



# *Sclerotinia minor* Jagger üzerine potansiyel biyokontrol ajanlarının değerlendirilmesi

## *Evaluation of potential biocontrol agents on Sclerotinia minor Jagger*

Raziye KOÇAK<sup>1\*</sup>, Özden SALMAN<sup>2</sup>, Nuh BOYRAZ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Selçuk Üniversitesi, Çumra MYO, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Konya

<sup>2,3</sup>Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Konya

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-8221-0452>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-7871-4105>; <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0001-6822-9360>

### To cite this article:

Koçak, R., Salman, Ö. & Boyraz, N. (2022). *Sclerotinia minor* Jagger üzerine potansiyel biyokontrol ajanlarının değerlendirilmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 26(4): 480-490.  
DOI: 10.29050/harranziraat.1198298

\*Address for Correspondence:  
Raziye KOÇAK  
e-mail:  
rkocak@selcuk.edu.tr

Received Date:

02.11.2022

Accepted Date:

07.12.2022

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

### ÖZ

Bu çalışma farklı bitkilerin rizosferik toprak bölgesinden izole edilen 38 bakteri izolatının ayçiçeğinde beyaz çürüklük etmenlerinden biri olan *Sclerotinia minor* Jagger'e karşı antagonistik etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. *In vitro* koşullarda test edilen bakterilerin yaklaşık %37'si orta ya da yüksek düzeyde patojenin misel gelişimini baskılamıştır. *In vitro* koşullarda patojeni yüksek düzeyde (%80-100) engelleyen bakteriler (*Pseudomonas chlororaphis* IDV5, *Bacillus amyloliquefaciens* IEB1, *Bacillus cereus* IPT3, *Stenotrophomonas* sp. IGL1, henüz teşhis edilememiş 2 bakteri izolatu (IFG1 ve IFG2)) daha sonra iklim odası koşullarında saksı çalışmaları ile test edilmiştir. Araştırma sonuçlarımıza göre saksı denemelerinde *Pseudomonas chlororaphis* dışında tüm bakteriler %100 etkili olmuştur. Ayrıca *in vitro*'da *S. minor*'e karşı etkisiz olmasına rağmen, daha önce yaptığımız farklı çalışmalarda *in vivo* koşullarda başarılı olduğunu tespit ettiğimiz *Pseudomonas korensis* (IFG4)'de denemeye dahil edilmiş ve *in vivo*'da etkili bulunmuştur. Bu sonuç bazı rizosferik bakterilerin patojenin baskılanmasında rol oynayan bazı engelleyici özelliklerinin bitki ile bir araya geldiğinde ortaya çıktığını göstermektedir. Sonuç olarak çalışmamız biyolojik mücadelenin ayçiçeğinde toprak patojenlerini kontrol etmenin alternatiflerinden biri olduğunu ve bu antagonistik bakterilerin diğer özellikleri yönünden de araştırıldıktan sonra bioajan olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** *Sclerotinia minor*, Antagonist etki, Biokontrol, *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp.

### ABSTRACT

This study was carried out to determine the antagonistic effects of 38 bacterial isolates isolated from the rhizospheric soil region of different plants against *Sclerotinia minor* Jagger, which is one of the causative agents of white rot in sunflower. Approximately 37% of the bacteria tested *in vitro* suppressed mycelial growth of the pathogen at moderate or high levels. Bacteria that inhibit pathogens at a high level (80-100%) *in vitro* (*Pseudomonas chlororaphis* IDV5, *Bacillus amyloliquefaciens* IEB1, *Bacillus cereus* IPT3, *Stenotrophomonas* sp. IGL1, 2 unidentified bacterial isolates (IFG1 and IFG2)) were potted under climatic chamber conditions tested by work. According to our research results, all bacteria except *Pseudomonas chlororaphis* were 100% effective in pot experiments. In addition, although it is ineffective against *S. minor* *in vitro*, *Pseudomonas korensis* (IFG4), which we have found to be successful *in vivo* conditions in different studies we have done before, was included in the trial and was found effective in this study as well. This result shows that some inhibitory properties of some rhizospheric bacteria, which play a role in suppressing the pathogen, appear when they come together with the plant. In conclusion, our study reveals that biological control is one of the alternatives to control soil pathogens in sunflower and can be used as a bioagent after investigating other properties of these antagonistic bacteria.

**Key Words:** *Sclerotinia minor*, Antagonist effect, Biocontrol, *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp.

## Giriş

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), bitkisel yağ üretimi için dünya çapında önemli bir yağlı tohum bitkisidir. Toprak kaynaklı patojenlerden olan *Sclerotinia* türleri ayçiçeğinde önemli kayıplar oluşturmaktadır. *Sclerotinia* hastalıkları pamuklu çürüklük, beyaz çürüklük, sulu yumuşak çürüklük, gövde çürüklüğü ve tabla çürüklüğü gibi değişik isimlerle tanımlanmaktadır. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) Bary 405'den fazla, *Sclerotinia minor* Jagger ise 94'dan fazla bitki türünde hastalık oluşturan önemli bitki patojenleridir (Wu ve Subbarao, 2008; Baniyadi ve ark., 2009). Bu patojenler genel olarak ayçiçeğinde çıkış öncesi ve sonrası tohum çürümelerine, boğaz bölgesinde çürüklüğe, kök üzerinde koyu kahverengi lekelere, 2-4 yapraklı fidelerde nekroza, yanıklığa, kloroz ve solgunluğa neden olmaktadır. *Sclerotinia* türlerinin neden olduğu simptomlar, konukçuya, konukçunun enfekteli kısmına ve çevre şartlarına bağlı olarak değişmektedir (Lamey ve ark., 2000; Koçak ve Boyraz, 2021). Avrupa ve Amerika'da ayçiçeği üretiminde ortalama %10 ila %20 verim düşüşüne hatta tüm ürünün kaybına neden olmaktadır (Van Becelaere ve Miller 2004; Bolton ve ark., 2006). Türkiye'de ise *Sclerotinia* kök çürüklüğü hastalık oranının 2001 yılında %4,5, 2002 yılında %7,3 olduğu belirlenmiştir (Tozlu ve Demirci, 2008).

*S. minor* ve *S. sclerotiorum* çok benzer simptomlara neden olduklarından bunları ayırt etmek oldukça zordur. Fakat sklerotlar makroskobik özellikleri bakımından değerlendirildiğinde kolay tanımlanabilmekte ve *S. minor*'ün daha küçük sklerotlar oluşturduğu görülmektedir (Hao ve ark., 2000).

Bu patojenlerle mücadele oldukça zordur çünkü geniş bir konukçu yelpazesine sahip olup, toprakta uzun yıllar sklerot olarak yaşamlarını sürdürmektedirler. Kültürel uygulamalar (ürün rotasyonu, toprak işleme ve yüzey altı damla sulama kullanımı, sanitasyon), toprak fümigasyonu ve koruyucu kimyasallar dahil olmak üzere tek başına değerlendirilen mücadele yöntemlerinin çoğu *S. minor* ve *S. sclerotiorum* neden olduğu

hastalıkları etkili bir şekilde kontrolünü sağlamamıştır (Bardin ve Huang, 2001; Koike ve ark., 2003). Bu nedenle ayçiçeği üretiminde bu hastalıklar için yeni kontrol seçenekleri geliştirmek gerekmektedir.

*Sclerotinia* türlerinin sürdürülebilir kontrolünü sağlamak için antagonist toprak bakterileri kullanılabilir. *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi bakteri cinsleri bu patojenlerin kontrollerinde kullanılmıştır ve ürettikleri pyoluteorin, pirolnitrin, fenazinler, sideroforlar, siyanür, 2,4-diasetilfloroglusinol ve fungal hücreleri parçalayabilen enzimler, yani selüloz, kitinaz, proteazlar ve beta-glukanaz sayesinde antimikrobiyal özellik taşırlar (Compant ve ark., 2005; Hernandez-Leon ve ark., 2015). *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis*'in ayçiçeğinde sklerotinia kök çürüklüğü hastalığı oranını en aza indirdiği ve hif gelişimini azalttığı görülmüştür (Zizzerini 1987). *Pseudomonas chlororaphis* ve *Bacillus amyloliquefaciens*'in tarla koşullarında *S. sclerotiorum*'un neden olduğu kök çürüklüğünü önemli ölçüde azalttığı görülmüştür (Fernando ve ark. 2007). *Pseudomonas* spp. ve *Bacillus* spp. tarla koşullarında domateste *Sclerotinia minor* ve birçok bitki patojeninin gelişimini engellemiştir (Aşkın ve Ozan, 2013) *Pseudomonas mediterranea* bakterisi kullanılarak *in vitro* denemelerde başarılı sonuçlar alınmıştır (Cattara ve ark., 2002).

Çeşitli bitki türlerinin rizosferinden ve çevresel atıklardan elde edilebilen *Stenotrophomonas* cinsi bakterilerinde biyokontrolde kullanılabileceği pek çok çalışma ile tespit edilmiştir (Zhang ve ark., 2001; Yang ve ark., 2006; Idris ve ark., 2007; Kim ve ark., 2009; Ünal ve ark., 2019). Yapılan bir çalışmada *Stenotrophomonas* sp. SS\_RD24 izolatının gövdelerde *Sclerotinia* kök çürüklüğü oranını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir (Schmidt ve ark., 2021). Bitki hastalıklarını bastırmak için kompost kullanımı biyolojik kontrol uygulamaları arasında büyük bir potansiyele sahiptir ve bu özelliğin kompostların içeriğinde bulunan spesifik antagonistik mikroorganizmaların varlığından kaynaklandığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Noble ve Coventry, 2005; Martin ve Brathwaite, 2012; Ventorino ve ark.,

2013). Elde edilen sonuçlar kompostlardan elde edilen *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium* ve *Streptomyces* gibi biyoajanların *Sclerotinia minor*'e karşı %70 oranında etkili olduklarını ortaya koymuştur (Ventorino ve ark., 2016). Biyolojik mücadelede potansiyeli yüksek olabilecek pek çok biyoajan tespit edilmiş ve bunların bir kısmı ticari ürün haline getirilmiştir. Ruhsatlı olanlardan Intercept WG, Contans WG, Trichodex, Koni ve Rhizo-Plus isimli biyopreparatların *S. sclerotiorum* ve *S. minor*'e karşı etki ettiği belirtilmektedir (Yiğit, 2005).

Yapılan çalışmalar mikrobiyal antagonistler tarafından toprak kaynaklı bitki patojenlerinin kontrolünde bir dizi biyolojik kontrol mekanizmasının rol oynayabileceği göstermektedir. Bunlara enfeksiyon bölgeleri için rekabet, antibiyosis ve parazitizm de dahildir (Lorito ve ark., 2006).

Bu çalışma, ayçiçeğinde beyaz çürüklüğe neden olan *Sclerotinia minor*'e karşı bazı faydalı toprak

mikroorganizmalarının laboratuvar ve iklim odası koşullarında etkililiklerini değerlendirmek amacıyla yürütülmüştür.

## Materyal ve Metot

Çalışmamızda elde edilen bakterilerin antagonistik etkilerini belirlemek için daha önceden patojenisite denemesi ve teşhisi yapılmış olan *Sclerotinia minor* izolatu patojen, İnegöl Alası ayçiçeği çeşidi de konukçu bitki olarak kullanılmıştır.

Denemelerde kullandığımız bakteriler ise 2021 yılında İzmir'in Urla İlçesindeki bazı tarlalardan sağlıklı bitkilerin rizosferik toprak bölgesinden izole edilmiş ve biyokontrol ajanı olup olmadıkları belirlenmiştir. Çizelge 1' de çalışmamızda kullandığımız toprak örneğinin alındığı bitki ve bakterilerin türleri verilmiştir. Ayrıca ek olarak bezelye ve bakla bitkilerinin rizosferinden de örnekler alınmıştır.

Çizelge 1. Farklı bitkilerden izole edilen ve antifungal etkileri olan bakteriler  
Table 1. Bacteria isolated from different plants and having antifungal effects

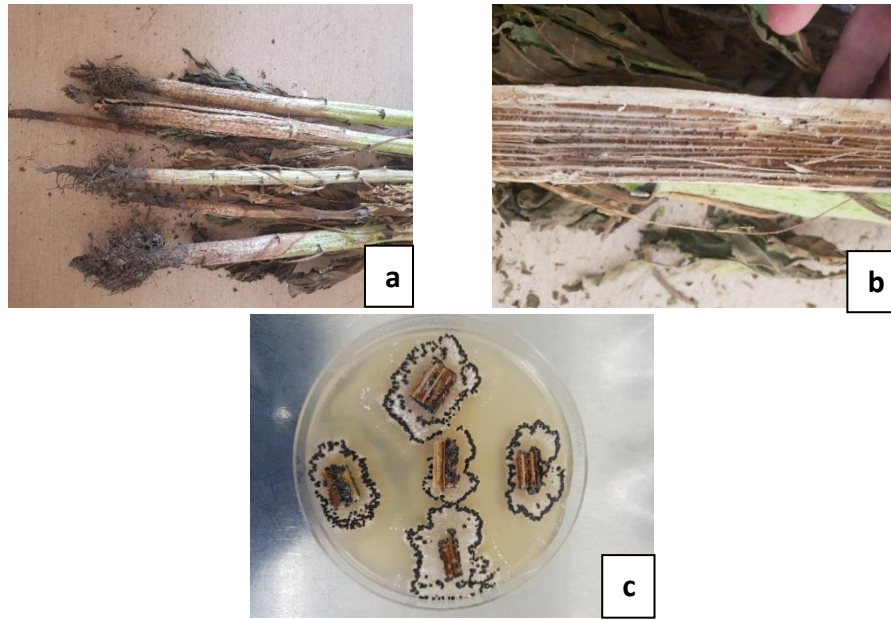
İzole edildikleri bitkiler <i>Plants from which they are isolated</i>	Bakteri türleri <i>Bacteria species</i>
<i>Carlina marianum</i> (Devedikeni)	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> (IDV5)
<i>Malva sylvestris</i> (Ebegümeçi)	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (IEB1)
<i>Glebionis corona</i> (Ala Gömeç)	<i>Bacillus cereus</i> (IPT3)
<i>Papaver rhoeas</i> (Gelincik)	<i>Stenotrophomonas sp.</i> (IGL1)
<i>Vicia sativa</i> (Fiğ)	Teşhis edilemedi (IFG1)
<i>Vicia sativa</i>	Teşhis edilemedi (IFG2)
<i>Vicia sativa</i>	<i>Pseudomonas koreensis</i> (IFG4)

### Patojenin izolasyonu ve surveyi

Laboratuvarımızda (Selçuk Üniversitesi Mikoloji Laboratuvarı) daha önce ayçiçeğinden izole edilerek teşhisi ve patojenisite denemeleri yapılmış olan *S. minor* izolatu kullanılmıştır. İzolasyonun yapıldığı bitki materyali ve patojenisitedeki görünümü Şekil 1'de gösterilmiştir. *Sclerotinia minor* eğik agar ortamında +4°C'de uzun süreli olarak muhafaza edilmiştir.

### Biyoajan bakterilerin izolasyonu

Farklı bitkilerin rizosfer bölgesinden alınan toprak örneklerinden bakteri izolasyonları Saygılı 2006'ya göre yapılmıştır. Elde edilen bakteriler 27°C'de 24-48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Saflaştırılan bakteri izolatları %30'luk gliserol içerisinde -20°C'de saklanmıştır. Bu çalışmada kullanılan 5 antagonistik bakteri izolatının tanımlaması MALDIDOF MS' de belirlenmiştir (Çizelge 1).



Şekil 1. *Sclerotinia minor*'ün a) ayçiçeği gövdesinde görünümü, b) ayçiçeği gövdesinde görünümü, c) petrideki görünümü

Figure 1. *Sclerotinia minor* in A) view on sunflower stem, B) view on sunflower stem, C) view on petri dish

#### *Biyoajan bakterilerin in vitro koşullarda antagonistik etkilerinin belirlenmesi*

Bakterilerin antagonistik etkilerini belirlemek amacıyla *S. minor*'ün 7 gün boyunca gelişim gösteren kültürlerinden 5 mm'lik bir agar diski kesilmiş antibiyotiksiz PDA ortamın içeren petri kutularının merkezine yerleştirilmiştir. Yaklaşık 24-48 saat gelişim gösteren bakteriler, patojene 1,5 cm uzaklıkta çember oluşturacak şekilde çizilmiştir. Kontrol petrisine ise bakteri inoküle edilmemiştir. 25±1 °C'de 1 hafta inkübe edilen petrilere *S. minor*'ün koloni gelişimi ölçülerek aşağıda belirtilen formüle göre değerlendirme yapılmıştır.

$\% \text{inhibisyon} = \frac{A1-A2}{A1} \times 100$  (A1=Kontrol petrisindeki miseliyal gelişim; A2=Bakteri uygulanan petrideki miseliyal gelişim) (Tozlu, 2003).

#### *Elde Edilen Bakterilerin Biyokimyasal Karakterizasyonu*

##### *Siderofor üretimi*

Sideroforlar demiri (Fe) şelatlayarak fitopatogen fungusların gelişimini engellemektedir. Bakterilerin bu özelliğinin belirlenmesinde Chrome Azurol S (CAS) ortamı kullanılmıştır (Alexander ve Zuberer, 1991). 4 günlük inkübasyon süresi sonunda bakteri kolonilerinin etrafında meydana

gelen sarımsı-turuncu renkli zon siderofor üretiminin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir.

##### *Fosfat çözme yeteneği*

Elde edilen bakteri izolatlarının çözünmeyen fosfatı çözünebilir forma getirebilme kabiliyeti Pikovskaya besiyeri kullanılarak test edilmiştir. Bu besiyerinde şeffaf renkli zon oluşturan izolatlar pozitif olarak kabul edilmiştir (Pikovskaya, 1948).

##### *ACC deaminaz aktivitesi*

1 aminosiklopropan-1- karboksilik asit (ACC) deaminaz aktivitesi Penrose ve Glick (2003) yöntemine göre yapılmıştır. Steril edilen ACC çözeltisi Dworkin-Foster (1958) minimal besiyerini içeren petrilere yayılmış ve kurumaları beklenmiştir. Negatif kontrol grubuna ise ACC eklenmemiştir. Buna göre negatif kontrole göre daha iyi gelişim gösteren ya da negatif kontrolde gelişim göstermeyip ACC içeren DF besiyerinde gelişen bakteriler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

##### *HCN belirleme*

Antagonistik etkileri yüksek olan rizobakteriler hidrojen siyanid üretimi bakımından Bakker ve Shippers (1987)'in yöntemi izlenerek belirlenmiştir. Bakteriler Triptik Soya Agara çizilmiştir. Petrinin kapak kısmına özel bir

solusyona daldırılan (%0,5 pikrik asit ve %2 sodyum karbonat) 1 nolu Whatman kâğıdı yerleştirilerek etrafı parafilm ile kapatılmıştır. 28 °C'de inkübe edilen petripler 3-4 gün sonra değerlendirilmiş ve kâğıdın turuncu-kırmızı rengine dönüşmesi pozitif olarak kaydedilmiştir.

#### *İndol-3-asetik asit (IAA) üretimi*

Denemede kullanılan bakteri izolatları triptofan içeren (1 g/l) LB besiyerine inokule edilmiştir. 30 °C'de ve 3 günlük inkübasyon süresi sonunda elde edilen süspansiyonun 1 ml'si 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Ardından süpernatant kısmı tüpe aktarılmış, 2-3 damla ortofosforik asit ve 4 ml Salkowski ayırıcı eklenmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında karanlık ortamda bekletilen tüplerde meydana gelen pembe renk IAA üretimi bakımından pozitif olarak değerlendirilmiş ve 535 nm'de spektrofotometrede yapılan ölçümler elde edilen standart eğriye (1, 5 ,10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50 ppm IAA dozları) göre değerlendirilerek miktar olarak bakterilerin ne kadar IAA ürettiği belirlenmiştir (Ambrosini ve Passaglia, 2017; Kaya Özdoğan, 2020).

#### *Biyoajan bakteri izolatlarının in vivo da etkinliklerinin belirlenmesi*

*In vitro* şartları takiben etkili bulunan 5 bakteri izolatının *S. minor*'ün üzerinde test edilmesi amacıyla deneme kurulmuş ve bitkiler çiçeklenmenin başlangıcı olan R2 safhasına geldiği zaman uygulama yapılmıştır. Patojen PDA'da 25°C'de bir hafta geliştirilmiş, bakteriler ise nutrient agar besiyerine çizgi ekim yapılmış ve 28°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen bakteri kolonileri üzerine bir miktar steril su dökülmüş ve cam bagetle karıştırılmıştır. Elde edilen bakteriyel süspansiyon spektrofotometre (600nm) ile 10<sup>8</sup> hücre/ml'ye ayarlanmıştır.

İnokulasyon öncesi bitki gövdesinde toprak sathından 4 cm yukarıda, 5 mm çapında açılan yaraya bakteri süspansiyonu uygulandıktan (Nelson ve ark., 1988) sonra, *S. minor* 'ün 4 mm çapındaki misel diski acılan yaraya yerleştirilmiş ve inokulasyon noktası parafilm ile sarılmıştır.

Kontrol bitkilerine uygulama ise su sprey edildikten sonra, patojenin 4 mm çapındaki misel diski yerleştirilerek inkübasyon süresi sonunda gövde üzerinde oluşan lezyonlara göre etkili olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Saksı denemelerinde elde edilen veriler MINITAB ver. 16 programı kullanılarak Tukey çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir.

## **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

### *Bakteriyel izolatlar*

Bu çalışmada kullanılan beş antagonistik yerli bakterinin *Pseudomonas chlororaphis*, (IDV5), *Bacillus amyloliquefaciens* (IEB1), *Bacillus cereus* (IPT3), *Stenotrophomonas sp.* (IGL1) ve *Pseudomonas koreensis* (IFG4) olarak teşhisleri yapılırken 2 izolatın (IFG1 ve IFG2) teşhisleri yapılamamıştır.

### *İkili kültürde izolatların antagonistik aktiviteleri*

Laboratuvarda yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda elde edilen 38 bakteriden %37'sinin orta ya da yüksek düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. 7 bakteri yüksek düzeyde (%83-100) etki göstermiş, bu bakterilerden de 4'ü patojen gelişimini tamamen engellemiştir. Kalan bakterilerin ise orta düzeyde etkili (%50-65) olduğu gözlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. *In vitro* da antagonistik izolatların patojene karşı % engelleme oranları

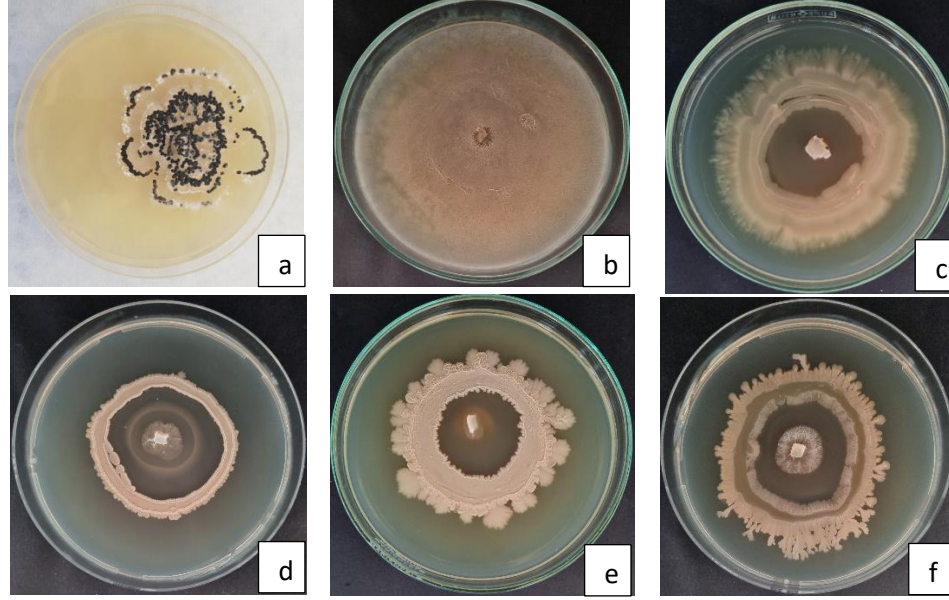
Table 2. % Inhibition rates of antagonistic isolates against pathogen in vitro

<b>İzolatın Kodu Isolate Code</b>	<b>Patojene Karşı % Etkisi % Effect Against Pathogen</b>
IPT2	53
IPT3	100
IPT4	53
IFG1	83
IFG2	100
IDV2	50
IDV5	100
IEB1	100
INH1	62
INH2	53
INH3	82
IBK2	65
IBK3	65
IGL1	83



*In vitro* tarama sonucu yüksek düzeyde etkili olan 6 bakteri izolatu (*Pseudomonas chlororaphis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, *Stenotrophomonas sp.*, IFG1 ve IFG2) değerlendirmeye alınmış ve Şekil 2’de *S. minor*’ün etrafında bakteriyel gelişim bölgeleri kaydedilerek

inhibe etme potansiyelleri gösterilmiştir. Seçilen bakteriler güçlü antagonistik özellikleri nedeni ile antibiyosis etki göstererek biyoajan olarak ön plana çıkmış ve bakterilerin tümü antibiyotik oluşturma özellikleri ile *S. minor*’e karşı etkili bulunmuştur.



Şekil 2. *In vitro* ve *in vivo* koşullarda etkili olan bakteri izolatlarının petride *S. minor*’ün misel gelişimini baskılaması. a) Kontrol, b) EB1, c) IPT3, d) IFG1, e) IFG2, f) IGL1.

Figure 2. Suppression of mycelial growth of *S. minor* in petri dishes by bacterial isolates that are effective *in vitro* and *in vivo*. a) Control, b) EB1, c) IPT3, d) IFG1, e) IFG2, f) IGL1.

**Bakteriyel izolatların biyokimyasal aktivitesinin belirlenmesi**

*In vivo* denemeler için seçilmiş olan 7 bakteriye

farklı biyokimyasal testler uygulanmıştır. Bakterilere ait test sonuçları Çizelge 3’de verilmiştir.

Çizelge 3. İzolatların genel biyokimyasal test sonuçları

Table 3. General biochemical test results of isolates

Biyokimyasal testler Biochemical tests	IAA IAA	Fosforu Çözme Phosphorus Dissolving	HCN HCN	Siderofor Siderofor	ACC ACC
IDV5	+	-	-	-	-
IEB1	+	+	+	+	-
IPT3	+	-	-	-	-
IGL1	-	-	-	+	-
IFG1	+	-	-	+	-
IFG2	+	-	-	+	-
IFG4	+	+	+	+	-

Sadece iki bakteri *Bacillus amyloliquefaciens* ve *Pseudomonas koreensis* nokta inokülasyonu çevresinde berrak haleler oluşturmuş ve fosfatı çözümlendiklerini kanıtlandığı gibi benzer bakteriler (IEB1 ve IFG4) filtre kağıdının renginin sarıdan kırmızımsı kahverengiye değişmesiyle HCN üretmişlerdir. Taranan izolatlar arasında ACC deaminaz üretimi gösteren bakteri olmamıştır

(Çizelge 3).

İzolatların tamamı IAA üretimi gösterirken, IGL1 izolatu negatif olarak test edilmiştir. Maksimum IAA üretimi *Pseudomonas koreensis* IFG4 (17,8 ppm) izolatında gözlenirken, 2. sırayı *Pseudomonas chlororaphis* IDV5 (8,6 ppm) izolatu almıştır (Çizelge 4).

Çizelge 4. İzolatların İndol-3-asetik asit (IAA) üretimi

Table 4. Indole-3-acetic acid (IAA) production from isolates

Tür adı/İzolat Adı Species name/Isolate Name	IAA Üretim Miktarları (ppm) IAA Production Quantities (ppm)
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> IDV5	8,6
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IEB1	6,8
<i>Bacillus cereus</i> IPT3	7,1
<i>Stenotrophomonas sp.</i> IGL1	-
Teşhis edilemedi IFG1	6,9
Teşhis edilemedi IFG2	4
<i>Pseudomonas koreensis</i> IFG4	17,8

IAA, rhizobakter-bitki etkileşiminde önemli bir rol oynamaktadır. *Streptomyces sp.*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas syringae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Alcaligenes faecalis*, *Azotobacter tumefaciens* ve *Bacillus megaterium* gibi bakteriler IAA üreten bazı bakterilerdir (Yousef, 2018).

*Pseudomonas chlororaphis* ve *Bacillus cereus* hariç diğer izolatlar CAS agar besiyeri üzerindeki noktalarının çevresinde turuncu halelerin oluşmasıyla siderofor üretmişlerdir. *Pseudomonas koreensis* (IFG4)'in maksimum miktarı (16 mm) ürettiği belirlenmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. İzolatların Siderofor üretimi

Table 5. Siderophore production of isolates

Tür adı/İzolat Adı Species name/Isolate Name	Siderofor Üretim Miktarları (mm) Siderofor Production Quantities (mm)
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> IDV5	-
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IEB1	12
<i>Bacillus cereus</i> IPT3	-
<i>Stenotrophomonas sp.</i> IGL1	4
Teşhis edilemedi IFG1	4
Teşhis edilemedi IFG2	12
<i>Pseudomonas koreensis</i> IFG4	16

*In vivo da biyokontrol testlerin değerlendirilmesi*

*In vitro* denemelerde yüksek düzeyde etkili olan 5 bakteri *in vivo* çalışmalarda kullanılmıştır. Ayrıca *in vitro* deneme sonuçları başarılı olmadığı halde daha önce başka patojenlere *in vivo* etkililik deneme sonuçları başarılı olan *Pseudomonas koreensis* IFG4'de dahil edilmiştir. *In vitro* da %83'ün üzerinde engelleme oranı gösterirken saksı şartlarında ise *S. minor*'ün gelişmesine (enfeksiyonuna) tamamen (%100) engel olmuşlardır (Çizelge 6).

Çizelge 6. Bakterilerin patojene karşı % etkisi

Table 6. % Effect of bacteria against pathogen

Tür adı/İzolat Adı Species name/Isolate Name	Patojene Karşı % Etkisi Effect against Pathogen
Pozitif Kontrol	0b
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> IDV5	0b
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> IEB1	100a
<i>Bacillus cereus</i> IPT3	100a
<i>Stenotrophomonas sp.</i> IGL1	100a
Teşhis edilemedi IFG1	100a
Teşhis edilemedi IFG2	100a
<i>Pseudomonas koreensis</i> IFG4	100a

Saksı deneylerinde en düşük etki, kontrole kıyasla *Pseudomonas chlororaphis* IDV5 izolatında elde edilmiştir. En yüksek koruma etkisi ise IEB1 (*Bacillus amyloliquefaciens*), IPT3 (*Bacillus cereus*), IGL1 (*Stenotrophomonas sp.*), IFG2 ve IFG4 (*Pseudomonas koreensis*) izolatları ile %100 oranında etkili olarak hastalığı engelledikleri gözlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Saksı denemelerinde ayçiçeğinde *S. minor*'e karşı etkili olan bakteriler a) IEB1, b) IGL1, c) IPT3, d) IFG4, e) IFG2  
 Figure 3. Effective Bacteria against *S. minor* in sunflower in pot experiments a) IEB1, b) IGL1, c) IPT3, d) IFG4, e) IFG2

Fitopatogenler içerisinde sklerot oluşturan hastalıkları kontrol altına almak oldukça zordur. Ayçiçeğinde *S. minor*'ün neden olduğu kök çürüklüğü de bunlardan biri olup bu çalışmada antagonistik bakterilerle *S. minor*'e karşı mücadele olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda bazı bakteriyel biyoajanlar kök çürüklüğü hastalığına karşı tanımlanmıştır (Isnaini ve Keane 2007; Chitrampalam ve diğerleri, 2008). Yaptığımız çalışmada yüksek etki gösteren 7 izolattan ikisi *Bacillus* sp. ve *Pseudomonas* sp., birisi *Stenotrophomonas* sp. olarak tanımlanırken, diğerleri ise tanımlanamamıştır. *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsleri fitopatogenlere karşı potansiyel biyokontrol ajanları olarak kullanılmaktadır (Ngalimat ve ark., 2021).

Bu bakteriler biyopestisit olmalarının yanında bitki köklerinde kolonize olarak bitki gelişimini teşvik edici etkilere sahiptirler. Aslında kök

bakterilerinin biyokontrol ajanı olarak potansiyelleri, bitki gelişimini nasıl teşvik ettikleriyle ve doğrudan veya dolaylı mekanizmalarla bitki patojenlerini nasıl bastırdıklarıyla bağlantılıdır (Tabassum ve ark., 2017; Kashyap ve ark., 2019). Biyoajan bakteriler bitkinin rizosferini kolonize ederek antimikrobiyal metabolitler ile antibiyosis ve besin rekabeti etkileşimi sayesinde fitopatogenlerin gelişmesini baskırlar. Bütün bu özellikler bakımından *in vitro*'da etkinliği yüksek bulunan bakteriler ile *S. minor*'e %83-100 oranında antagonistik etki göstermişlerdir. Benzer ajanların kullanıldığı pek çok çalışmada örneğin *Bacillus amyloliquefaciens*'in *Sclerotinia* türlerine karşı biyokontrol ajanı olarak değerlendirilmesi pek çok çalışmada bildirilmiştir (Abdullah ve ark., 2008; Ji ve ark., 2013).

Biyoajan bakteriler ayrıca bazı bitki gelişimini teşvik eden kimyasallar salgılayarak bitkinin



dayanıklılık metabolizmasını indükler ve böylece bitkinin adaptasyon yeteğini arttırıcı yönde etki gösterirler. Yani bakteriler, bitkilerin ihtiyacı olan azot, fosfat ve demir gibi besin elementlerinin alınımını kolaylaştırmaktadırlar (Goswami ve ark., 2016). Bunların arasında *Bacillus* türleri büyüme hormonları gibi çok çeşitli bileşikler sentezleyerek bitki büyümesine ve iyileştirmesine yardımcı olan besinleri çözündürmektedirler (Gopalakrishnan ve ark., 2011). *Pseudomonas koreensis* (IFG4), *Bacillus amyloliquefaciens* (IEB1), IFG2, *Stenotrophomonas sp.* (IGL1) ve IFG1'in sırasıyla yüksek siderefor üretimi sağlayarak bitki büyümesini teşvik edici aktivitelere sahip olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca *Pseudomonas koreensis* (IFG4) ve *Bacillus amyloliquefaciens* (IEB1) izolatlarının fosfat çözünürlüğü ile birlikte HCN üretme yetenekleri de pozitif olarak gözlenmiştir. İndol-3-asetik asit (IAA) bitkilerde hem hızlı hücre büyümesi hem de hücre bölünmesinde rol oynayan ve bakteriler tarafından üretilen oksin grubu bir fitohormondur (Aeron ve ark., 2011; Amara ve ark., 2015). *Pseudomonas koreensis* (IFG4) 17,8 ppm'lik IAA üretimi ile yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. *In vivo* çalışmalarda antifungal aktiviteye sahip izolatlar (*Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus cereus*, *Stenotrophomonas sp.*, *Pseudomonas koreensis* ve IFG2 izolatları ile) %100 oranında yüksek etki göstermişlerdir.

Belirli bileşiklerin sentezlenmesi bitkilerin besin maddelerinin topraktan alınmasını kolaylaştırılması açısından önemlidir ve buda bitkilerin hastalıklardan korunması veya hastalıkların azaltılmasında önemli rol oynar. Bunlar, bakterilerin antagonistik ve bitki büyümesini teşvik edici aktivitelerin belirlenmesinde oldukça önemlidir (Kumar ve ark., 2020).

## Sonuçlar

Yeni biyoajanların belirlenmesi tarımsal üretimde bitki koruma uygulamalarına katkı sağlayacaktır. Biyolojik mücadele, kimyasal gübreler ve pestisitlere alternatif olabilecek aynı zamanda fitopatogenleri kontrol etmek için umut

verici bir strateji olmasının yanında doğal kaynakları tüketmeden sürdürülebilir tarımı sağlamak için güçlü ve gelecek vadeden bir yöntemdir. Çalışmamızda elde edilen bakteriler *in vitro* da gösterdikleri başarıyı *in vivo* koşullara da taşımışlardır. Bu veriler ışığında, ayçiçeği yetiştiriciliği giderek artmakta ve bunun sonucunda hastalık etmeni de bu artışa paralel olarak bölgelerde yoğunluk göstereceğinden bu durumun şimdiden belirlenmesi geleceğe yönelik bu hastalıkların engellenmesi için önemlidir. Yaptığımız çalışma bu alanda önemli sonuçları göstermektedir. Fakat pratiğe aktarılması için üzerinde durulması gereken pek çok noktanın olduğu unutulmamalıdır.

**Çıkar Çatışması:** Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

**Yazar Katkısı:** Arazi ve laboratuvar çalışmaları Raziye KOÇAK ve Özden SALMAN tarafından yürütülmüştür. Makalenin yazımı Nuh BOYRAZ, Özden SALMAN ve Raziye KOÇAK katkısı ile gerçekleştirilmiş olup, makalenin son hali yazarlar tarafından okunarak onaylanmıştır.

## Kaynaklar

- Aeron, A., Kumar, S., Pandey, P., Maheshwari, D.K. (2011). Emerging role of plant growth promoting rhizobacteria in agrobiolgy. In *Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 1–36.
- Abdullah, M., Ali, N.Y., Suleman, P. (2008). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Prot.* 27, 1354–1359.
- Alexander, D.B., Zuberer, D.A. (1991). Use of Chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of soils*, 12(1), 39-45.
- Amara, U., Khalid, R., Hayat, R. (2015). Soil bacteria and phytohormones for sustainable crop production. In *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*; Springer: Chem, Switzerland, pp. 87–103.
- Ambrosini, A., Passaglia, L. M. (2017). Plant growth-promoting bacteria (PGPB): isolation and screening of PGP activities. *Current protocols in plant biology*, 2(3), 190-209.
- Aşkın, A. & Ozan, S. (2013) Orta Anadolu Bölgesinde örtü altı hiyar yetiştiriciliğinde mildiyö (*Pseudoperonospora*

- cubensis* Berk. And Curt.) mücadelesinde *Bacillus* spp. izolatlarının kullanım olanaklarının araştırılması. Bitki Koruma Ürünleri ve Makineleri Kongresi, 2-4 Nisan; Antalya, 57-68.
- Bakker, A.W. & Schippers, B. (1987). Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation and *Pseudomonas* spp-mediated plant growth-stimulation. *Soil Biol. Biochem.* vol: (19), 451-457.
- Baniasadi, F., Shahidi Bonjar, G.H., Baghizadeh A., Nik, A.K. and Jorjandi, M. et al., (2009). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum*, causal agent of sunflower head and stem rot disease, by use of soil borne actinomycetes isolates. *Am. J. Agric. Biol. Sci.*, 4: 146-151. DOI: 10.3844/ajabssp.2009.146.151.
- Bardin, S.D. and Huang, H.C. (2001). Research on biology and control of *Sclerotinia* diseases in Canada. *Can. J. Plant Pathol.*, 23: 88-9.
- Bolton, M.D., Thomma, B.P., Nelson, B.D. (2006) *Sclerotinia sclerotiorum* (lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Mol Plant Pathol* 7(1):1-16.
- Cattara, V., Sutra, L., Morineau, A., Achouak, W., Christen, R. and Gardan, L. (2002). Phenotypic and genomic evidence for the revision of *Pseudomonas corrugate* and proposal of *Pseudomonas mediterranea* sp.nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52, 1749-1758.
- Chitrampalam, P., Figuli, P. J., Matheron, M. E., Subbarao, K. V., & Pryor, B. M. (2008). Biocontrol of lettuce drop caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* in desert agroecosystems. *Plant Disease*, 92(12), 1625-1634.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., Barka, E.A. (2005). Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol* 71:4951-4959.
- Dworkin, M., Foster, J. (1958). Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *J. Bacteriol* 75: 592-601.
- Fernando, W.G.D., Nakkeeran, S., Zhang, Y., Savchuk, S. (2007). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary by *Pseudomonas* and *Bacillus* species on canola petals. *Crop Prot* 26:100-107.
- Goswami, D., Thakker, J.N., Dhandhukia, P.C. (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food Agric.* 2, 1127500.
- Gopalakrishnan, S., Humayun, P. Kiran, B.K., Kannan, I.G.K., Vidya, M.S., Deepthi, K., Rupela, O. (2011). Evaluation of bacteria isolated from rice rhizosphere for biological control of charcoal rot of sorghum caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27, 1313-1321.
- Hao, J. J., Subbarao, K. V., Hubbard, J. C. and Koike, S. T. (2000). Effects of broccoli rotation on lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* and sclerotia in soil. (Abstr.) *Phytopathology* 90: S34.
- Hernandez-Leon, R., Rojas-Solis, D., Contreras-Perez, M., Orozco-Mosqueda, M.C., Macias-Rodriguez L.L., Reyes-de la Cruz, H., Valencia-Cantero, E., Santoyo, G. (2015). Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biol Control* 81:83-92.
- Idris, H.A., Labuschagne, N. and Korsten, L. (2007). Screening rhizobacteria for biological control of *Fusarium* root and crown rot of sorghum in Ethiopia. *J. Biocontrol.*, 40: 97-106.
- Isnaini, M. & Keane, P.J. (2007). Biocontrol and epidemiology of lettuce drop caused by *Sclerotinia minor* at Bacchus Marsh, Victoria. *Australasian Plant Pathology*, 36(3), 295-304.
- Ji, S.H., Paul, N.C., Deng, J.X., Kim, Y.S., Yun, B.S., Yu, S.H. (2013). Biocontrol Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* CNU114001 against Fungal Plant Diseases. *Mycobiology.* 41, 234-242.
- Kashyap, B.K., Solanki, M.K., Pandey, A.K., Prabha, S., Kumar, P., Kumari, B. (2019). *Bacillus* as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A promising green agriculture technology. In *Plant Health under Biotic Stress*; Springer Nature Singapore Pte Ltd.: Singapore, pp. 219-236.
- Kaya Özdoğan, D. (2020). Ankara ili topraklarından bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin izolasyonu, tanımlanması ve genetik çeşitliliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Kim, H.B., Srinivasan, S., Sathiyaraj, G., Quan, L.H., Kim, S.H., Bui, T.P., Liang, Z.Q., Kim, Y.J. and Yang, D.C. (2009). *Stenotrophomonas ginsengisoli* sp. nov., a bacterium isolated from a ginseng field. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* Doi:10.1099/ijs.0.014662-0.
- Koçak, R. & Boyraz, N. (2021). The Incidence Rate of White Rot (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) Disease in Sunflower Cultivation Areas in Konya and Aksaray Provinces and its Pathogenic Potential. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences* 35 (2), 101-107.
- Koike, S.T., Subbarao, K.V., Davis, R.M. and Turini, T.A. (2003). Vegetable Diseases caused by Soilborne Pathogens. Publication 8099, University of California.
- Kumar, V., Jain, L., Jain, S.K., Chaturvedi, S., Kaushal, P. (2020). Bacterial endophytes of rice (*Oryza sativa* L.) and their potential for plant growth promotion and antagonistic activities. *S. Afr. J. Bot.* 2020, 134, 50-63.
- Lamey, A., Knodel, J., Endres, G., Gregoire, T., Ashley, R. (2000). Sunflower disease and midge survey. NDSU, Extension Service, Fargo, ND. <http://www.ag.ndsu.nodak.edu>. Accessed on September 10, 2014.
- Lorito, M., Woo, S.L., Iaccarino, M., Scala, F. (2006). Microrganismi antagonisti. In: Iaccarino, M. (Ed.), *Microrganismi Benefici per le Piante*. Idelson-Gnocchi s.r.l., Napoli, Italia, pp. 146-175.
- Martin, C.C.G., Brathwaite, R.A.I. (2012). Compost and compost tea: principles and prospects as substrates and soil-borne disease management strategies in soil-less vegetable production *Biol. Agric. Hortic.*, 28: pp. 1-33.
- Nelson, B., Duval, D., Wu, H., 1988. An in vitro technique for large-scale production of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 78:1470-1472.
- Ngalamat, M.S., Mohd Hata, E., Zulperi, D., Ismail, S.I., Ismail, M.R., Mohd Zainudin, N., Saidi, N.B., Yusof, M.T. (2021). Plant growth-promoting bacteria as an emerging tool to manage bacterial rice

- pathogens. *Microorganisms*. 9:682.
- Noble R. & Conventry E. (2005). Suppression of soil-borne plant diseases with composts: a review *Biocontrol. Sci. Technol.* 15: 3-20 pp.
- Penrose, D.M. & Glick, B.R. (2003). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia plantarum*, 118(1), 10-15.
- Pikovskaya, R.I. (1948). Mobilization of Phosphorus in Soil Connection with the Vital Activity of Some Microbial Species. *Microbiology*, 17, 362-370.
- Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, A. (2006). Fitobakteriyoloji. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova, İzmir.
- Schmidt, C.S., Mrnka, L., Lovecká, P. et al. (2021). Bacterial and fungal endophyte communities in healthy and diseased oilseed rape and their potential for biocontrol of *Sclerotinia* and *Phoma* disease. *Sci Rep* 11, 3810 <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81937-7>.
- Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M.S., Shahid, N., Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* 121, 102–117.
- Tozlu, E. (2003). Pasinler Ovası'nda Ayçiçeğinde Gövde Çürüklüğü Hastalığını Oluşturan *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary ve *Sclerotinia minor* Jagger'ın Yayılışı, Tanılanması, Patojeniteleri ve Biyolojik Kontrolü. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Basılmamış Doktora Tezi, 117, Erzurum.
- Tozlu, E., Demirci, E. (2008). Incidence and characterization of sunflower stem rot disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* in Pasinler Plain of Erzurum, and reaction of some sunflower cultivars to the pathogens. *Plant Protection Bulletin*, 48 (4), 19-33. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/en/pub/bitkorb/issue/3678/48807>.
- Ünal, F., Aşkın, A., Koca, E. et al. (2019). Mycelial compatibility groups, pathogenic diversity and biological control of *Sclerotium rolfii* on turfgrass. *Egypt J Biol Pest Control* 29, 44 <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0144-6>
- Van Becelaere, G., Miller, J.F. (2004) Combining ability for resistance to *Sclerotinia* head rot in sunflower. *Crop Sci* 44:1542–1545.
- Ventorino, V., Parillo, R., Testa, A., Aliberti, A., Pepe, O. (2013). Chestnut biomass biodegradation for sustainable agriculture Bioresources, 8, pp. 4647-4658.
- Ventorino, V., Parillo, R., Testa, A., Viscardi, S., Espresso, F., and Pepe, O. (2016). Chestnut green waste composting for sustainable forest management: microbiota dynamics and impact on plant disease control. *J. Environ. Manage.* 166: 168–177.
- Wu B.M., Subbarao K.V. (2008). Effects of soil temperature, moisture, and burial depths on carpogenic germination of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor*. *Phytopathology* 98:1144–1152.
- Yang, H.C., Im, W.T., Kang, M.S., Shin, D.Y. and Lee, S.T. (2006). *Stenotrophomonas koreensis* sp. nov., isolated from compost in South Korea. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56, 81-84.
- Yiğit, F. (2005). Bitki patojenlerinin kontrolünde kullanılan biyokontrol ürünler ve özellikleri. *S.Ü. Ziraat Fak. Derg.*, 19 (36): 70-77.
- Yousef, N.M. (2018). Capability of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for producing indole acetic acid (IAA) under extreme conditons. *European Journal of Biological Research*, 8(4), 174-182.
- Zizzerini, A. (1987). Antagonistic effect of *Bacillus* spp. on *Sclerotinia sclerotiorum* sclerotia. *Phytopathol Mediterr* 26:185–187.
- Zhang, Z., Yuen, G. Y., Sarath, G. & Penheiter, A. R. (2001). Chitinases from the plant disease biocontrol agent, *Stenotrophomonas maltophilia* C3. *Phytopathology* 91, 204–211.