. Effect of *Glomus intraradices* on infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomatoes over a 12-week period. *Can. J. Bot.* 64: 552-556.
- Caron, M., Fortin, J.A., Richard, C., 1986. Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradices* on *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. *Phytopathology*, 76(9): 942-946.
- Demir, S., 1998. *Bazı Kültür Bitkilerinde Vesiküler-Arbusküler Mikorhiza (VAM) Oluşumu ve Bunun Bitki Gelişimi ve Dayanıklılıktaki Rolü Üzerinde Araştırmalar* (Basılmamış Doktora Tezi), EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, 144 s.
- Demir, S., Onoğur, E., 1999. *Glomus intraradices* Schenck&Smith: A Hopeful Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal (VAM) Fungus Determined in Soils of Türkiye. *The Journal of Turkish Phytopathology*, Vol:28, No:1-2, p:33-34.
- Duijff, B., Recorbet, G., Bakker, P., Lopper, J.E., Lemanceau, E., 1999. Microbial antagonism at the root level is involved in the suppression of *Fusarium* wilt by the combination of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358. *Phytopathology*, 89(11): 1693-1700.
- Edwards, S.G., Young, J., Fitter, A.H., 1998. Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae*, an Arbuscular Mycorrhizal Fungus, within the rhizosphere. *FEMS Microbiology Letters*, 166: 297-303.
- Giovanetti, M., Mosse, B., 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular

- mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500.
- Hassan Dar, G., Zargar, M.Y., Beigh, G.M., 1997. Biocontrol of Fusarium Root Rot in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by using symbiotic *Glomus mosseae* and *Rhizobium leguminosarum*. *Microbial Ecology*, 34: 74-80.
- Kacar, B., 1984. *Bitki Besleme Uygulama Kılavuzu*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 900, Uygulama Kılavuzları No: 214.
- Larkin, R.P., Farevel, D.R., 1998. Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of Fusarium wilt of tomato. *Plant Disease*, 82 (9): 1022-1028.
- Meyer, J.R., Linderman, R.G., 1986. Response of subterranean clover to dual inoculation with Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi and a Plant Growth-Promoting Bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. Biochem*, 18(2): 185-190.
- Özgönen, H., Biçici, M., Erkiliç, A., 1999. The effect of salicylic acid and endomycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* on plant development of tomatoes and Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Tur. J. Agric. For.*, 25: 25-29.
- Paulitz, T.C., Linderman, R.G., 1989. Interactions between Fluorescent Pseudomonads and VA Mycorrhizal Fungi. *New Phytol.*, 113: 37-45.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedure for cleaning roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55: 158-161.
- Ramamoorthy, V., Raguchander, T., Samiyappan, R., 2002. Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with *Pseudomonas fluorescens* Pfl and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Plant and Soil*, 239: 55-68.
- Ravnskov, S., Nybroe, O., Jacobsen, I., 1998. Influence of an Arbuscular Mycorrhizal Fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hyphosphere soil. *New Phytol.*, 142: 113-122.
- Requena, N., Jimenez, I., Toro, M., Bareae, J.M., 1997. Interactions between Plant-Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), Arbuscular Mycorrhizal Fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisioides*, a model legume for revegetation in Mediterranean Semi-Arid Ecosystems. *New Phytol.*, 136: 667-677.
- SAS, 1998. SAS/STAT Software: hangen and enhanced Sas, Ins. Inc. Cri. North Carolina, USA.
- Sastry, M.S.R., Sharma, A.K., Johri, B.N., 2000. Effect of an AM fungal consortium and *Pseudomonas* on the growth and nutrient uptake of *Eucalyptus hybrid. Mycorrhiza* 10: 55-61.
- Smith, S.E., Read. D.J., 1997. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizas. "Mycorrhizal Symbiosis Eds: S.E. Smith, D.J. Read". Academic Press, London, pp: 9-161.
- Turhan, G., Grosman, F., 1987. Antagonistic activity of *N. vasinfecta* var. *africans* (von.Arx) Cannon and Hawkworth against soilborne fungi. *J. Phytopath.*, 123: 199-206.
- Vandenbergh, P.A., Gonzales, C.F., Wright, A.M., Kunka, B.S., 1983. Iron-chelating compounds produced by soil Pseudomonads: Correlation with fungal growth inhibition. *Applied and Environmental Microbiology* 46(1): 128-132.
- Vosatka, V., Gryndler, M., 1999. Treatment with culture fractions *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* mycorrhiza and the response of potato and maize plants to inoculation. *Applied Soil Ecology*, 11: 245-251.
- Walley, F.L., Germida, J.J., 1997. Response of spring wheat (*Triticum aestivum*) to interactions between Pseudomonas species and *Glomus clarum* NT4. *Biol. Fertil Soils*, 24: 365-371.
- Yıldız, A., 1999. *Aydın İli Domates Alanlarında Görülen Toprak Kaynaklı Fungal Hastalık Etmenleri, Yaygınlık Durumu ve Bazı Domates Çeşitlerinin Bu Etmenlere Karşı Reaksiyonlarının Belirlenmesi Üzerine Çalışmalar* (Basılmamış Doktora Tezi). ADÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, 98 s.
- Yücel S., 1989. *Domates Fusarium Solgunluğuna (Fusarium oxysporum Schlecht. f.sp. lycopersici (Sacc.) Snyd. and Hans) Karşı Biyolojik Kontrolde Antagonistlerin ve Toprak Solarizasyon Uygulamasının Karşılıklı Etkileşimlerinden Yararlanma Olanakları Üzerinde Araştırmalar*. Adana Zir. Müc. Araş. Enst. Müd. Araştırma Yayınları Serisi Yayın No: 64, Adana, 108 s.
- Zambolim, L., Schenck, N.C., 1983. Reduction of the effect of pathogenic, root-infecting fungi on soybean by the mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae*. *Phytopathology*, 73(10): 1402-1405.