HASTALIKLARLA BİYOLOJİK SAVAŞ

Hazırlayan: Prof. Dr. Figen YILDIZ

Yüksek Lisans Ders Notu

Dersin Kodu: 520

Bornova-İzmir

Şubat, 2008

İÇİNDEKİLER

1.Giriş……. 3
2. Biyolojik Savaşımda Tanımlar, Biyolojik Savaşımın Kaynağı ve Geçmişi
2.1. Tanımlar…… 5
2.1.1. Patojen…… 5
2.1.2.Antagonist…… 7
2.1.3.Konukçu…… 8
2.2. Biyolojik Savaşımın Kaynağı…… 8
2.3. Biyolojik Savaşımın Geçmişi…… 12
2.4.Günümüzdeki Son gelişmeler……. 14
3. Patojenlerle Biyolojik savaşımın Yolları…….. 15
3.1.Doğrudan etkileme……. 15
3.1.1.Rekabet…….. 15
3.1.2.Parazitizm…….. 17
3.1.3.Antibiyosis…… 18
3.1.4.Fungistasis…….. 20
3.1.5 Dayanıklı topraklar……... 22
3.2.Dolaylı etkileme…… 23
3.2.1.Dayanıklılığın uyarılması…….. 23
3.2.2. Mikorizalar…… 26
4. Konukçu-patojen etkileşimlerinde biyolojik savaşım örnekleri……. 27
4.1. Rhizosfer kaynaklı hastalıklarda biyolojik savaşım……. 27
4.1.1. Kök, kök boğazı çürüklükleri ve solgunluklarla biyolojik savaşımda bakteriyel antagonistlerin kullanımı…… 28
Pseudomonas……. 29
Ralstonia solanacearum…….. 32
Agrobacterium…… 33
4.1.2.Kök, kök boğazı çürüklükleri ve solgunluklarla biyolojik savaşımda fungal antagonistlerin kullanımı…….…….. 35
Patojen olmayan Fusarium'lar…….. 35
Trichoderma……. 36

İÇİNDEKİLER

4.1.3.Sklerotlu funguslarla biyolojik savaşım……. 39
Sporidesmium sclerotivorum……. 39
Coniothyrium minitans…….. 40
4.2. Filosfer kaynaklı hastalıklarda biyolojik savaşım…… 41
4.2.1. Yaprak kaynaklı hastalıklarla biyolojik savaşım…… 43
Ampelomyces quisqualis…… 43
Tilletiopsis…… 44
Trichoderma harzianum T-39…….. 44
Ulocladium atrum……. 45
Sphaeropsis (Darluca) filum……. 45
Tuberculina……. 46
4.2.2. Çiçek kaynaklı hastalıklarla biyolojik savaşım…… 46
Erwinia herbicola ve *Pseudomonas fluorescens*…… 47
4.2.3.Buz oluşumunu engelleyen bakteriler……. 46
4.2.4. Gövde hastalıklarıyla biyolojik savaşım…… 48
Cryphonectria parasitica…… 48
Zuccini Yellow Mosaic Virus (ZYMV)……. 50
CTV (Turunçgil Tristeza Virusu)…….. 51
4.3. Hasat sonrası hastalıklarla biyolojik savaşım……. 51
4.4. Yabancı otlarla biyolojik savaşım…….55
4.4.1.Chondrilla juncea……57
4.4.2. Biyoherbisitler…….. 57
5. Biyopestisitler……. 58
5.1.Biyopestisitlerin üretimi…… 58
5.2.Ruhsatlandırma……. 60
6. Biyolojik savaşımdan beklenenler…… 61
7. Kaynaklar…… 62

GİRİŞ

Biyolojik savaşımın, dünyada ilk kez tarımın yapılması ile başladığı söylenebilir. Elde bulunan en eski kayıtlarda, orta çağda toprağın nadasa bırakıldığını veya dönüşümlü olarak değişik bitki türlerinin yetiştirilmesi ile verimliliği artırma çalışmaları yapıldığını görüyoruz.

Biyolojik savaşım teriminin, bitkilerde zararlı olan böceklere karşı predatörlerin varlığının ortaya çıkarılması ile yine bu çağda söylenmeye başladığı görülmektedir.

Hastalıklara karşı patojen olmayan mikro-organizmaların kullanılması hemen hemen aynı zamanlarda ortaya çıkmaktadır. Ancak adı henüz biyolojik savaş olarak anılmamaktadır.

1928 yılında A.Fleming'in bir antibiyotik olan Penisilini keşfinden sonra bu mikro-organizma, diğer araştırıcılar tarafından kimyasal yapısı ve etkisi bakımından incelenmiş ve araştırılmıştır.

1920'li yıllarda antagonistik funguslar, aktinomisetler veya genel olarak toprakta bulunan mikrobiyal populasyon konusunda yapılan araştırma sayısında hızlı bir artışın olduğu görülmektedir.

Günümüzde tarımın başarılı olmasında, artan dünya nüfusunun beslenmesi için yetiştirilecek alanlarının ve tüm enerji kaynaklarının arttırılması çok önemlidir. Bu nedenle tarım, sürdürülebilir, üretimi arttırıcı ve tüm canlı sistemler için daha güvenilir olan yöntemler bulmak zorundadır. Bitkilerde hastalıklarla savaşım, bitkisel ürünlerin miktarını arttırabilmek için en önemli ve vazgeçilemez yöntemlerden biri olma önceliğini korumaktadır.

Biyolojik savaşım bu bakımdan bu amaca hizmet eden ve doğadaki sürdürülebilirliği sağlayan bir savaşım yöntemi olmak seçeneğini sunmaktadır.

Biyolojik savaş, geniş bir açıdan bakıldığında bitkilerde verim artışını, hastalık yapan patojen inokulumunu ortadan kaldırarak veya baskılayarak yapmaktadır, aynı zamanda bitkileri enfeksiyonlara karşı korumakta ve bitkide dayanıklılık sistemini uyarmaktadır. Örneğin; Bitki gelişimini uyaran rhizobakterlerin köklere uygulandığında, patojenik olmayan bu mikrobiyal populasyonun hastalık etmenlerine karşı bir baskılayıcı etki yaptığı görülmektedir.

Bilindiği gibi, bitki hastalıklarına karşı kullanılan fungisitler 1974'lerden sonra dayanıklı bireylerin gelişimi ile hızla sorun olmaya başlamıştır. Tarımsal savaşımda vazgeçilemeyen stratejilerden birisi olan bu kimyasallar dayanıklı ırkların seleksiyonunu önlemek amacıyla karışımlar halinde veya dönüşümlü olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu fungisitler, daha spesifik ve belli bazı patojen gruplarına yönelik olarak kullanılmaya başlanmış

(Ascomyceteslere karşı, carbendazim; Oomycetes'lere karşı metalaxyl gibi) ancak bu kez de dayanıklılık riski artmıştır. Oysa spesifik etkide bulunmayan, geniş etki alanına sahip kükürt ve bakırlı fungisitler, hedef dışı organizmalarda istenmeyen etkiler yapabilmekle beraber,

patojenlerde bir dayanıklılık oluşturmamışlardır. Kimyasal savaşımda dayanıklılık sorunu olan patojenlere örnekler vermek gerekirse; Elma kara lekesi (*Venturia inaequalis*), hıyar küllemesi (*Erysiphe cichoracearum*), Kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Benomyl'e), geç yanıklık (*Phytophthora infestans*) ve mildiyö'ye (metalaxyle) dayanıklılık gelişmiştir. Dayanıklılık bakteriyel hastalıklarda da görülmüş ve elma ve armutta ateş yanıklığı hastalığı'na (*Erwinia amylovora*) karşı kullanılan streptomycin'de ve yine kök uru bakterisine karşı kullanılan *A. radiobacter* K84 ırkında da benzer dayanıklılık sorunları ortaya çıkmıştır.

Bitkilerde görülen hastalıklarla yapılacak bu yönlü savaşımda, mikrobiyal dünyada mevcut olan etkileşimlerin incelenip ortaya çıkarılmasıyla doğaya daha kolay adapte olabilen ve çevreye zarar vermeyen bir sistem geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Biyolojik savaşım yoluyla bitki hastalıkları çok geniş anlamda bakıldığında şu biçimlerde baskı altına alınabilmektedir.

1.Bitki yetiştiriciliği sırasında gerek ürün değişimi ve organik madde kaynaklı toprak zenginleştirilmesi ile mikrobiyal kitle artışına yol açmak

2. Bitkilere doğrudan antagonistik mikroorganizmaları vermek

3.Bitkinin yaşam alanındaki mikrobiyal zenginliği arttıracak bazı kimyasal katkı maddeleri kullanmak

4. Bitkide dayanıklılığı arttırarak (ıslah), bitkileri hastalıklara karşı daha güçlü kılmak

Biyolojik savaşım, bir yönüyle bitki hastalığındaki problemi düşünme biçimi iken diğer yönüyle de bitkideki doğal dengeyi yeniden kurmayı amaçlamaktadır (Cook ve Baker, 1983).

Bu savaşım biçimi kimyasal savaşımın mümkün olmadığı veya yetersiz olduğu bazı hastalıklarda daha çok çalışılmıştır. Örneğin buğdayda *Fusarium* çürüklüğü ve siyah bacaklılık (*Gaemannomyces graminis*) hastalıkları, bazı Phytophthora hastalıkları bunlar arasındadır. Biyolojik savaşımın etkili olabilmesi için kültürel uygulamalar içerisine entegre edilmesi gerekmektedir.

Biyolojik savaşımı daha iyi anlayabilmek için;

a) Bu savaşım yönteminde mikroorganizmaları oluşturduğu etkileşim mekanizmalarını

b) Mikrobiyal çeşitlilik ile biyolojik savaşım içindeki yerini

c) biyolojik savaşımın günümüzde ki yeri ve uygulamalarını

d) gelecekte nasıl bir biyolojik savaşım beklentisi olduğunu ortaya koymak gerekmektedir.

2. TANIMLAR,BİYOLOJİK SAVAŞIMIN KAYNAĞI VE GEÇMİŞİ

2.1. TANIMLAR

Biyolojik savaş, tarımsal üründe verimliliği azaltarak, üretimi olumsuz etkileyen bitkiye zararlı patojenlerin, insan dışında bir veya birden fazla canlı mikroorganizma yardımıyla baskı altına alınması olarak tanımlanabilir (Baker ve Cook,1983) .

Biyolojik savaşım veya kısaltılmış olarak biyokontrol terimleri, biyoloji içerisinde ve özellikle Entomoloji ve Fitopatoloji gibi alanlarda kullanılmaktadır. Bu terim Entomolojide çeşitli zararlı böcek populasyonlarını azaltmak amacıyla; canlı predatör böcek, entomopatojen nematod veya mikrobiyal patojenleri tanımlamak için kullanılmaktadır.

Bitki hastalıklarında ise; mikrobiyal antagonistler ile hastalıkların, konukçuya özelleşmiş patojenlerin ve yabancı otların baskı altına alınmasında kullanılmaktadır. Her iki alanda da baskı altına alan canlılar biyolojik savaş ajanlarıdır.

Bitkilerde hastalığı oluşturan aktivite, patojenin enfeksiyon gücü, agresif özelliği, virulensi ve diğer patojenik karakterleri tarafından belirlenmektedir. Bu organizmalar içerisinde yer alan Patojen gerek avirulent gerekse hipovirulent olarak; konukçu bitki, patojenlere karşı dayanıklılığını sağlamak amacıyla kültürel olarak veya genetik olarak iyileştirilmiş özellikleriyle; veya antagonistik organizmalar, patojenlerin hastalık oluşturma sistemlerine müdahale ederek değişik roller almaktadırlar. Bu sistemde farklı özellikler gösteren bu ana elemanlar sırasıyla şu şekilde açıklanabilir.

2.1.1. PATOJEN:

Patojenler geniş bir grubu oluştururlar. Bunlar içerisinde; funguslar, prokaryotlar (bakteri, mycoplazma,riketsia,spiroplazma gibi), viruslar,viroidler yer alır.

Hastalık süreci, patojenin konukçu ile teması ile başlar. Enfeksiyonda, patojen konukçu dokusunu kolonize olur ve konukçusu olduğu bitki ile besin ilişkisine girer. Belirtiler, enfeksiyon sonunda gelişmeye başlar ve genellikle de patojenin bitki içinde veya öldürmüş olduğu dokularında üreyip çoğalması ile devam eder. Bir patojen, zarar veren bir canlıdır. Hastalık ise bir süreç içinde olmaktadır.

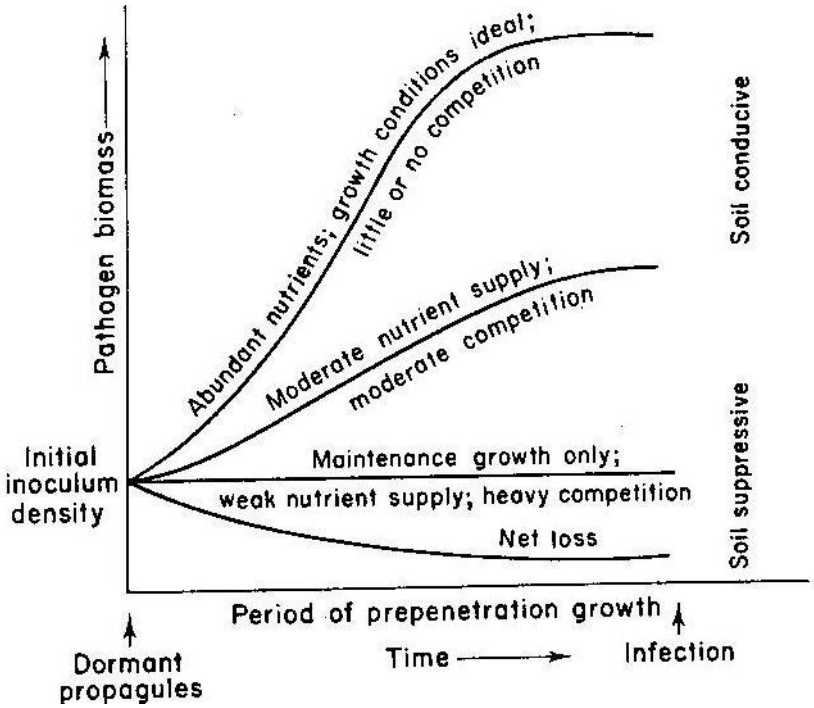
Bitki patojeni fungus ve bakterilerin biyolojik savaşımında, bu canlıların oluşturdukları inokulumun konukçudan uzaklaştırılması yoluyla bir etki yapılmaktadır. Virus, viroid ve bazı prokaryotların biyolojik savaşımları ise daha sınırlı olmaktadır. Yabancı otların biyolojik savaş yoluyla ortadan kaldırılması ile bitki patojenlerinin biyolojik savaşımı ise birbirlerinden oldukça fark göstermektedir.

Patojen ve antagonistik canlıların birbirleri ile olan ilişkilerini anlayabilmek için patojenlerin bitki üzerinde kolonize oldukları yerleri bilmek gereklidir. Örneğin; *Pseudomonas syringae* ve *Erwinia herbicola*'nın bazı streynleri düşük sıcaklıklarda (-2 ile -5^{0}C) bitkiler üzerinde buz çekirdeği oluşumunu başlatırlar ve bunlar domates, mısır ve diğer soğuğa hassas olan

bitkilerde doku zararlarına neden olurlar ve oluşan ölü dokuları kolayca kolonize ederler. Bu bakteri kaynaklı patojenler bitki yüzeyinde epifit olarak yaşayarak zarar yaparlar. Viruslar, viroidler ve bazı prokaryotlar ise bitki içindedir ve dışarısı ile temasları olmadığı için dış çevredeki sekonder mikroorganizmalar dışında doğal düşmanları yoktur.

Çoğu patojen, hem epifit hem de endofit olarak yaşamaktadır. Örneğin: kara leke hastalığı, *Taphrina deformans* veya külleme hastalıkları; Vasküler solgunluk hastalıklarında ise patojen kısa bir süre epitifftir, konukçu köklerine penetrasyondan sonra kök korteksi ve vasküler dokularda endofit olarak yaşamaya başlar. Bitki dokuları içerisinde yaşayan bu patojenlerin biyolojik olarak savaşımı daha zor olmaktadır.

Bazı fungal patojenlerde biyokitle (biomass) enfeksiyon öncesinde önemli ölçüde artış gösterebilir. Örneğin; *Fusarium oxysporum f.sp. phaeseoli*'deki klamidosporlar, besin kaynağı olan fasülye köklerinde ve hipokotilinde büyük bir hızla misel kitlesi oluşturur. Konukçu yüzeyinde oluşan bu kitle penetrasyon için kullanılır. Patojenin oluşturduğu biyokitle antagonistler tarafından engellenebilirse ve patojen biyokitlesinde azalma ortaya çıkar



Şekil 1. Patojen gelişimine uygun olan ve olmayan (dayanıklı) topraklarda yer alan patojenlerin biyokitlesindeki değişiklikler (Cook ve Baker, 1983'den alınmıştır)

2.1.2. ANTAGONİST

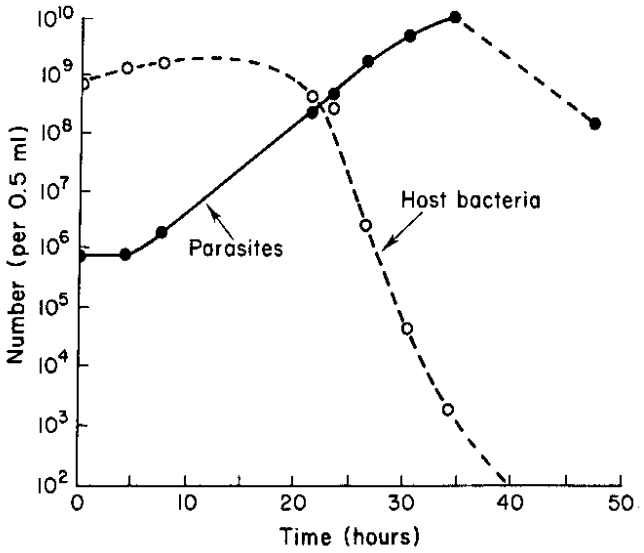
Antagonist genel olarak bir şeyin rakibi veya zıttı demektir. Biyolojik savaşımda antagonistler, bitki patojenlerinin yaşam döngülerine karışarak onları etkileyen canlılardır. Antagonistler; patojenler gibi, fungus, bakteri, virus veya viroid olabilirler.

Aynı zamanda antagonist terimi entomolojideki doğal düşman (parazit, predatör) terimine de karşılık gelmektedir. Örneğin toprakta yaşayan bir bakteri, engelleyici bir etki göstererek çok sayıdaki mikroorganizmayı etkileyebilir ve bitki köklerini patojenlere karşı koruyabilir.

Canlı bitkiler, üzerlerinde parazitik özellik göstermeyen veya zayıf patojen olarak epifitik veya endofitik olarak yaşayan pek çok mikroorganizmaya ev sahipliği yaparlar.

Böyle mikroorganizmaların, aynı patojenlerde olduğu gibi bitki ile bir arada yaşadığı sürede devam eden bir yaşam döngüsü bulunmaktadır. Bu ilişki sırasında bu canlılar bitkide yerleşerek patojen olanlara karşı bir koruyucu özellik göstermektedir. Bu canlılar bitkide yüzeysel olarak yaşamaları esnasında yarışmacı türler olarak önemli bir avantaj yakalarlar. Bu rekabetçi özellikleri ile besin maddesini patojenden önce sağlayarak bir baskılayıcılık sağlar veya bitkide dayanıklılık gelişimini uyarmaktadır.

Antagonistler, patojenler üzerinde parazitik ilişkide de bulunurlar, bu ilişki konukçusu olduğu patojenin biyolojik kitlesi veya ortamdaki yoğunluğuna bağlı olarak değişkenlik gösterir. Önemli bakteriyel patojenlerden Erwinia'ya karşı engelleyici etkideki antagonist *Bdellovibrio bacteriovorus* bakterisi, sıvı besi yerinde antagonizmanın konukçu yoğunluğuna bağlı olabileceğini gösteren bir örnektir.



Şekil 2. *Erwinia*'ya karşı parazit özellikteki *Bdellovibrio*'nun hücre yoğunluğu üzerindeki etkisi (Cook ve Baker, 1983'den alınmıştır)

Bitkilerdeki virusların ılımlı ırkları antagonist olarak sınıflandırılmaktadır. Bu avirulent veya virulensi düşük ırklar bitkide bulunduğunda çapraz koruyuculuk geliştirerek biyolojik yolla virulensi yüksek olan ırklara karşı biyolojik koruma sağlayabilirler. Turunçgillerde tristeza virusu böyle bir kontrola örnek olarak verilebilir.

2.1.3. KONUKÇU

Biyolojik savaşımda konukçu olan bitki ya doğrudan patojenin üzerine antagonistlerin oluşturduğu etki ile korunur veya bitkideki dayanıklılık sistemi uyarılarak bu başarılır.

Bitkilerin patojenlere karşı genel bir dayanıklılığı vardır. Bitkide görülen bu dayanıklılık mikorizal fungusların kazandırdığı bir sistem olarak da değerlendirilebilir. Antagonistik mikroorganizmaların bitkilerde dayanıklılığı uyararak etkili olduğu da bilinmektedir.

2.2. BİYOLOJİK SAVAŞIMIN KAYNAĞI

Biyolojik dünya, geniş bir yelpazedeki tüm canlı organizmaların birbirleri ile olan karşılıklı etkileşimlerini kapsamaktadır. Dinamik olarak böyle bir sistemde, çevresel değişkenlerin etkisiyle her birey kendi yaşam döngüsünü takip eder. Bu döngü içerisinde olan herhangi bir farklılığı telafi edebilenler varlığını sürdürür. Bu genel olarak uzun süreli evrim sürecinde ortaya çıkan ve termodinamik kurallara uyan bir dengeleme sistemidir. İçinde bulunduğu çevredeki koşullarda ortaya çıkan değişikliklere, karşı koyamayan organizmalar yok olmaktadır. Yaşamaya devam edenler, topluluk içerisindeki alan, besin maddesi, ışık ve pek çok değişik faktörde oluşan değişikliklerle baş edebilenlerdir.

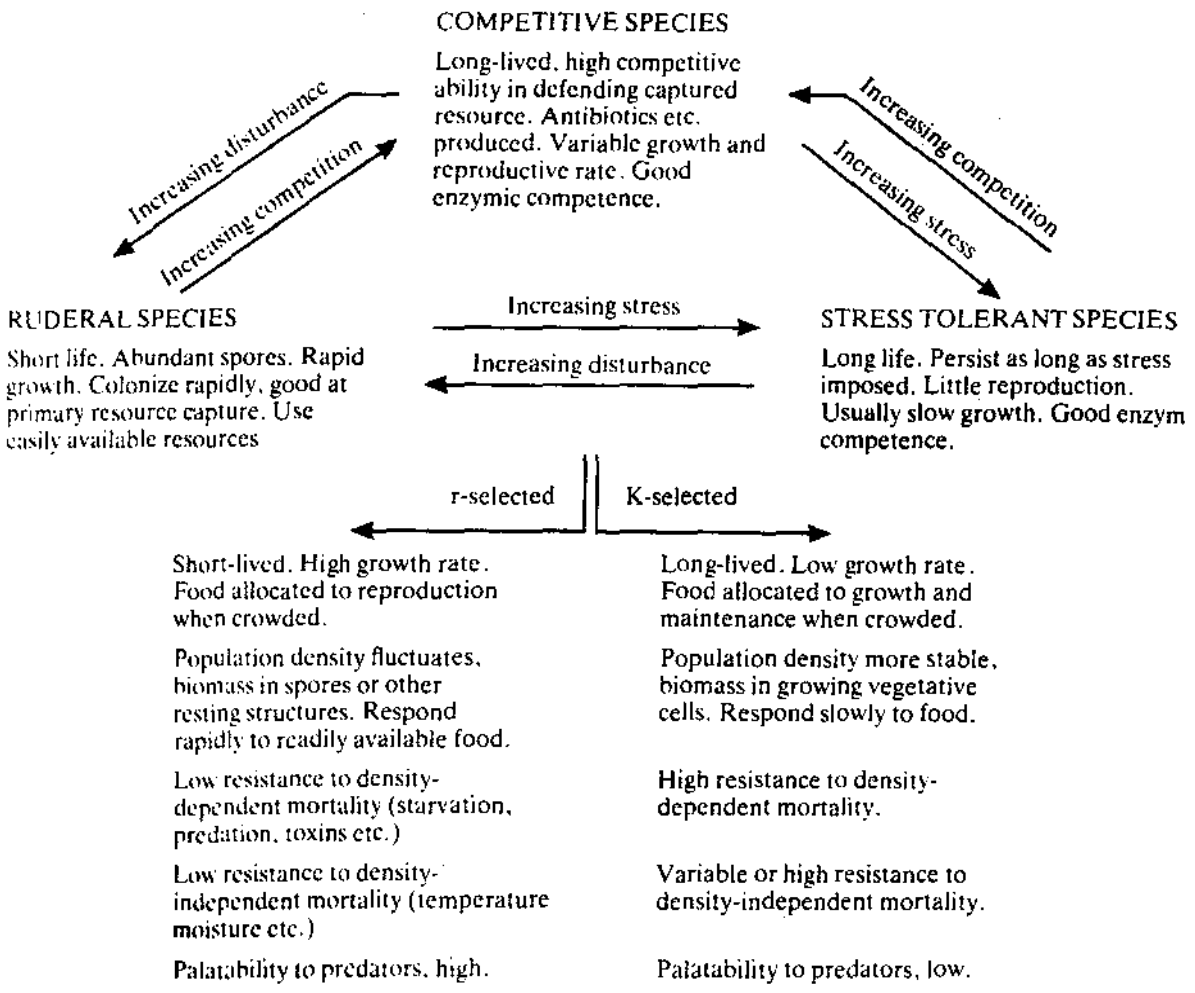
Tüm mikroorganizmalar bir niş işgal ederler. Niş, bir organizmanın içinde bulunduğu bu çevrede oynadığı rolü belirlemektedir. (Ekolojik niş; organizmanın adaptasyonu, fizyolojik tepkileri, kalıtsal veya öğrenilerek elde ettiği özel davranışlardan doğan ekosistemdeki halidir. Bir organizmanın ekolojik nişi, yaşadığı çevrede yaptığı işe bağlıdır. Habitat bir organizmanın adresi ise, niş de onun işidir, Şişli,1980).

Ekolojik bir nişte metabolit üreten (antibiyotik) organizmalar diğer rekabetçi türlere göre avantajlıdırlar. Çevredeki bazı değişkenlerin oluşturdukları etkilerle bu türlerin dormant hale gelmesine neden olurlar. Organizmalar fiziki çevreden etkilendikleri kadar onları da etkilemektedirler. Bu canlılar, oluşturdukları enzim ve metabolitleri ile çevrelerinde değişiklik yaparlar. Örneğin anaerobik bakteriler mikro düzeyde asitliğe ve sıcaklık artışına neden olurlar. Canlı ile fiziki çevre arasında karşılıklı olarak süre gelen bir biyolojik denge vardır. Bir organizma besin maddesinin fazlasını kullanmaz çünkü bu maddenin tükenmesi kendi populasyonunda da bir azalmaya yol açacaktır. Birey sayısındaki azalma bu kaynakla beslenen başka mikroorganizmalar için çoğalma ortamı sağlayacaktır.

Bir dengenin sağlanmasında en önemli faktör, heterojenliğin büyük olması ve değişken organizmalardır. Bunlardan herhangi birisi her ne nedenle olursa olsun başarısız olursa, onun yerine bir diğeri yerleşir.

Dengesi bozulmamış bir ekosistemde, bitki populasyonları iyi tamponlanmıştır ve oluşan değişikliklere karşı sıkı bir dayanıklılık gösterirler. Böyle bir toplulukta ancak iyi adapte olabilenler veya rekabetçi olanlar bir niş bulabilir. Biyolojik topluluktaki karmaşıklık dengeyi de beraberinde getirmektedir. Böyle bir ortam ekolojik bir nişin maksimum düzeyde kullanılmasını sağlamakta ve birbirine kenetlenmiş bir ekosistem yaratmaktadır.

Vahşi doğada bitkiler düşmanları olan patojenlere ve böceklerine adapte olmuşlardır. Adapte olamayanlar ise bu ortamda yaşayamaz ancak yaşayabileceği bir başka ekosistemde varlığını sürdürebilir(Şekil 3).



Şekil 3.Değişik özellikler sahip mikroorganizmaların birbirleriyle olan ilişkileri (Campbell, 1989'dan alınmıştır).

Şekilde izlendiği gibi; yarışmacı olan, besin maddesinde büyük hızla çoğalan ve stres ortamlarına dayanıklı türler arasındaki ilişkiler mikro habitattaki biyolojik dengeyi oluşturmaktadır.

Bir bitki uygun çevre koşullarının da etkisiyle büyük bir topluluk oluşturursa, parazitleri de aynı oranda artış gösterecektir. Hastalıklar bu yüzden biyolojik dengeyi belirleyen unsurlardır. Parazitlerin oluşturduğu baskı, bitkide dayanıklılık ile sonuçlanacak bir mutasyon veya seleksiyonu doğurmaktadır. Bu nedenle bitki ıslahçıları ve patologlar, bitkilerde dayanıklılığın kaynağını bulabilmek için konukçunun orijinal habitatlarını kullanırlar.

Mikroorganizmaların seleksiyonu da biyolojik dengede belirleyicidir. Bazıları besin maddesi için rekabet ederek ve diğerinin artışını engelleyerek, bazısı da, patojenden sızan bazı materyallerden beslenip onun çoğalmasını ve giderek daha çok madde sızmasına yola açarak veya salgıladığı antibiyotik maddelerle antagonizma yaratarak baskı altına almaktadır. Patojenden kaybolan bu materyaller organizmanın zayıflamasına, populasyonunun düşmesine yol açarken, bunu başaran organizma, diğerinin dormant hale geçmesine veya dayanıklı formlara (chlamydospor, oospor ve sklerot gibi) dönüşmesine yol açar böylece konukçu bitkiye saldıran patojen devre dışı bırakılmış olur.

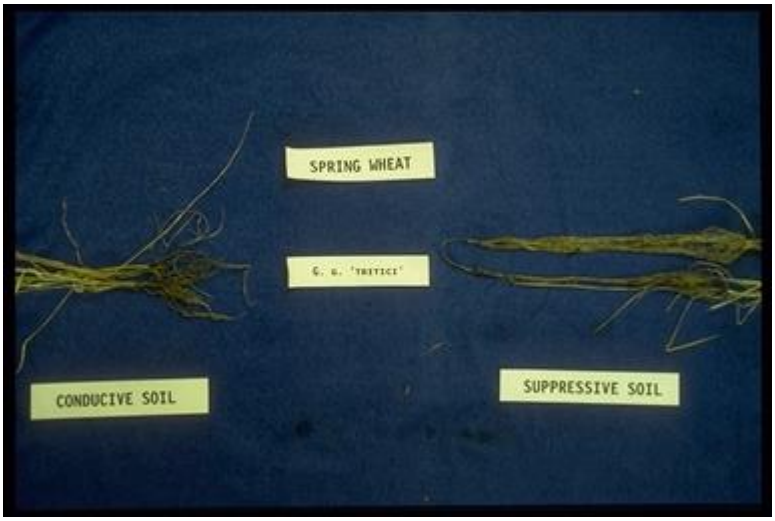
Bitkilerde parazit olan mikroorganizmaların yaşam ortamı toprak ve konukçu bitki yüzeyidir. Bitki hastalıkları ile savaşımda bu yüzden şu üç nokta öne çıkmaktadır:

1.Toprakta bulunan patojeni etkili bir şekilde ortadan kaldırabilmek veya patojenik kapasitesini baskı altına alacak önlemleri almak

2. Patojenle bulaşık olmayan bitki materyali kullanmak

3. Eğer bulunabiliyorsa dayanıklı bitki çeşitleri kullanmak

Toprak, bitkiyi çevreleyen dış koşullara göre daha stabil bir ortamdır ve değişkenliği oldukça yavaştır. Bu stabil ortamda yaşayan mikroorganizmalardan bazıları çevrede oluşan çok küçük değişikliklerden dahi önemli ölçüde etkilenip sayıları sınırlanırken, diğerlerinde bu ölçüde bir değişiklik yaratmayabilir. Bir niş bu organizmalar için tamamen açılabilir veya tamamen kapanabilir. Bu nedenle toprak içerisinde yapılacak tüm iyileştirmeler, patojenlere bu ekolojik nişin kapanmasında önem kazanmaktadır.



MSU, Montana slayt arşivi,2007

Şekil.4. Biyolojik olarak farklı özellik gösteren topraklarda buğdayda görülen siyah bacaklılık (take-all) hastalığının belirtiler bakımından karşılaştırılması

Genellikle monokültür olarak yetiştirilen buğdayın önemli hastalıklarından birisi *Gaeumannomyces graminis var tritici* dir. Bu durumda, patojenlere karşı baskılayıcı mikroorganizmalar ve özellikle de bakteriler mevcut olan nişi lehlerine çevirerek toprakların bu hastalığa karşı dayanıklı olmasını sağlamaktadırlar.

2.3. BİYOLOJİK SAVAŞIN GEÇMİŞİ

Biyolojik savaş ile ilgili en eski bilgiler, bundan 10.000 yıl önce insanların bitki verimliliğini arttırmak için nadası kullandığını gösteren bazı kayıtlarda görülmektedir. Bugünkü Iran ve Irak topraklarında nadasın uygulandığı ve nadastan sonra patojenlerin sayısında hızlı bir azalma olduğu gözlenmektedir. Eski Sümerlerde de nehir kıyılarında yapılan tarımda, nehir taşkınlarının, topraktaki besin maddesi bakımından zenginleşmesini ve su altında kalan topraklarda patojenlerin ortadan kalktığı gözlemleridir. Yine eski Mısır'da yaz aylarında nadasa bırakılan toprakların 10cm derinliğindeki kısımlarında 40-50 ^{0}C'ye ulaşan sıcaklıkların 29-34 gün sürdüğünde toprakta yaşayan patojenler için öldürücü etki yaptığı ve aynı zamanda da bu patojenlerin, antagonistik etki yapan organizmalara olan direncini de kırdığı görülmektedir.

Yine Romalılar, ürün çeşitliliğini kullanmışlardır. Topraklar nadasa bırakılmış ve buğdaygiller, bezelye, bakla gibi baklagil bitkileri ile rotasyona girmişlerdir.

17. ve 18. yüzyıllarda ağaçlardaki kanser yaralarının iyileştirilmesi için büyükbaş hayvanların gübre ve idrarı ağaçlara sürülerek önlenmeye çalışılmıştır. Yine aynı nedenle ağaçlar üzerine fungal enfeksiyonları önlemek için taze çamur sürülmüştür. Bu çamurun kanser belirtilerini %30 civarında azalttığı kaydedilmiştir.

17. yüzyıldan sonra, bilimsel yeniliklerin artışı ile fungal ve bakteriyel organizmaların yaşam döngüleri ile ilgili bilgiler ortaya konmaya başlamıştır.1874 yılında W.Roberts, kültür ortamında antibiyotik etkiyi ortaya çıkarmış ve mikrobiyolojide antibiyosis terimi ilk kez söylenmeye başlamıştır. Yine S.Waksman (1947), antibiyotiğin mikroorganizmalar tarafından üretilen kimyasal bir madde olduğunu, bu maddenin bakterilerin gelişmesini engellediğini ve hatta ortadan kalkmalarına yol açtığını kaydetmiştir.

Bir organizmanın diğeri tarafından engellenmesi pek çok araştırıcı tarafından çalışılmış ancak bu madde 1928 yılında A.Fleming tarafından, Penisilin olarak adlandırılmış ve saflaştırılmış olarak tıpta kullanılmaya başlanmıştır.

Bitki patojenlerine karşı, doğrudan antagonist uygulamaları, 1920-1940 arasındaki yıllarda gerçekleşmiştir. Hartley (1921), çam fidanlarında görülen çökerten etmenine karşı, toprakları 13 antagonistik fungus ile bulaştırmıştır. Çökertene yol açan *Pythium debaryanum* otoklavda sterilize edilmiş toprağa verildiğinde hastalık % 27.5 oranında ortaya çıkarken, *Phoma sp, Chaetomium* ve *Trichoderma* gibi bazı antagonistik funguslar bulaşık topraklara verilince hastalık çıkışı % 16.9 düzeyinde kalmıştır. Çalışmanın devamında topraklar bu kez sterilize edilmemiş ve patojen uygulanan saksılarda %35.8 lik bir hastalık çıkışı görülmüştür. Böylece, farklı antagonistik fungusların aralarındaki çekişmeye dikkat çekilmiştir.

1927 yılında Millard ve Taylor'un yaptığı çalışmada, patates uyuzuna (*Streptomyces scabies*) karşı daha başarılı sonuçlar alan bir uygulama yapılmış ve saksılarda hazırlanan steril topraklara antagonistik *Streptomyces praecox* ile birlikte yeşil ot parçaları verilmiştir. Laboratuardaki besi yerinde herhangi bir antibiyosis göstermeyen antagonistik bakteri, saksı testlerinde gerek bitki parçaları ile birlikte gerekse de tek başına patojeni çok şiddetli bir biçimde baskılayarak hastalığı azaltmıştır. Bu sonuçlar, toprakta oluşan rekabet sonucunda daha zayıf olan organizmanın aç kalarak etkisini kaybetmesi olarak yorumlanmıştır.

Bliss, (1951)'de *Armillaria mellea'*nın turunçgillerde oluşturduğu hastalığa karşı toprak dezenfeksiyonu ile öldürülemediği ancak toprakta bulunan *Trichoderma viride* ile kontrol edilebildiğini ortaya koymuştur. Patojen miselinin *Trichoderma* tarafından zayıflatıldığı ve savunmasız bırakıldığı kaydedilmiştir.

Yine Papavizas ve Lewis(1981), UV radyasyonla *T.harzianum* un yeni biyotiplerini elde etmiş, soğanlarda Rhizoctonia çökertenine karşı biyokontrol yapmışlardır. Bu yeni tiplerin

benomyle karşı tolerans ve toprakta daha uzun süreli kalabilmesi mutant izolatlar yoluyla biyolojik savaşımda başarılı olunabileceğini göstermişlerdir.

Bitkinin yeşil aksamı üzerinde değişik biçimlerde yerleşen bazı antagonistlerin yaprak yüzeylerinde oluşturdukları populasyonlarının, hastalıkların baskılanmasında önemli olabileceğini Fokkema (1968),Blakeman (1977) ve Fraser (1971) adlı araştırıcılar ortaya koymuşlardır. Bu antagonistler içerisinde *Sporobolomyces, Pseudomonas* gibi rekabetçi bazı organizmalar öne çıkmıştır.

Kestanelerde kanser yaparak ağaç ölümlerine yol açan bu hastalığa karşı 1960 ve 70'li yıllarda hipovirulensliğin taşınabileceğini ortaya koymuşlardır. Bu hastalık için çift sarmal DNA'nın anastomosis yoluyla etkili olabileceği bulunmuştur. Turunçgillerdeki tristeza virusunun yine çapraz koruma ile virulent ırklara karşı koruyuculuğu Costa ve Müler (1980) tarafından araştırılmıştır. Kerr ve arkadaşları (1972) Kök uruna karşı *Agrobacterium radiobacter* K84 ırkını bularak budamadan sonra ağaçların bakteri ile bulaştırılması ile kanserin azaltılabildiğini bulmuşlardır.

Bu ve bunun gibi pek çok konukçu-patojen ve antagonist ilişkisi günümüze kadar sürekli araştırılmakta ve elde edilen verilerin üzerine yeni bilgiler kazanılmaktadır.

2.4. GÜNÜMÜZDEKİ SON GELİŞMELER

Biyolojik savaş çalışmaları 1970'lerden başlayıp günümüze kadar hızla gelişerek hem akademik çalışmalarla hem de antagonistlerin ticari olarak üretilmesine kadar ulaşan boyutlarda gelişme göstermiştir. Bunlar içerisinde Biyolojik savaşıma yönelik dergiler (Biological control, Biocontrol research and technology ve BioControl) hem Fitopatoloji hem de Entomoloji alanlarında yapılan sadece bu amaçlı araştırmaları basmaktadır. Son 40 yıldır yürütülen çalışmalardan edinilen bilgilerin ışığında geleceğe dönük olarak bazı soruların cevapları aranmaktadır. Özellikle günümüzde bilgisayar teknolojisi, moleküler biyoloji ve analitik kimya gibi dalların geldiği noktadan yola çıkılarak biyolojik savaşımda kullanılan antagonistlerin ve patojenlerin daha detaylı çalışmalarla incelenmesi mümkün olmaktadır. Biyolojik savaş çalışmalarında bazı ana noktalar şu şekilde sıralanmaktadır.

1.Bitki ile ilişkili ekolojik sistemde:

1.1.İçerisinde bulunulan çevrede patojen ve antagonistler nasıl dağılmaktadır

1.2.Mevcut ekolojik koşullar altında biyolojik ajanlar, baskılayıcılık kapasitelerini nasıl başarmaktadırlar.

1.3.Yerli antagonistler veya sonradan ilgili çevreye verilenler oluşturdukları populasyonlar ile yapılan uygulamalara nasıl bir yanıt vermektedirler

1.4. Başarılı bir kolonizasyonu neler belirlemektedir.

1.5. Bitkideki dayanıklılık sisteminin uyarılmasında hangi unsurlar ve dinamikler rol oynamaktadır

2. Antagonistik organizmaların uygulanmasındaki stratejiler

2.1.Uygulamalarda daha etkili streynler bulunabilir mi?

2.2.Biyolojik savaşımın etki alanını geliştirmek için genetik mühendisliğinden yararlanılabilir mi?

2.3.Bilinen biyokontrol ajanlarının etkisini arttırmak için hangi formülasyonlar kullanılabilir?

3. Yeni türler ve etki mekanizmaları araştırmak

3.1. Daha önce özellikleri araştırılmamış olan bazı mikroorganizmalar biyokontrol ajanı olarak kullanılabilir mi?

3.2.Patojenleri baskı altına almada hangi gen ve gen ürünleri etkilidir.

3.3.Biyolojik ajanları tek tek uygulamak yerine daha etkili olabilecek yeni kombinasyonları olabilir mi?

3.4. Uygulanan farklı karakterdeki mikrobiyal ajanlara karşı bitkide hangi sinyal molekülü oluşmaktadır

4. Tarımsal sistem içerisinde biyolojik ajanların uygulamaları

4.1.Hastalıklarla mücadelede nasıl bir sistem biyolojik savaştan sağlanan kazancı artırabilir

4.2. Biyokontrol stratejisi, IPM sisteminin içerisine en iyi uyumu nasıl sağlayabilir.

4.3. Bitki ıslahçıları, en etkili biyokontrol-çeşit bütünleşmesini geliştirebilir mi?

Son 50 yılda yapılan tüm araştırmaların sonucunda biyolojik savaşım etkili ve sürdürülebilir tarımın içerisinde yer alan bu sistemin gelişmesine yol açmıştır. Bugün gelinen noktada ise, henüz sayıları fazla olmamakla birlikte hızla gelişme gösteren ticari bir sektör karşımıza çıkmaktadır.Toplam pestisit pazarı içerisinde biyolojik kaynaklı ürünlerden yılda elde edilen gelir 10-20 milyon dolar civarına ulaşmıştır (Pal., 2006).

3. Patojenlerle Biyolojik Savaşımın Yolları

Antagonistik organizmalar pek çok çeşitli şekilde birbirleri ile ilişkide bulunurlar. Bu karşılıklı ilişki içerisinde şunlar yer alır:

3.1.Doğrudan etkileme

3.1.1.Besin maddesi veya yer bakımından rekabete girerler (Rekabet)

3.1.2.Bir mikroorganizmanın diğerini doğrudan ortadan kaldıracak şekilde parazitler (Parazitizm)

3.1.3.Rekabet ettiği türü ürettiği antibiyotik maddelerle öldürür (Antibiyosis)

3.2. Dolaylı etkileme

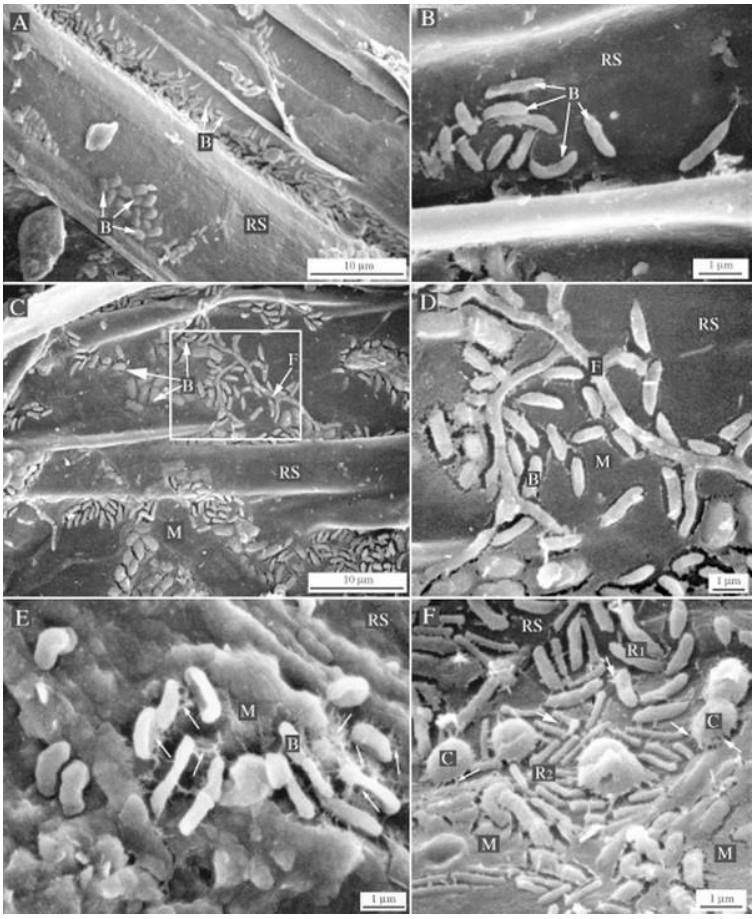
1. Konukçudaki dayanıklılık mekanizmasının uyarılması yoluyla (Uyarılmış dayanıklılık)
2. Çevre koşullarındaki değişikler ile mikro habitatta oluşan yeni kompozisyon ile patojenlerin yoğunluğunun azaltılması

3.1. Doğrudan etkileme

3.1.1.Rekabet

Aynı kaynağı kullanan iki mikroorganizmanın, bu sınırlı miktardaki besini alabilmek için aralarında oluşan yarışma ve bunun sonucunda patojenin etkisiz kalmasıdır. Mikroorganizmaların genellikle besin maddesi olan karbon ve azot için birbirleriyle yarıştıkları bilinmektedir. Ancak bu besin maddeleri yanı sıra, içinde bulundukları çevresel koşullara da çok duyarlıdırlar. Bitkide yerleştikleri yer de yaşayıp çoğalmaları için gereklidir. Mikro habitatta bulunan su tüm mikroorganizmalar için gereklidir. Rekabet ortamı da suyun sağlanabildiği koşullarda aktivite kazanmaktadır. Bitki üzerinde mikroorganizmaların rekabetinde de yerleştikleri bitki kısımları bakımından da farklılıklar vardır. Bitkinin toprak üstü kısımları yani yaprak yüzeylerinde mikroorganizmaların yerleşebileceği ve kullanabileceği besin ve su miktarı oldukça azdır. Bu nedenle yarışma bu bölgede toprağa göre daha sınırlı kalmaktadır.

Rhizosfer bölgesinin toprak içerisinde yarattığı ortam ise çok daha karmaşıktır. Bitki köklerinden salgılanan pek çok eksudat madde buradaki mikrobiyal topluluk için besin kaynağı sağlamaktadır. Ancak bu kaynak için de mikroorganizmalar yarışmak durumundadır. Bitki köklerinin uzaması ile patojenler de yeni oluşan bu alanda yerleşirler. Bu durum özellikle kök uçlarında çoğalan patojenler için önemlidir. Bu nedenle bitki büyümesiyle eş zamanlı olan antagonistlerin, tohuma veya kök bölgesine uygulanması bu bakımdan önemlidir. Kök bölgesinde yayılması sağlanan bu mikroorganizmalar bir süre sonra rizosfer bölgesinde çok büyük bir sayıya ulaşabilmektedir.



Şekil 5.Kök yüzeyi üzerinde kolonize olan bakteri ve fungal organizmalar (M. E. Puente[1], Y. Bashan[1], C. Y. Li[2], V. K. Lebsky,2004'dan alınmıştır)

Fusarium ve *Pythium* gibi toprakta etkili olan patojenler bitkiye doğrudan miseliyal temas yoluyla enfeksiyon yapmaktadırlar. Bu patojenler toprak içerisinde yaşanan rekabet ortamına karşı çok duyarlıdırlar ve antagonistik organizmalardan etkilenirler. Örneğin: antagonistik organizmalardan *Pseudomonas putida*, agglutinin adlı bir glikoprotein üreterek rhizosfer bölgesinde kolonizasyonunu arttırmakta ve Fusarium'un gelişimi baskı altına alabilmektedir.

Rekabet ilişkisinde en önemli nokta, patojen olmayan organizmaların çok hızlı bir kolonizasyonla bu bölgedeki besini tüketerek patojen gelişimi için elverişsiz bir ortam yaratmalarıdır. Bir başka örnek ise; *Pythium ultimum*'un *Enterobacter cloacae* ile önlenmesidir.

Rekabetin yapıldığı diğer bir besin maddesi de demirdir. Demir, toprakta sınırlı olan bir elementtir. Killi topraklarda, toprağa kireç eklenmesi toprakta agregat oluşmasına yol açarak pH'ı yükseltmekte ve demir iyonlarının demir hidroksit olarak birikmesine yol açmaktadır. Bu formdaki demir, mikroorganizmalar tarafından alınamamaktadır.

Bazı mikroorganizmalar demiri bağlayan bileşikler üretebilmektedirler. Buradan yola çıkılarak şu hipotez geliştirilebilir, siderefor madde üretebilen bir antagonist, köklerde kolayca kolonize olabilecektir ve bu ortamda bulunan patojen de demiri ancak sınırlı miktarda alabilecektir.

Tüm mikroorganizmalar siderefor üretirler. Siderefor etkinin biyolojik savaştaki etkisi pek çok araştırıcı tarafından incelenmiştir (Kloepper et al., 1980). *Erwinia caratovora,* toprakta bulunan ve bitki gelişimini uyaran *Pseudomonas fluorescens* gibi bazı rizobakterler tarafından bu mekanizma ile baskı altına alınmaktadır.

Ancak toprakta yaşanan karmaşık etkileşimler siderefor etkinin biyolojik savaştaki etkisini tam olarak açığa çıkaramamaktadır.

3.1.2.Parazitizm

Bazı mikroorganizmalar, diğerleri besin maddesi olarak kullanarak doğrudan saldırabilir. Böyle bir parazitik ilişkide bu organizmalar arasında doğrudan bir temasın bulunması gereklidir. Bu parazitizm genellikle hiperparazitizm veya sözkonusu organizma bir fungus ise mycoparazitizm adını almaktadır. Mycoparazitizmde fungal parazit, patojen fungusun hiflerini penetre ederek öldürmektedir.

Toprakta yaşayan patojenlere karşı etkili bir baskılayıcılık sağlayan en önemli mikoparazitlerden birisi *Trichoderma* fungusudur. *Trichoderma* fungusunun hifleri fungal parazitlerin hem misellerine hem de dinlenme yapılarına saldırarak onları parazitler.

Hifleri aracılığı ile patojen hifine dolanan misel, konukçu çeperini delerek penetrasyonu gerçekleştirir. *Trichoderma* fungusu mikoparazitlik yanında başka etkiler de göstermektedir.

Trichoderma harzianum ve *Rhizoctonia solani* arasında görülen parazitik ilişki SEM resimlerinde açıkça görülmektedir (Şekil 6).

Patojenlerin dayanıklı yapılarına saldırarak onları parazitleyen bazı funguslar da bulunmaktadır. Bunlar içerisinde *Conityrium minitans* ve külleme patojenlerine hiperparazitik etki yapabilen, *Ampelomyces quisqualis, Gliocladium virens* ve *Acremonium alternatum* sayılabilir.

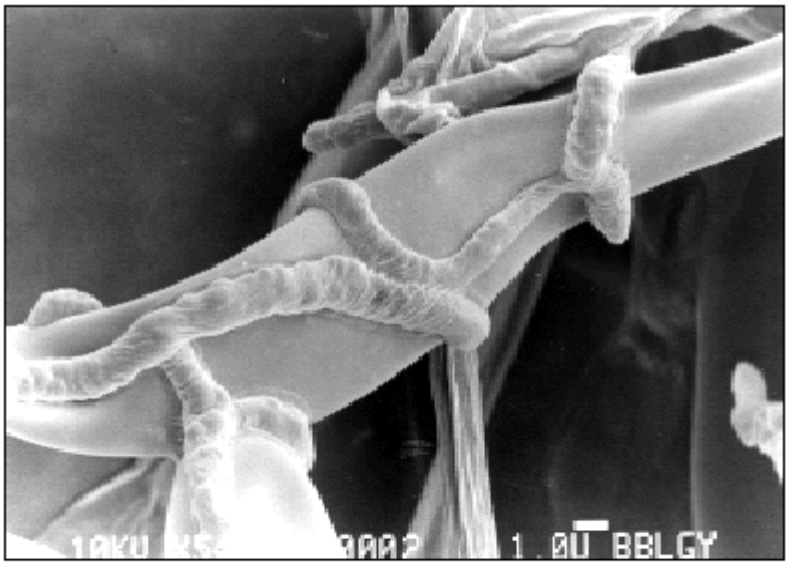


Figure 3 - SEM micrographs showing coiling of *Trichoderm harzianum* (Th-9) over *R. solani*.

Şekil 6. İki mikroorganizma arasında görülen parazitlik ilişki(Itamar Soares de Melo; Jane L. Faul, Scientia Agricola,2000).

Antagonistik bir diğer organizma olan *Gliocladium*, *Trichoderma*'ya benzemekle beraber mikoparazitik etkisinin yanında aynı zamanda antibiyotik etki de göstermektedir.

3.1.3. Antibiyosis

Antibiyotikler, bir mikroorganizmanın ürettiği metabolik maddeleri ile diğerinin gelişmesini durdurucu etki gösteren ve çok küçük konsantrasyonlarda bile etkili olan organik maddelerdir. Antibiyosis bir organizmanın ürettiği antibiyotiği ile diğerinin engellenmesi mekanizmasıdır. Antibiyosisin sonucunda mikrobiyal hücrede endolysis olur ve hücre sitoplazması parçalanır.
Antibiyosisin bir avantajı patojen ve antagonist arasında doğrudan temasa gerek duymamasıdır. Antagonist, ürettiği maddeleri yaprak üzerindeki su filmi içerisinde veya nemli toprakta oluşturur ve difüzyon yoluyla patojene ulaşır.
Bu en iyi suni besi yerlerinde görülebilir. Suni besi yerinde geliştirilen antagonistin oluşturduğu koloninin çevresinde patojenin gelişemediği bir alan bulunur. Buna engellenme zonu denmektedir (Şekil 5). Antagonistin ürettiği antibiyotik maddenin difuzyon yolu ile yayılması sonucunda besi yerinde karşısında gelişen diğer organizmanın gelişmesini etkilenir.

Şekil 7. Petri kabında antagonist ve patojen arasında görülen antibiyosis (L.M. Nelson,2004 (Crop Management doi:10.1094/CM-2004-0301-05-RV.'den alınmıştır)

Antibiyotik üreterek etkili olan antagonistler, rizosfer bölgesi, tohum veya bitki üzerindeki yaralarda kolonize oldukları sırada bu maddeleri üretirler ve baskılayıcılık sağlarlar. Antibiyotik maddelerin etkili olabilmesi için patojene yakın olmaları gerekmektedir. Mikroorganizmalar tarafından salgılanan bazı antibiyotik maddeler ve etkiledikleri patojenler Çizelge 1'de görülmektedir.

Bazı antagonistlerin birden fazla değişik özellikte antibiyotik salgıladıkları da bilinmektedir. Örneğin *Bacillus cereus* streyn UW85 hem zwittermycin hem de kanasamine adlı antibiyotikleri salgılamaktadır. Birden fazla antibiyotik salgılanması toprak içerisindeki mikroorganizmalar arasındaki rekabette büyük bir avantaj sağlamaktadır (Pal ve Gardener,2006). Antibiyosis mekanizması içerisinde antagonistik bir mikroorganizmanın ürettiği antibiyotik maddenin, konukçuda endolysis'e neden oluşu ile antibiyotik ve lysis kavramları birbirine geçmiştir.

Lysis; Biyolojik maddelerin parçalanması, ayrıştırılması anlamında kullanılan bir terimdir.

Pek çok mikroorganizma kitin, protein, selüloz, hemisellüloz gibi bileşikleri hidrolize eden bazı metabolik maddeler salgılarlar. Salgılanan bu maddeler patojenleri baskı altına alır. Örneğin *Serratia marcescens, Sclerotium rolfsii*'nin baskılanmasında kitinaz salgısı ile başarılı olmaktadır. Lysis olayında bu enzimlerin genellikle ölü organik maddelerin parçalanmasında salgılandığı bilinmekle beraber mikroorganizmalar arasındaki ilişkide nasıl etkili oldukları hala çok açık değildir. Doğal olarak kolonize olup bitki patojenlerini lysise uğratan bu organizmalar da birer biyokontrol elemanıdırlar. Lysis değişik şekillerde

oluşmaktadır. Antibiyosis içinde de görülebilir; Örneğin bir bakteri tarafından oluşturulan bakteriyosin parazitlediği bakteriyel hücrelerin parçalanmasına yol açabilir. Rekabet sırasında mikroorganizmalar aç kalır bu da hücrelerinin lysise uğramasına yol açar veya antagonist tarafından konukçusu olduğu hücre çeperi enzimatik olarak eritilir.

Antibiyosis mekanizmasının pek çok avantajı olmakla birlikte, bu mekanizma her zaman kullanılamamaktadır. Antibiyotikler, ancak mikro habitatta besin maddesince zengin olduğu yerlerde daha etkili olmaktadır. Ayrıca, üretilen antibiyotik maddeler, uzun süre kalıcı olamamaktadır. Bunun yanı sıra, patojenlere zarar veren antibiyotiklerin etki alanlarının da dar olduğu bilinmektedir. Antibiyotik üretme dışında mekanizmaları bulunan antagonistlerin daha geniş alanda hastalıkları baskı altına alabildikleri de bilinmektedir.

Çizelge 1. Antagonistik organizmaların oluşturdukları bazı antibiyotikler

Antibiotic	Source	Target pathogen	Disease	Reference
2, 4-diacetyl-phloroglucinol	*Pseudomonas fluorescens* F113	*Pythium spp.*	Damping off	Shanahan et al. (1992),
Agrocin 84	*Agrobacterium radiobacter*	*Agrobacterium tumefaciens*	Crown gall	Kerr (1980)
Bacillomycin D	*Bacillus subtilis* AU195	*Aspergillus flavus*	Aflatoxin contamination	Moyne et al. (2001)
Bacillomycin, fengycin	*Bacillus amyloliquefaciens* FZB42	*Fusarium oxysporum*	Wilt	Koumoutsi et al. (2004)
Xanthobaccin A	*Lysobacter* sp. strain SB-K88	*Aphanomyces cochlioides*	Damping off	Islam et al. (2005)
Gliotoxin	*Trichoderma virens*	*Rhizoctonia solani*	Root rots	Wilhite et al. (2001)
Herbicolin	*Pantoea agglomerans* C9-1	*Erwinia amylovora*	Fire blight	Sandra et al. (2001)
Iturin A	*B. subtilis* QST713	*Botrytis cinerea* and *R. solani*	Damping off	Paulitz and Belanger (2001) Kloepper et al. (2004)
Mycosubtilin	*B. subtilis* BBG100	*Pythium aphanidermatum*	Damping off	Leclere et al. (2005)
Phenazines	*P. fluorescens* 2-79 and 30-84	*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*	Take-all	Thomashow et al. (1990)
Pyoluteorin, pyrrolnitrin	*P. fluorescens* Pf-5	*Pythium ultimum* and *R. solani*	Damping off	Howell and Stipanovic (1980)
Pyrrolnitrin, pseudane	*Burkholderia cepacia*	*R. solani* and *Pyricularia oryzae*	Damping off and rice blast	Homma et al. (1989)
Zwittermicin A	*Bacillus cereus* UW85	*Phytophthora medicaginis* and *P. aphanidermatum*	Damping off	Smith et al. (1993)

Pal ve Gardener,2006 dan alınmıştır.

3.1.4.Fungistasis

Topraklar bitkiye besin maddesi ve su sağlayan bir ortam olması yanı sıra, içinde yaşayan pek çok canlı organizmaya da ev sahipliği yapmaktadır. Bitki hastalıklarından korunmak için uygulanan kimyasal ilaçlar, toprak içerisinde yerleşip çoğalan bu mikroorganizmaların büyük bir kısmını ortadan kaldırmaktadır. Bu uygulama çevreye ve insan sağlığını olumsuz etkilemenin yanı sıra çoğunlukla etkili de olamamaktadır.

Toprak kaynaklı hastalıkları kontrol altına alabilmek için sağlıklı toprak kavramının iyi bilinmesi gereklidir. "Sağlıklı toprak",verimli olmasının yanı sıra fizikokimyasal özellikleri ile bitkiye besin maddelerinin alınımını en iyi şekilde sağlamalı ve bitkinin patojenlere karşı direnci için çok iyi bir biyotik potansiyele sahip olmalıdır (Alabouvette et al., 2003).

Fungistasis kavram olarak, toprak içerisinde yaşayan fungal propagüllerin dormansiye zorlanması işlevidir. Dormant halde bulunan propagüllerden sklerot veya klamidosporın yeniden çimlenme ve büyüme için kendi besin rezervleri yeterli olmadığı için mutlaka kök eksudatı gibi bir dış kaynağa ihtiyaçları vardır. Ancak bu kaynak ağırlıklı olarak köklerde yaşayan bakteriler tarafından kullanılır. Bu da yoğun bir rakabeti getirir ve dormansi kırılamaz.

Doğal toprakların pek çoğunda toprak içerisinde bulunan fungal etmenlerin çimlenme ve gelişmesinin baskılandığı görülmektedir. Bu olay geniş anlamında fungistasis olarak tanımlanmaktadır. Bu tanım ilk defa Dobbs ve Hinson,1953 tarafından ortaya konmuştur. Fungistasis ile ortaya çıkan bu sistemin, toprak içerisinde bulunan mikrobiyal aktiviye bağlı olduğu kadar toprağın fiziksel ve kimyasal yapısına da bağlı olduğu görülmektedir. Toprak içerisindeki kil minerallerin zengin olmasının fungistatik aktiviteyi de arttırdığı araştırmalarda ortaya konmuştur. Bölümümüzde yapılan bir fungistasis araştırmasında patojenlerin baskılanmasında başta topraktaki mikroorganizmalar olmak üzere, toprağın içindeki kil minerallerinden montmorillonitin antagonistik özellikteki actinomycetesleri arttırdığı görülmüştür (Bora et al., 1982).

Cook (1977) fungistasiste propagüllerin kendi kendilerini engellediklerini, dormansinin ancak bazı koşullar yerine geldiğinde kırılabildiğini göstermektedir. Yine mikro organizma kaynaklı bazı uçucu karakterdeki kimyasal maddelerin toprak içerisinde bu propagüllerin çimlenmesini engelledikleri görülmektedir.

Fungistasise karşı funguslar farklı duyarlıklılar gösterirler. Toprak içerisinde bulunan patojenik organizmalar saprofitlere göre fungistasis olayına daha fazla duyarlıdırlar.

Fungistasiste mikrobiyal etkileşimler üzerindeki en önemli etkinin organizmalar arasındaki besin ve özellikle de karbon kaynakları için yaptıkları güçlü rekabetten dolayı olduğu ortaya

çıkmaktadır. Toprakta karbon kaynaklarının az olması sadece fungusları değil topraktaki aktinomiset ve bakterilerin gelişimini de sınırlamaktadır. Mikrobiyal kaynaklı antifungal maddelerin üretilmesinin baskılamada önemli olduğu ve bunu pek çok fungusun yapabildiği bilinmektedir.

3.1.5. Dayanıklı topraklar

Doğada, hastalık oluşumu için gerekli tüm şartlar; duyarlı bir konukçu bitki, uygun çevre koşulları ve patojen bulunmasına rağmen bazı bitkilerde hastalığın çok az veya hiç görülmemesi dayanıklı topraklar terimi ile açıklanabilir. Topraklarda görülen dayanıklılıkta 3 önemli kriter bulunmaktadır.

1.Patojen ya yoktur

2.Patojen vardır ama hastalık oluşturmamaktadır

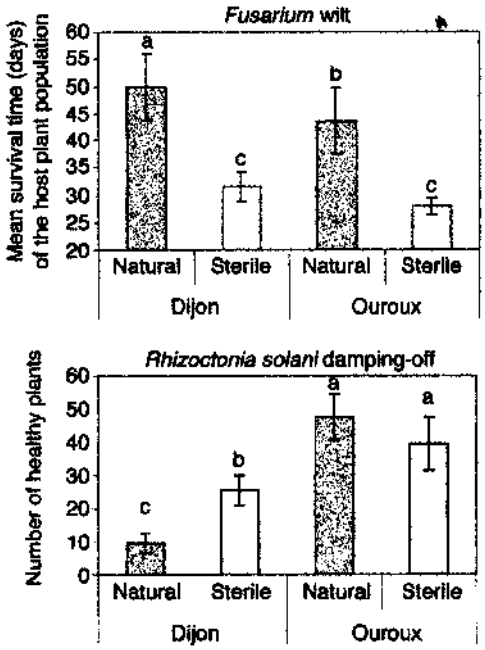
3.Patojen vardır, başlangıçta hastalık oluşturmaktadır ancak hastalık şiddeti azalma göstermektedir.

Bunun ile ilgili en çok bilinen örnek; buğdaygil siyah bacaklılık (*Gaeumannomyces graminis*) hastalığında rastlanan durumdur. Duyarlı konukçunun devamlı yetiştirildiği yerlerde topraklar dayanıklı olmaktadırlar Buğday üretiminin yapıldığı böyle topraklarda ilk birkaç yıl hastalık görülse de daha sonraki süreçte azalışa geçmektedir (Alabouvette, 2003).

Dayanıklı topraklarla ilgili bir diğer örnek; Fusarium'un bulunduğu ancak hastalık oluşturmadığı topraklardır. Fransa'da araştırıcılar farklı topraklar üzerinde yaptıkları incelemede etmenin chlamydosporlarının çimlenmesinin çok düşük oranda kaldığını saptamışlardır. Çimlenmenin bu denli sınırlı olmasındaki esas nedeninin topraktaki rekabete dayalı bir fungistasis olayı ile açıklanabilmektedir. Topraklara glukoz şeklinde verilen karbon kaynağının duyarlı ve dayanıklı topraklarda bulunan klamidospor çimlenmesini arttırdığı ancak dayanıklı topraklarda besin maddesi rekabetinin büyük olması nedeniyle fungal patojenin aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Buradaki ilişkide rekabetçi türlerin karbonu büyük bir hızla tüketmesinden kaynaklanan bir durum görülmektedir.

Dayanıklı topraklarda, rekabet mekanizmasının yanında antibiyosisin de etkili olduğu bilinmektedir. Siyah bacaklılık hastalığında toprakta bulunan *Pseudomonas fluorescens* bakterilerinin ürettiği 2-4 diacetyl phloroglucinol adlı antibiyotiğinin baskılamakta etkili olduğu görülmüştür (Raajmakers ve Weller,1998).

Dayanıklı topraklarda görülen baskılayıcılık bazı patojen ve konukçu ilişkilerinde incelenmiştir. Bunlar arasında Fusarium solgunluğu ve Rhizoctonia kök çürüklüğü ile ilgili çalışmalar örnek olarak verilebilir. Bu çalışma ile ilgili bir grafik Şekil 8'de görülmektedir.



Alabouvette et al., 2003.

Şekil 8. Doğal ve sterilize edilmiş toprakların dayanıklı topraklar bakımından karşılaştırılması

Fransa'daki iki farklı bölgenin toprağında doğal topraklar ile sterilize edilmiş topraklar patojenler ile bulaştırılmış ve konukçu bitki olarak keten ve çam fideleri dikilmiştir. Dijon'daki doğal topraklar Fusarium'a karşı dayanıklılık gösterirken Rhizoctonia' karşı etkisiz olmuş, sterilize edildikten sonra ise topraklardaki baskılayıcılıkların ortadan kalktığı görülmüştür. Bu da topraklardaki bu özelliğin biyolojik karakterini ortaya koyması bakımından önemlidir.

Ülkemizde de fungistasis ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Bora ve ark., 1982).Ege bölgesindeki kabakgil, patlıcangil ve pamuk tarlalarında görülen solgunluk etmenleri ile ilgili bir sörveyde inceleme yapılan 89 topraktan 9'unun fungistasis özelliği gösterdiği bulunmuştur. Çalışma yapılan topraklarda topraktaki iki kil minerali olan illit ve montmorillonittce zengin bulunmuştur. Özellikle montmorillonitce zengin topraklarda antagonistik actinomycetes populasyonunun yüksek bulunmuştur. Çalışmada, K5 toprağı olarak nitelendirilen toprak saksı topraklarına değişik oranlarda karıştırılmış ve % 50 oranında karıştırıldığında hastalık şiddetinin % 80 oranında azaldığı görülmüştür.

3.2.Dolaylı etkileme

Antagonistik organizmalar bazen doğrudan etki yapmak yerine bitkide dayanıklılık sistemini uyararak etki gösterebilir

3.2.1.Dayanıklılığın uyarılması

Bilindiği gibi bitkiler kendilerine saldıran düşmanlarına karşı sıcakkanlılarda olduğu gibi antikor gibi maddeler üreterek savunma yapamamaktadır. Ancak, saldırgan mikroorganizmalardan korunmak için geliştirdikleri bazı yöntemleri bulunmaktadır. Eğer belli bazı bitki türleri spesifik bazı tür mikroorganizmalar ile bulaştırılırsa, geçici olarak veya bazı durumlarda kalıcı olabilen bir immunizasyon görülebilir. Bitkide oluşan bu savunma sistemi, bitkiyi patojenlere karşı korumak için önemli olmaktadır. Buna örnek olarak; diğer savaşımların sınırlı olduğu bazı virus hastalıkları söylenebilir.

Dayanıklılığın uyarılması yoluyla gerçekleşen bu yöntem viral hastalıklarda çapraz koruma adını almaktadır (cross protection). Bir bitki virusunun pek çok syreyni bulunmaktadır. Bunlar hastalığın şiddetini belirlemektedirler. Bazı viral patojenlerinin ılımlı ırklarının neden olduğu diğerlerine göre etkisi daha az olan belirtiler bu nedenle göz ardı edilebilecek bir durum gösterebilir. Viral hastalıklarda gözlemlenen bu durum daha sonra biyolojik savaşım için bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır. Bitkinin avirulent veya ılımlı ırkları ile inokule edilmesi, aynı virusun daha virulent etkideki bireylerine karşı bir koruyuculuk geliştirebilmektedir.

Örneğin turunçgillerde görülen tristeza virusu, pek çok turunçgil çeşidinde ciddi boyutta zarar yapan bir hastalıktır. Çapraz koruma da insanlara uygulanan aşılama gibi bir şeydir. Ilımlı bir virusu taşıyan bir ağaçtan alınan aşı gözü sağlıklı ağaca aşılanmaktadır. Ağaçta hızla yayılan virus, aşılama sonrasında gelişen yeni dokularda virusun virulent bireylerine karşı ağaçları koruyabilmektedir. Çapraz koruma ilk kez Brezilya'da 1968 yılında uygulanmıştır. 1980 yılına kadar Brezilya'da tatlı portakallarda (*Citrus cinensis*) 8 milyon ağacın bu yolla korunduğu ve tristeza virusu ile ilgili uygulamaların dünyanın her yerinde yaygınlaştığı görülmektedir (Hajek, 2004).

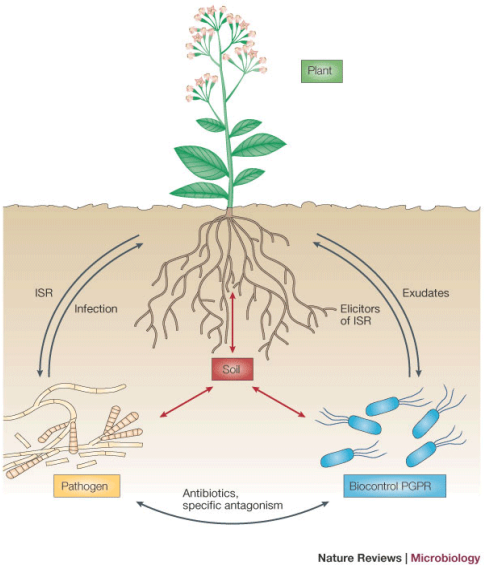
Çapraz koruma pek çok bitki türünde kullanılamamaktadır. Ilımlı ırklar her zaman tüm bitki türlerinde elde edilememekte veya etkili olamamaktadır. Başarılı olabilmesi için bitkilerin çok yıllık yetiştirilen türler olması gereklidir.

Sistemik kazandırılmış dayanıklılık'ta (SAR) ise durum biraz daha farklıdır. Bir patojen ile enfekte edilmiş bir bitki, diğer bir patojene karşı daha dayanıklı olmaktadır. Bu da çapraz korumaya oranla bu sistemin daha umutvar bulunmasını sağlamaktadır. SAR yani sistemik kazandırılmış dayanıklılıkta, bir patojen ile bulaştırılan bitkide dayanıklılık geliştiğinde uyarılma gerçekleşir. Bitki büyüdükçe aynı patojene olduğu gibi diğer patojenlere de

dayanıklılığı devam etmektedir. Örneğin; fasülye ve şeker pancarı bitkilerinde virus ile inokule edilmiş bitkiler, bazı obligat patojenlerin (pas,mildiyö) enfeksiyonlarına karşı bitkileri korumaktadır. Hıyar bitkileri genç dönemde fungus, bakteri veya virus ile bulaştırıldıklarında bu bitkide görülen 13 fungal, bakteriyel ve viral hastalığa karşı koruma gösterebilmektedir.

SAR da henüz bilinmeyen bazı biyokimyasal mekanizmalar vardır. SAR'da antimikrobiyal etkinlik gösteren başta β-1,3 glukonaz, kitinaz vaya diğer bazı antimikrobiyal proteinler vardır. SAR sisteminde uyarılan genler, bitki türüne veya dayanıklılık sistemine neden olan ajanlara özelleşmiştir. Son zamanlarda SAR üzerinde yapılan araştırmalarda bu sistemi çalıştıran bazı patojen olmayan mikro organizmalar bulunmuştur. Bunlar içerisinde kök rizosferinde yaşayan mikro organizmaların SAR'ı uyararak hem kök hem de yaprak hastalıklarını azalttığı görülmüştür. SAR sisteminde canlı organizmaların yanı sıra salisilik asit gibi bazı bileşiklerin bu aktiviteye yol açtıkları bilinmektedir (Çizelge 2).

Bitkilerde dayanıklılığın uyarılmasında diğer bir yol da Sistemik dayanıklılığın uyarılması (ISR) dir. Bu sistemde patojen olmayan organizmaların bitkide dayanıklığa yol açtıkları bilinmektedir. Bu şekildeki bir dayanıklılık, toprakta yaşayan PGPR bakterileri (bitki gelişimini uyaran) ile olmaktadır (Şekil 8). Topraktaki bu bakteriler bitki gelişimi üzerinde olumlu etkiler yaparken, toprakta yaşayan patojenlere karşı da engelleyici etkilerde bulunmaktadırlar. Yapılan pek çok çalışmada bu bakteri gruplarının kök sisteminde oluşturdukları bu dayanıklılığın bitkinin yaprak hastalıkları veya sistemik hastalıklarında da etkili olabildiklerini göstermiştir.



Şekil 9. toprakta bitki gelişimini uyaran PGPR bakterileri, bitki, patojen ve toprak arasındaki ilişkiler (D.Haas,G.Defago,2005.Nature Reviews Microbiology'den alınmıştır)

Çizelge 2. Bakteriyel kaynaklı bazı maddeler ile konukçu dayanıklılığının uyarılması

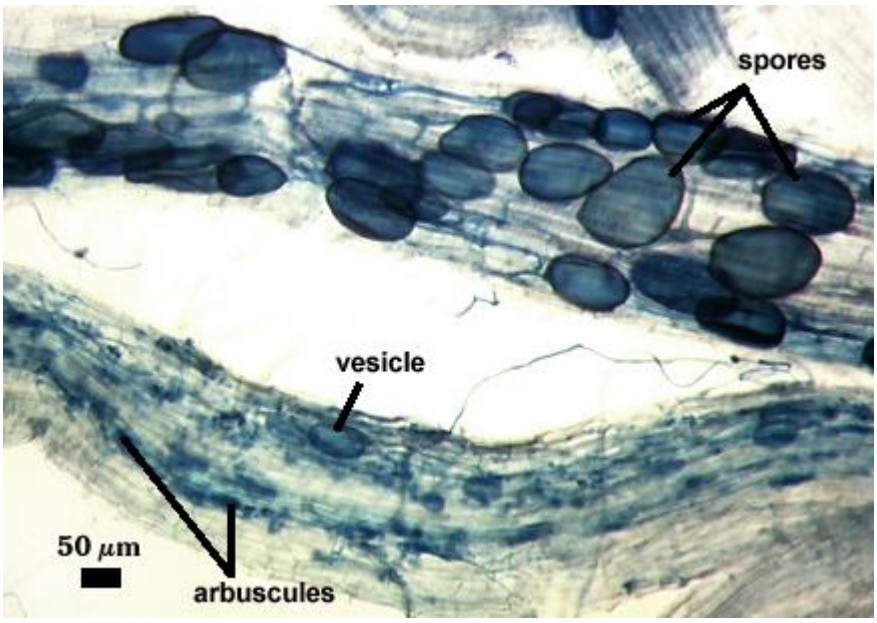
Bacterial strain	Plant species	Bacterial determinant	Type	Reference
Bacillus mycoides strain Bac J	Sugar beet	Peroxidase, chitinase and β-1,3-glucanase	ISR	Bargabus et al. (2002)
Bacillus pumilus 203-6	Sugar beet	Peroxidase, chitinase and β-1,3-glucanase	ISR	Bargabus et al. (2004)
Bacillus subtilis GB03 and IN937a	*Arabidopsis*	2,3-butanediol	ISR	Ryu et al. (2004)
Pseudomonas fluorescens strains				
CHA0	Tobacco	Siderophore	SAR	Maurhofer et al. (1994)
	Arabidopsis	Antibiotics (DAPG)	ISR	Iavicoli et al. (2003)
WCS374	Radish	Lipopolysaccharide	ISR	Leeman et al. (1995)
		Siderophore		Leeman et al. (1995)
		Iron regulated factor		Leeman et al. (1995)
WCS417	Carnation	Lipopolysaccharide	ISR	Van Peer and Schipper (1992)
	Radish	Lipopolysaccharide	ISR	Leeman et al. (1995)
		Iron regulated factor		Leeman et al. (1995)
	Arabidopsis	Lipopolysaccharide	ISR	Van Wees et al. (1997)
	Tomato	Lipopolysaccharide	ISR	Duijff et al. (1997)
Pseudomonas putida strains	*Arabidopsis*	Lipopolysaccharide	ISR	Meziane et al. (2005)
WCS 358	*Arabidopsis*	Lipopolysaccharide	ISR	Meziane et al. (2005)
		Siderophore	ISR	Meziane et al. (2005)
BTP1	Bean	Z,3-hexenal	ISR	Ongena et al. (2004)
Serratia marcescens 90-166	Cucumber	Siderophore	ISR	Press et al. (2001)

3.2.2. Mikorizalar

Bitkilerin pek çoğunda köklerde simbiyotik olarak yaşayan bazı fungusların bulunduğu ve karşılıklı yarar ilişkisine dayalı bir düzen olduğu bilinmektedir. Bitki köklerinde yaşayan bu fungal organizmalar, genellikle hücre içinde yaşayan yani endomikoriza veya hücre dışında yaşayan ektomikorizalardır. Mikorizal funguslar besin maddesini bitkiden sağlarken, bitkiye hem topraktaki fosfor ve diğer mikro elementleri, hem de su alınımını arttırarak yarar sağlarlar. Bitki bu funguslara besin sağlarken aynı zamanda gelişimi ve verimliliği bakımından mikorizalardan yararlanır.

Vesicüler arbüsküler mikorizalar (VAM), arbuscül veya vezikül denen yapıya sahiptir ve kökün korteks kısmında bulunur. Veziküller misellerden oluşan şişkinliklerdir. Bu yapılar hücre içinde veya dışında bulunurlar ve yaşlı köklerde kalın bir duvar yapısı oluştururlar. VAM fungusları köke yapılan patojen saldırılarını önler ve konukçudaki savunma sistemini harekete geçirir. Örneğin domates köklerindeki *Pseudomonas syringa*e'ye karşı VAM

fungusları engelleyicilik gösterebilir. Bu korumada üç ana nokta dikkat çekmektedir. Fiziksel koruma, Kimyasal koruma ve dolaylı yapılan etkilerdir.



Şekil 10.Köklerde yerleşen VAM (veziküler arbüsküler mikoriza)
(invam.caf.wvu.edu/.../intraradices/intrarad.htm)

Bu ilişkinin biyolojik savaşta önemi de buradan gelmektedir. Köklerde yaşayan bu funguslar bitkinin rizosfer bölgesinde zararlı olan patojen organizmalara karşı bitkiyi korumaktadır. Örneğin çam köklerinde yaşayan mikorizalar fidanlarda çökerten etmeni *Phytophthora*'ya karşı; pamukta *Verticillium* 'a karşı bitkileri korumaktadır. Mikorizaların bitki köklerinde neden olduğu koruyuculuk mekanizması konusunda henüz bazı bilinmeyenler vardır.
Mikorizal fungusların ticari olarak üretildikleri ve bitkilere yapılan uygulamaları ile olumlu sonuçlar alındığı da bilinmektedir. Ancak kitle olarak üretimlerinde bazı zorlukları bulunmaktadır.

4.Konukçu-patojen etkileşimlerinde biyolojik savaşım çalışmaları örnekleri

4.1.Rizosfer kaynaklı hastalıklarla biyolojik savaşım

Toprak kaynaklı hastalıklar arasında başta solgunluk hastalıkları, kök çürüklükleri ve çökerten hastalıkları gelmektedir. Bunlar arasında çok geniş konukçu türlerinde görülen *Macrophomina* hem çökerten etmeni olarak hem de kuru kök çürüklüklerine neden

olmaktadır. *Phytophthora spp,* meyve ve sebze köklerinde çürüklükler yapmaktadır. *Sclerotium* hastalıkları kök tacında, köklerde ve çökerten etmeni olarak zararlıdır.

Solgunluk hastalıklarından *Fusarium* ve *Verticillium* çok önemli verim kayıplarına yol açabilen hastalıklardır. Yine birçok bitki türünde çökertene neden olan *Pythium* şiddetli hastalıklara neden olmaktadır.

Bu hastalıklarla biyolojik yolla yapılan çalışmaları bazı patojen-konukçu türlerine göre anlatılacaktır.

4.1.1. Kök çürüklükleri, çökerten ve solgunluk hastalıkları ile biyolojik savaşımında bakteriyel antagonistlerin kullanımı

***Pseudomonas*:**

Bu hastalıkları yapan fungal etmenler içerisinde *Phytophthora, Sclerotium, Pythium* gibi çürüklükler, *Fusarium* ve *Verticillium* gibi solgunluk etmenleri; *Agrobacterium* ve *Ralstonia solanacearum* gibi bakteriyel solgunluklar gelmektedir. Toprakta yerleşen bu patojenleri kimyasal yöntemlerle önlemek çok zor olduğu için biyolojik savaşım çalışmaları bu hastalıklarda yoğunlaşmıştır.

Çökerten etmenleri ve bazı solgunluklar üzerinde yapılan çalışmalarda Rhizosfer bölgesinde bulunan PGPR bakterilerinden *Pseudomonas fluorescens* ve *P.putida*'nın bu hastalıklar üzerinde baskılayıcı oldukları ortaya konmuştur. Bilindiği gibi; Fluorescent Pseudomonaslar bitki rhizosferinde yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardandır. Öncelikle genç köklerde kolonize olurlar. Toprak kaynaklı hastalıklara karşı tohum ve köklerde yaptıkları koruyuculuk ile ilk kez dikkati çekmişlerdir. Patateslerde PGPR bakterilerinden *Pseudomonas fluorescens* ve *P.putida* nın verimi %70 oranında arttığı görülmüştür (Geels ve Schippers,1983). Bitkide değişik etki mekanizmaları ile hastalık ve bitki gelişimi üzerinde yaptıkları olumlu etkileri nedeniyle bu grup bakterilerin çok ilgi çektiği söylenebilir. Yapılan çok sayıda araştırmadaki biyolojik savaşımdaki etkileri araştırılmıştır. Çizelgede Pseudomonas türlerinin kullanıldığı bazı fungal kök hastalıkları ve bazı solgunluk etmenleri ve etki mekanizmalarında yer alan bazı siderofor ve antibiyotik maddelerin neler olduğu görülmektedir

Çizelge 3 . Biyokontrol örnekleri

Mechanism	Antagonistic *Pseudomonas*	Disease (pathogen)	Host plant	References
Competition:				
	Pseudomonas putida	Damping-off (*Pythium ultimum*)	Pea, Soybean	Paultiz, 1991
	Pseudomonas spp.	Fusarium wilt (*Fusairum solani*)	Cucumber	Elad and Baker, 1985
	Pseudomonas spp.	Fusarium wilt (*F. oxysporum* f.sp. *cumuerinum*)	Cucumber	Sneh *et al.*, 1984
	Pseudomonas spp.	Damping-off (*P. aphanidermatum*)	Cucumber	Elad and Chet, 1987
	Pseudomonas spp.	Damping-off (*P. ultimum*)	Chickpea	Kaiser *et al.*, 1989
Siderophores:				
a) Pyoverdin	*P. putida*	Fusarium wilt (*F. oxysporum*)	Radish	Scher and Baker, 1982
	P. putida	Fusarium wilt (*F. oxysporum*)	Cucumber	Park *et al.*, 1988
	P. aeruginosa	Damping-off (*P. splendens*)	Tomato	Buysens *et al.*, 1996
b) Pyochelin	*P.aeruginosa*	Damping-off (*P. splendens*)	Tomato	Buysens *et al.*, 1996
Antibiotics:				
a) Pyoluteorin	*P. fluorescens*	Damping-off (*P. ultimum*)	Cucumber	Maurhofer *et al.*, 1992; Girlands *et al.*, 2001
b) Pyrrolnitrin:				
	P.chlororaphis I-112	Red core disease *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*	Straw-berry	Gulati *et al.*, 1999
c) Oomycin A	*P. fluorescens*	Damping-off (*P. ultimum*)		Gutterson *et al.*, 1988; Howie and Suslow, 1991.
	P. cepacia (*Burkholderia cepacia*)	Gray mold (*Botrytis cinerea*); Blue mold (*Penicillium expansum*)	Apples and Pears	Janisiewicz *et al.*, 1991.
d) 2,4- Diacetyl-Phloroglucinol	*P. fluorescens*	Soft rot (*Erwinia carotovorai*)	Potato	Cronin *et al.*, 1997
	P.fluorescens CHAO	Damping-off (*Pythium* spp.)	Cucumber	Girlands *et al.*, 2001
	P. fluorescens 113	Damping-off (*P. ultimum*)	Pea	Landa *et al.*, 2002; Naseby *et al.*, 2001
e) Phenazine-1-carboxylic acid	*P. aeruginosa*	Damping-off (*P. splendens*)	Bean	Anjaiah *et al.*, 1998
	P. aeruginosa	Fusarium wilt (*F. oxysporum* f. sp. *ciceris*)	Chickpea	Anjaiah *et al.*, 1998, 2003
f) Phenazine-1-carboxamide	*P.chlororaphis* PCL1391	Foot and root rot (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*)	Tomato	Chin-A-Woeng *et al.*, 2000, 2001
g) Pyocyanin	*P. aeruginosa*	Leaf infection *Botrytis cinerea*	Bean	Anjaiah *et al.*,1997
Induced resistance:				
	Pseudomonas spp.	Anthracnose (*Colletotrichum orbiculare*)	Cucumber	Wei *et al.* 1991
	P. fluorescens	Halo blight *P. syringae*	Bean	Alström, 1991
	P. aeruginosa	Leaf infection (*Botrytis cinerea*)	Bean	De Meyer and Höfte, 1997
	P. fluorescens	Pythium root rot	Cucumber	Ongena *et al.*,1999
	P. fluorescens	Fusarium wilt	Radish	Leeman, *et al.*, 1995 a, b
	P. fluorescens WCS417r	Fusarium wilt	Tomato	Duijff *et al.*, 1998
	P. fluorescens WCS365	Foot and root rot (*F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*)	Tomato	Dekkers *et al.*, 2000

Biyolojik savaşımda etkileri ortaya konan bu bakterilerin mekanizmaları konusunda pek çok araştırma yapılmıştır. Etki biçimi ile ilgili olarak bu bakterilerin metabolitleri ile doğrudan etki yaptıkları bazılarının ise yarışmaya dayalı olarak baskılamayı sağladıkları görülmüştür. Aynı zamanda bazı patojen gruplarına karşı dayanıklılığın uyarılması yoluyla bitkide savunma mekanizması geliştirdikleri görülmüştür.

Hastalıkların baskılanmasında besin maddeleri üzerindeki yarışma oldukça önemlidir. Bu besin maddeleri karbon, azot gibi temel elementler yanı sıra demir için de olmaktadır. Demir bazı mikroorganizmalar için çok önemlidir. Dış ortamda alınamaz formdaki demiri alabilmek için bu organizmalar yüksek afiniteye sahip demiri şelatlayan bileşikler olan sidereforları salgılarlar. Bu maddeler demir iyonlarını hücreye taşırlar. Pseudomonas bakterileri Pyoverdine veya pseudobactin adlı sideroforları üretirler. Pyoverdinler topraktaki demiri alarak çevrelerindeki zararlı pek çok organizmaya şiddetli bir demir kısıtlaması yaparlar. Demirce fakir bir ortamda fungal sporlar çimlenemez. Bu bakterilerin biyolojik savaştaki önemi ve etkileri ilk kez 1980 yılında ortaya konmuştur (Kloepper ve ark.,1980).

Siderofor etki, *Fusarium oxysporum f.sp., G.graminis var tritici, F.oxysporum f.sp.dianthi* ve *Pythium spp.* patojenleri üzerinde ortaya konmuştur.

Pyoverdin sideroforunun bazı hastalıklar üzerinde etkili oldukları ancak baskılayıcılıkta demir rekabetinin tek mekanizma olmadığı da ortaya konmuştur (Lemanceau ve Alabouvette,1993). Fluorescens karakterdeki bu bakterilerin bu sideroforlarına ek olarak pyochelin ve salisilik asit gibi başka maddeler de ürettiği bilinmektedir. Özellikle bu maddesi üreten *P.aeruginosa* 7NSK bakteriyel antagonistin su kültüründe çökerten hastalığına yol açan *Pythium splendens* çökertenine karşı etkili olarak oluşturduğu salisilik asit ile bitkide dayanıklılığın sistemik kazandırılması yoluyla bir etki yaptığı da çalışmalarda gösterilmiştir (De Meyer ve Höfte,1997).

Fluorescent Pseudomonas'lar yine ürettikleri bazı antibiyotik maddeler ile biyolojik savaşımda etkili olabilmektedirler. Pseudomonas genusu bu bakterilerin çökerten etmeni *Rhizoctonia solani* ve *Pythium'*a ye karşı ürettiği pyrolnitrin ile etkili olduğu,ayrıca, P.fluorescens CHAO'nun 2,4 diasetilfloroglusinol ve pyoluteorin ile hıyar çökerten etmenleri *P.ultimum,T.basicola* ve *G.graminis*'e etkileri araştırmalarla ortaya konmuştur(Anjaiah,2004).

Bakteriyel solgunluk (*Ralstonia solanacearum*) hastalığına karşı yine bazı antagonistik bakterilerin etkileri üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Genel olarak bilindiği üzere bu hastalıklarla savaşımda konukçu dayanıklılığı en etkili yoldur. Ancak dayanıklı çeşit ıslahı, tütün gibi bazı ürünlerde daha etkili olurken patlıcangillerde iklim ve çevresel koşulların etkisi ile başarı yüksek olamamaktadır.

R.solanacearum üzerinde antagonistik etki gösteren bazı bakterilerin özellikle dayanıklı topraklar ve kök rizosferlerinden izole edildiği bildirilmiştir (Smith ve Saddler, 2001).Bu bakteriler Çizelgede verilmiştir.

Çizelge 4. Bakteriyel solgunluğa karşı etki gösteren bazı saprofitik bakteriler

Bakteriler	Konukçu	Kaynak
Pseudomonas aeriginosa ATCC7700	Domates	Furuya et al.,1997
Pseudomonas fluorescens PfG32	Domates	Mulya et al.,1996
Burkholderia glumae	Domates	Furuya et al., Wakimoto et al.,1987
Bacillus spp.	Domates	Da Silveira et al., 1995
Bacillus subtilis NB22	Domates	Phae et al., 1992
Streptomyces mutabilis	Domates	El Shanshoury et al.,1996
Bacillus polymyxa FU6	Domates	Aspiras ve de la Cruz,1985
Pseudomonas fluorescens W163	Patates	Kepme ve Sequeira,1983
Pseudomonas fluorescens BC8	Patates	Ciampi et al., 1997
P.fluorescens,B.subtilis,Actinomycetes	Patates	Shekhawat et al.,1993
P.fluorescens B33,B36 ve *Bacillus spp.*	muz,patlıcan,domates	Anaratha,1990
Bacillus spp.	Tütün	Liu et al.,1999

Patateslere bakteriyel antagonistlerin uygulanması ile solgunluk önemli ölçüde engellenmiştir. Antagonistik *P.fluorescens* tohum kaplama olarak uygulandığında toprak içerisine çok iyi uyum sağlamıştır.

Bakteriyel patojenlerle yapılan çalışmalardan bazısı ise; savaşım yapılacak organizma ile yakın türler veya vahşi tip patojenler ile olmaktadır. Bunlara örnek olarak; Ralstonia verilebilir.

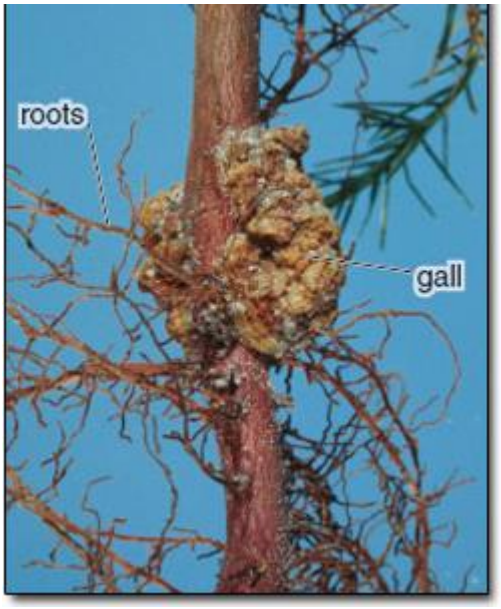
Ralstonia solanacearum :

Bazı avirulet spontane Ralstonia mutantlarının konukçu üzerinde kolonize oldukları bir zamandır bilinmekteydi. Yapılan çalışmalarda bu streynlerin bakteriosin üreterek tütün, domates ve patateste hastalık üzerinde etkileri ortaya çıkarılmıştır. Genel olarak bakteriosin içermeyen mutantlarda hastalık baskılanması daha az olmaktadır. Hastalığın bu avirulent streynler tarafından baskılanması da sınırlı bir sürededer. Zayıf virulent mutantların virulent

olmayanlara göre dayanıklılığı uyararak bakteriyel solgunluğu engellediği görülmüştür. Zayıf virulense sahip bakteriler bitki iletim sistemine yerleşerek burada dayanıklılığı uyarmaktadır.
Bu bakteriler deneysel koşullarda etkili olmakla birlikte doğa koşullarında etkilerini henüz kanıtlayacak kadar geliştirilememişlerdir.
Bakteriyel solgunluk ile yapılan deneysel bir çalışmada; Üç haftalık patates bitkileri biyokontrol bakterisi 10^8 CFU /ml yoğunluğunda toprağa emdirilerek uygulanmış. Üç gün sonra patojen bitkilere inokule edilmiş. Kontroldaki tüm bitkiler 25 günde solmuş. Avirulent bakterilerin uygulandığı patates bitkilerinin ise sadece %10'unda solgunluk görülmüştür (Smith ve Saddler,2001).

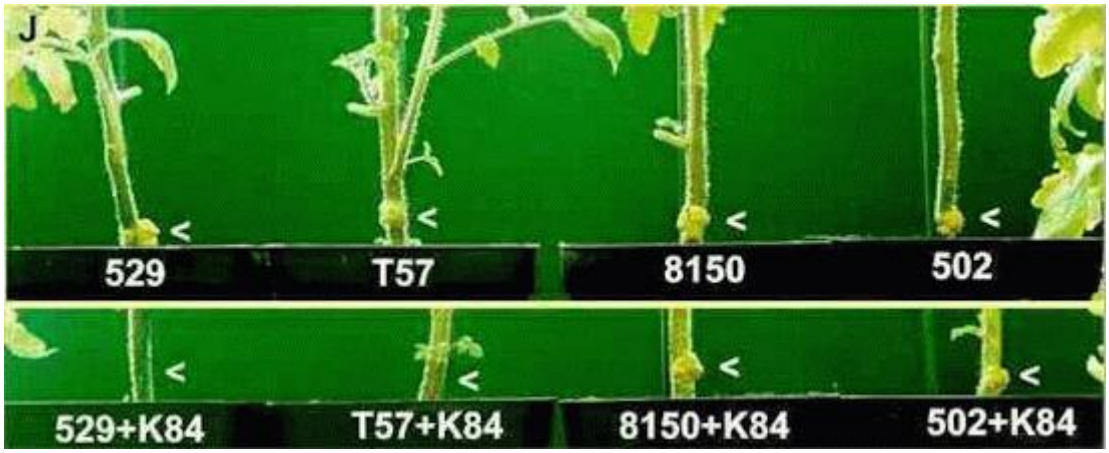
***Agrobacterium radiobacter*:**

Bitki patojenleri içerisinde Agrobacterium 640 bitki türünün 331 genusu ve 93 familyasına bağlı dikotiledon ve gymnosperm bitkilerde ur yapmaktadır.
Ur oluşumda plazmidde taşınan Ti-plazmid sorumludur. Ti plazmidde bulunan genler
T-DNA, virulens(vir) ve opine genleridir. Bakteri bitkilere yaralardan girer, bitki nukleusu içerisine T-DNA bileşenlerinin transferi için vir genleri aktif hale gelir. T-DNA tumor oluşumundaki oksin ve kinin sentezini uyaran genleri içermektedir.
Ur oluşturan bakteri bitkiye girdikten sonra bitkinin toprağa girdiği kök tacında kontrol edilemeyen bir gelişme görülür.



Şekil 11. Kök urunun gelişimi

Agrobacterium tumefaciens ile yakından ilgili olan ancak patojendeki Ti-plazmidin bulunmadığı ve tümör oluşturmayan *A.radiobacter* K84 streyni bu patojenin en güçlü antagonisti olarak bulunmaktadır. A.radiobacter K-84 kökler üzerindeki yaralarda kolonize olmakta, kök bölgesinde patojen bulunsa dahi patojenin yerleşmesini ve ur oluşumu engelleyebilmektedir. Bu antagonistik bakteri bir antibiyotik olan Agrosin 84'ü üretmektedir. Bu madde ilk kez 1973 yılında ticari preparat olarak geliştirilmiştir.



(www.biology.ed.ac.uk/.../microbes/crown.htm)

Şekil 12. *A.radiobacter* ve *A.tumefaciens* arasındaki etkileşim

A.radiobacter saksıda yetiştirilen domates bitkilerinde denenmiştir (Şekil 15). Üst sıradaki bitkiler farklı patojenik Agrobacteriumlar ile inokule edilmiştir ve 3 hafta sonra urlar gelişmeye başlamıştır. Alt sırada ise; bitkilere patojen ve antagonistin 1/1 oranında karışımları uygulanmıştır. Bunlardan iki patojenik syreyn 529 ve T57 nopalin oluşumunu kodlayan Ti-plazmidi içermektedir. Bu patojenler K84 tarafından kontrol edilmektedir. Ancak, opinin kodlayan Ti-plazmidi içeren 8150 ve 502 nolu streynler K84 tarafından etkilenmemektedir. Bakteriler arasındaki etkileşimde antibiyotik olan bakterisin konjugasyon ile diğer bakteriye geçmektedir.

K84 daha çok taş çekirdekli meyve ağaçlarında başarı ile uygulanmaktadır. Oysa asma,elma gibi yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarında çok etkili sonuçlar vermemektedir.Son zamanlarda etkililiğin kırıldığı ile ilgili bilgiler vardır. Bu da k 84 de agrosin oluşturan bazı genetik materyali patojene transferi nedeniyle olduğu görülmüştür.

Daha sonra bulunan K1026 streyninin ticari olarak üretildiği ve gül, şeftali ve eriklerde etkili olduğu bildirilmektedir (Hajek, 2004).

4.1.1.2. Kök çürüklükleri, çökerten ve solgunluk hastalıkları ile biyolojik savaşımında fungal antagonistler

Patojen olmayan Fusarium'lar:

Patojenik özellik taşımayan bazı syreynlerin, köklerde kolonize olarak patojenlere karşı koruyucu etkiler yaptığı bilinmektedir. Patojen olmayan veya avirulent olarak isimlendirilen bu genustaki fungal organizmaların *Pythium spp., Fusarium spp., Rhizoctonia spp*., gibi patojenlere olan etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır.Bunlardan bazı örnekler verilecek olursa;

Yapılan araştırmalarda, kavun solgunluğu *Fusarium oxysporum f.sp.melonis*'in neden olduğu solgunluk hastalığına karşı bir baskılayıcılık geliştiği ve bunun da antagonistik özellikte olan patojen olmayan Fusariumlardan ileri geldiği görülmüştür.

Fusarium kaynaklı hastalıklara karşı patojen olmayan Fusarium fungusları ile pek çok çalışma yapılmıştır. Bunlar Çizelge 4'de görülmektedir.

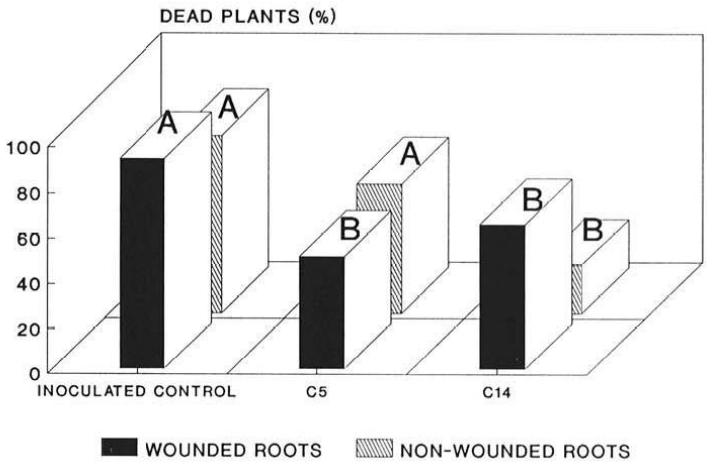
Çizelge 5. patojen olmayan Fusariumlar ile yapılan çalışmalar (Sneh,1998)

konukçu	solgunluklar	kaynak
hıyar	*Fusarium oxysporum f.sp.cucumerinum*	Mandel ve Baker,1991
kavun	*Fusarium oxysporum f.sp.melonis*	Louvet et al., 1976, Alabouvette,1984,Sneh et al,1987
karpuz	*Fusarium oxysporum f.sp.niveum*	Biles ve Martyn,1989,Larkin et al.,1993 ve 1996
karanfil	*Fusarium oxysporum f.sp.dianthi*	Baker et al.,1978, Kron et al.,1991
nohut	*Fusarium oxysporum f.sp.ciceri*	Hervas et al., 1995
Tatlı patates	*Fusarium oxysporum f.sp.batatas*	Ogawa ve Komada,1984
domates	*Fusarium oxysporum f.sp.lycopesici* *Fusarium oxysporum f.sp.radicis lycopersici*	Fuchs et al.,1997 Louter ve Edginton,1990,Benhamou et al.,1994
kereviz	*Fusarium oxysporum f.sp.apii*	Schneider,1984
keten	*Fusarium oxysporum f.sp.lini*	Eparvier et al.,1991

Patojen olmayan Fusarium'lar hastalık etmeni solgunluk etmenlerine karşı bitki köklerinde yoğun bir rekabetle etkili olmaktadırlar. Bazı patojen olmayan syreynler patojen olanların kolonizasyonu üzerinde baskı yaparken bazıları ise patojenin metabolik aktivitesi üzerinde etkisiz kalmaktadır. Bu da etki mekanizmasında farklı interaksiyonlar bulunduğunu

göstermektedir. Biyolojik baskılanmada dayanıklılığın uyarılmasının önemli mekanizmalardan olduğu da ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalardan örnek vermek gerekirse;

Patojenik olmayan 2 syreynlerden C14 ve C5 hıyar solgunluğuna karşı etki bakımından karşılaştırılmış. Bunlardan C14'ün kökler sağlıklı olduğunda, C5'in ise kolonizasyon öncesinde yaralandığında etkili oldukları görülmüştür. Bu nedenle C14ün daha yarışmacı olduğu, köklere kolayca yerleştiği ve koruyuculuğunun fazla olduğu görülmüştür.



Şekil 13. Patojen olmayan syreynlerin yaralanmış veya sağlıklı köklerdeki kolonizasyonları (Mandeel ve Baker,1991)

Patojen olmayan Fusarium'lar bazı çalışmalarda fluorescent Pseudomonas'lar ile birlikte kullanılmışlardır. Araştırmalarda daha önce de açıklandığı gibi bakteriler, demir için rekabet etmektedirler. Demiri alamayan patojen karbon kaynağı için rekabet ettiği patojenik olmayan Fusariumlara karşı koyamamakta ve rekabet gücünü kaybetmektedir.

Patojenik özellik göstermeyen bu funguslar formüle edilmişlerdir. Sebze ile süs bitkilerinin fidelerinde görülen solgunluklara karşı özellikle topraksız kültürlerinde daha başarılı sonuçlar alınabilmektedir.

Trichoderma:

Trichoderma, ilk kez 1932 yılında Weindling tarafından *Rhizoctonia solani*'yi parazitleyen fungus olarak izole edilmiştir. Bu fungusun *R.solani,Pythium,Phtophthora,Rhizopus,Pythium* gibi toprak patojenleri üzerinde etkili oldukları bulunmuştur.

Trichoderma, biyolojik savaş çalışmalarında çok iyi bir model oluşturmaktadır. Genel özelliklerine bakılacak olursa;

a)doğada çok miktarda bulunması b) kolayca izole edilebilmesi ve kültürünün yapılabilmesi c) pek çok ortamda kolayca gelişebilmesi d) çok sayıda patojeni etkileyebilmesi e) çoğunlukla mikoparazitik etki göstermesi f) antibiyotik de üretebilmesi g) genel olarak bir fungus paraziti olarak bilinse de bazı bakterilere karşı da etkili olması.

Bu antagonistik fungusun, son 50 yılda 3000'in üzerinde bilimsel araştırma ile biyokontrol potansiyeli incelenmiştir. Fungus, dünyanın her tarafında geniş şekilde yayılmış, hemen hemen tüm toprak ve habitatlarda ve özellikle de organik madde içeren alanlarda bulunmaktadır.

Şekil 14. *Trichoderma viride'*nin konidiofor ve sporları ile petri kabındaki görünüşü (Baker ve Cook,1983; www.nysaes.cornell.edu/.../trichoderma.html)

Çeşitli araştırmalardaki bulgulara göre; antagonizmada mikoparazitizm temel mekanizmalardan biri olmaktadır. Bu etkileşimde antagonist patojene doğru kemotrofik olarak büyümekte, konukçu mikoparazit tarafından tanınmakta, daha sonra ise ekstrasellüler enzimlerin salgılanmasıyla konukçuda lysis gerçekleşmektedir.

Trichoderma, konukçusu funguslarda miseliyel temas kurmaktadır. Bu temas sırasında konukçu hifine dolanarak konukçusuna yapışmakta vaya kanca tipi oluşumlarla saldırmaktadır. Trichoderma kısa dalların uçlarında appresorium oluşturmakta ve bunu takiben mikoparazit, bazen konukçusunun hücre çeperini parçalayarak penetrasyon yapmaktadır.

T.harzianum, patojen miselinin bazı kısımlarındaki hücre çeperini önce eritmekte, bunu hifsel penetrasyon izlemektedir. Daha sonra ekstrasellüler enzimlerden örneğin lipaz ve proteazı kullanmakta, saldırıya uğrayan duyarlı konukçu hifi hızlı bir vakuolasyon göstererek parçalanmaktadır.

Antagonistin SEM resimlerinde konukçusu *R.solani* hifini eriterek içeriye girdiği görülmektedir. Bu tür bir parazitlik Şekil 12'de görülmektedir.

Şekil 15. *R.solani* hifinde Trichoderma'nın neden olduğu mikoparazitlik
(www.nysaes.cornell.edu/.../trichoderma.html)

Trichoderma fungusu, çeşitli fungusların rizomorf, sklerot ve üreme birimlerine de saldırmaktadır. Mikoparazit, sklerotun hücre çeperini parçalamakta ve saldırıya uğrayan hücreler sitoplazmik içeriklerini kaybetmektedir. Antagonist sklerotun bu içeriğini kullanmakta ve böylece yüzeyinde sporlanmaktadır. Trichoderma türleri toksik bazı metabolitler de üretmektedirler. *T.viride* tarafından yüksek fungsitatik etkiye sahip böyle bir metabolit viridin olarak tanılanmıştır. Yine yapısal olarak en karmaşık maddelerden birisi de Trichodermin'dir. Bu antibiyotik, konsantre katı protein-karbonhidat ortamında veya sıvı ortamda *T.lignorum* tarafından üretilmektedir. Trichoderma, çeşitli toksik metabolit ve antibiyotikler için yalnızca iyi bir kaynak olarak değil, aynı zamanda ekso ve endoglukonaz, sellobiyaz ve kitinaz gibi çeşitli enzimlere sahiptir.

Trichoderma, toprak, fide ve tohuma uygulanabilmektedir. Bunun ile örneklere geçilirse, toprağa yapılan uygulamalarda *Pythium aphanidermatum*, bezelye, hıyar, domates, biberde

R.solani ve *S.rolfsii'*ye karşı etkili bir koruma sağlanmaktadır. Şekil 14'de *R.solani'*ye karşı toprağa uygulanan Trichoderma'nın fide gelişimlerine olan etkileri açıkça görülmektedir.

Domates ve hıyarda *R.solani'*nin neden olduğu meyve çürüklükleri hasattan iki hafta önce %25 oranında azalma göstermiştir. Trichoderma tohuma da uygulanmaktadır. Bezelye ve hıyar tohumlarında *T.hamatum* konidi süspansiyonu ile kaplandığında hastalık şiddeti %67-88 oranında azaltılmıştır. Kavunlardaki solgunluk hastalıkları üzerinde de önemli etkiler görülmüştür.

Trichoderma enfeksiyonlara karşı önleyici olarak da kullanılmaktadır. Ağaçlardaki budama veya bitki üzerindeki yaralara karşı kullanılmaktadır. Özellikle ticari olarak üretilen bu antagonistin odun çürüklüğü yapan bazı hastalıklara karşı kullanımı vardır(Wells,1988).

Şekil 16. *Rhizoctonia solani* ve Trichoderma etkileşimi (www.soilsense.net/trials.php)
(üst sıradaki topraklara Trichoderma verilmiş, alt sıradaki topraklara ise verilmemiştir)

4.1.3.Sklerotlu funguslarla biyolojik savaşım

Sporidesmium sclerotivorum

Nekrotrofik bitki patojenleri, konukçusu olduğu dokuları hızla öldürmekte ve bu ölü dokular topraktaki saprofitik yaşam döngüsü içerisinde bulunan hiperparazitler tarafından saldırıya uğramaktadır. Bu ilişki aşağıdaki şekilde görüldüğü gibi ifade edilebilir (Şekil 17).

Genel olarak bakıldığında bitki ve parazitik funguslar arasında dorudan bir temas yoktur. Örneğin, birçok bitkiyi hızla öldüren ve sklerot oluşturan bir fungus olan Sclerotinia 'da bu görülmektedir. Patojenin oluşturduğu sklerotlar *Coniothyrium minitans* ve *Sporidesmium sclerotivorum* gibi hiperparazitler tarafından saldırıya uğramaktadır.

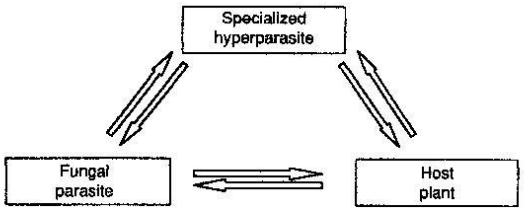


Fig. 12.1. Interactions between host plants, fungal parasites and their specialized hyperparasites.

Şekil 17.Patojen,hiperparazit ve bitki etkileşimi

Sklerotlu bitki patojenlerine karşı yapılan çalışmalarda saptanan antagonistik funguslardan birisi *Sporodesmium sclerotivorum*‘dur.

Bu antagonist ilk kez Maryland’de Sclerotina’nın görülmediği yerlerde saptanmıştır. Sporodesimium çok yavaş gelişen bir biyotrofik fungustur ve sadece sklerotlar saldırmaktadır. Hektara 0.2 kg gibi az bir oranda bile verildiğinde marulda *Sclerotinia minor’* oldukça iyi bir şekilde kontrol ettiği görülmüştür.

Sporodesmium hyphomycetes üyesi ve iyi bir mikoparazittir. Makrokonidi, mikrokonidi ve mikrosklerot üretmektedir. Bazı patojen türlerinin (Botrytis, Sclerotinia, Sclerotium cepivorum) oluşturduğu sklerotları parazitlemekte ancak Macrophomina ve Sclerotium rolfsii’ye karşı etki gösterememektedir. Sclerotinia türlerinde hiperparazit olan başka türler de bulunmaktadır (*Coniotyrium minitans,Taloromyces flavus* gibi)

Antagonistin patojen sklerotların bulduğunda makrokonidiler çimlenmekte ve oluşan haustoryum ile sklerottaki besin maddeleri kullanılmaktadır. Daha sonra sklerotun üst yüzeyinde sporulasyona geçmektedir.

Bu antagonistik fungusun gösterdiği obligat karakter hemen avantaj hem de dezantaj olmaktadır. Avantajı sadece sklerotlar üzerinde çoğalabilmesi, dezavantajı ise obligat olduğu için ticari olarak üretimde sorun yaşanmasıdır.

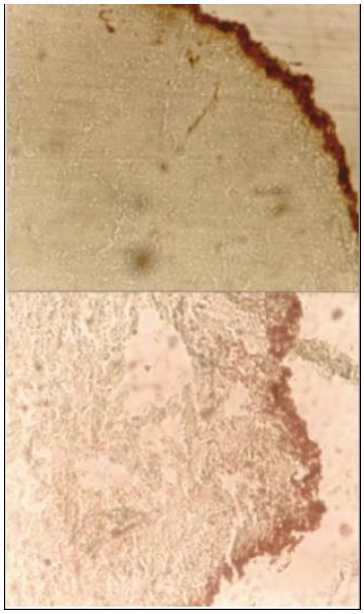
Coniothyrium minitans:

C.minitans hiperparazit olarak Sclerotinia sklerotları üzerinde saptanmıştır. Sklerotlar üzerindeki parazitik etkinin; *S.sclerotiorum* yanı sıra, *Botrytis cinerea, Sclerotium cepivorum* ve *Claviceps purpurea* üzerinde olduğu görülmektedir. Bu parazit fungus için geliştirilen hipotezlerde fungusun bitki üzerinde saprofit olarak geliştiği, daha sonra Sclerotinia miselini enfekte ettiği ve son olarak da oluşan sklerotlara saldırdığı öngörülmüştür (Şekil 18).

Değişik araştırıcılar tarafından yapılan çalışmalarda; *C.minitans*’ın piknitlerinin uygulandığı Sclerotinia sklerotlarının % 65’inin öldüğü; yine 3 yıl devam eden bir tarla denemesinde

S.sclerotiorum ile enfekteli ayçiçeği tarlasında antagonistik fungusun tohuma uygulanması ile hastalık şiddetini ve verim kayıplarını azalttığı ortaya konmuştur.

Yine yapılan bir başka çalışmada marullarda Sclerotinia'ya karşı patojenin oluşturduğu sklerotların yoğunluğunu azalttığı görülmüştür. Toprakta 39 hafta boyunca 10^4-10^5 CFU/g yoğunlukta kalabildiği ve sklerotlara saldırabildiği saptanmıştır.



Şekil 18. *Sclerotinia sclerotiorum* sklerotunun üstte sağlam altta ise *Coniothyrium minitans* tarafından parazitlenmiş hali (El-Sayed M. Embaby, 2006)

4.2. Filosfer kaynaklı hastalıklarla biyolojik savaşım

Bitkinin toprak üstünde bulunan yaprak, sap, çiçek ve meyvelerin yüzeysel ve içi kısımlarının tümüne filosfer denmektedir.Bu bölge çok sayıda mikroorganizma tarafından habitat olarak kullanılmaktadır.Bitki filosferinde epifitik olarak yaşayan mikroorganizmalar yaprak gözlerinden başlayarak, yaşlanıp dökülünceye kadar bu alan üzerinde bulunurlar. Bu yüzeyde bakteriler ilk kolonize olan canlılardır, bunları maya ve diğer funguslar izler.

Bakterilerin filosfer üzerinde en çok bulunan organizmalardır. 1 cm^2 lik yaprak yüzeyinde $2X10^7$ hücre bulunmaktadır. Bu rakam ortam koşullarının uygunluğuna göre katlanabilmektedir.

Bakteriyel topluluk içerisinde yer alan fluorescent Pseudomonas, Xanthomonas ve Erwinia grubu bakteriler yaprak yüzeyinde patojen olmayan üyeleriyle bir biyolojik savaş ajanı olmaktadırlar. Yaprak yüzeyinde bulunan fiziki koşullar bu alan üzerinde çok fazla değişiklik yapmaktadır. Filosfer koşullarında bulunan besin maddelerinin kontrol edilebilmesi fiziksel değişkenler göre daha kolaydır. Bu nedenle özellikle epifitik bakteriler doğru zamanda besin

maddesi ile desteklenirse kolayca sayılarının arttırabilmektedir. Fluorescent Pseudomonasların sayılarının besin maddesi katkılarıyla arttırılması ile *Pseudomonas syringae* hastalık oluşumunu azaltılmasında olduğu gibi.

Filosfer üzerindeki besin maddelerinin kısıtlı olması mikroorganizmaların dormant hale geçmesine neden olabilir. Bu koşullarda Bacillus gibi spor oluşturabilen bakterilerin yaprak yüzeyi üzerinde çok uzun dönemde elverişsiz koşulları kolayca atlatabildiği görülmektedir. Bu nedenle Bacillus bakterileri umut verici biyolojik ajanlar arasında gelmektedir.

Filosfer üzerinde bulunan saprofitik flora bu alanda bulunan değişik patojenlere karşı farklı etki mekanizmaları ile etki yapmaktadır. Etki mekanizmaları yoluyla biyolojik savaşımda etki oluşturabilen antagonistler ve etkilenen patojenler Çizelgede 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Filosferde antagonist ve patojen etkileşimleri

Epifitik	Antagonist	Patojen	Etki şekli
bakteri	*Pseudomonas fluorescens* A 506	*Erwinia amylovora*	Yarışma
bakteri	*P.syringae* L-59-66 *P.syringae* ESC-10	*Erwinia amylovora*	yarışma
maya	*Cryptococcus laurentii* BSR-Y22, *Sporobolomyces roseus*	*Penicillium spp. Botrytis spp.*	Yarışma
maya	*Candida guilliermondii*	*Penicillium expansum*	Yarışma
fungus	*Ulocladium atrum*	*Botrytis cinera*	Yarışma
bakteri	*Pantoea agglomerans (Erwinia herbicola)*	*Erwinia amylovora*	Antibiyosis
bakteri	*Brevibacillus brevis*	*Botrytis cinerea*	Antibiyosis
bakteri	*Bacillus subtilis*	*B.cinerea*	Antibiyosis
fungus	*Tilletiopsis pallescens Verticillium lecanii*	küllemeler	Antibiyosis
fungus	*Trichoderma*	Fungal patojenler	Antibiyosis
fungus	*Ampelomyces quisqualis*	*(Oidium, Sphaerotheca)*	parazitizm
fungus	*Acremonium alternatum Cladosporium spongiosum,C.clodosporiodes*	*Phyllactinia guttata E. cichoracearum*	parazitizm
fungus	*Mycosphaeropsis sp*	*Venturia inaequalis*	parazitizm
fungus	*Penicillum purpurgenum*	*Monilia sp.*	parazitizm
fungus	*Eudarluca caricis, Verticillium lecanii,Aphanocladium album*	*Puccinia coronata, P.recondita*	parazitizm

4.2.1. Yaprak kaynaklı hastalıklarda biyolojik savaşım uygulamaları

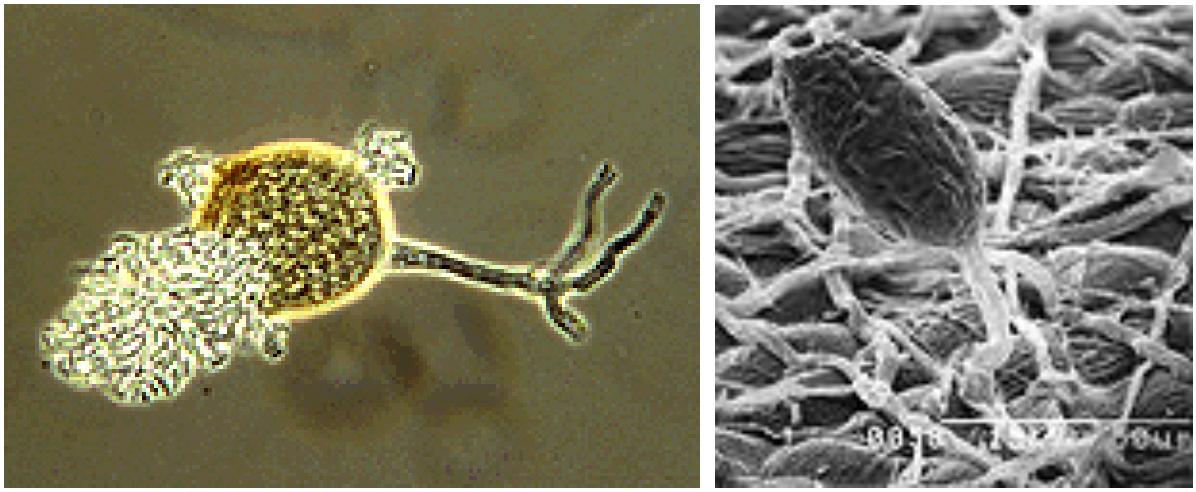
Ampelomyces quisqualis

Bu fungus özelikle külleme hastalıklarında hiperparazitik etki göstererek etki yapan bir antagonisttir. Etki alanında külleme hastalıkları yanı sıra Mucorales ve Perisporiales takımı funguslar da bulunmaktadır.

Fungus, külleme funguslarının konidioforlarında kolonize olarak konukçuda piknidium oluşturmaktadır. Bu etki yanı sıra antagonistin *Uncinula necator* ve *E.graminis* kleistotesyumlarında parazitlik yaptığı da bilinmektedir. Fungus, özellikle sera koşullarında daha etkili olabilmektedir. Çünkü gelişebilmesi için yüksek nemlilik gerekmektedir. Sera içerisindeki koşullar bunu yerine getirmektedir.

Antagonistik fungusun etkili bir mikoparazit olaması yanında kullanılan fungisitlere de dirençli olduğu ortaya konmuştur. Bu nedenle serada *Sphaerotheca fuliginea'ya* karşı yapılan uygulamalarda %2lik parafin ile karıştırıldığında hıyar küllemesini önlemedeki başarısı artmaktadır.

Fungusun parazitleme sırasında konukçusunun hifinde çimlenmesi ve tüm miseli parçalaması ile etkili olduğu görülmektedir. Parazitlemenin SEM incelemelerinde inokulasyondan 24 sonra Ampelomyces'in çimlendiği ve külleme fungusu ile temasa geçerek üzerinde appresoryum benzeri bir yapı geliştirdiği görülmüştür. Hiperparazit 5 gün içerisinde piknit oluşturmaktadır. Bu başarılar ticari olarak formüle edilmesine neden olmuştur.

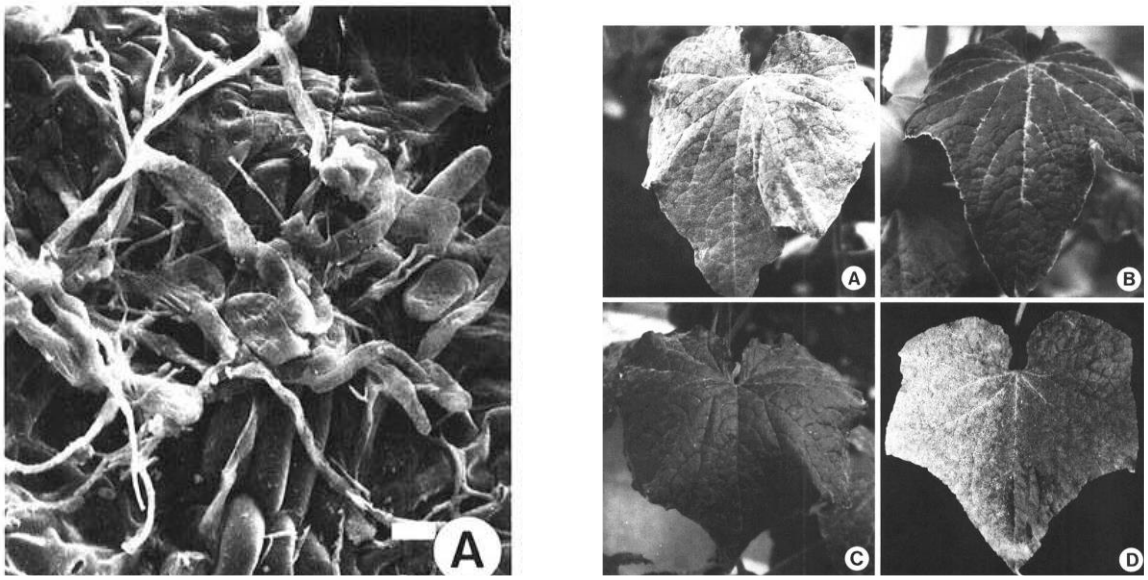


Şekil 19. Bağ küllemesi konidioforları üzerinde gelişen *Ampelomyces quisqualis*'in piknit ve piknidiosporları (www.nysaes.cornell.edu/…/ampelomyces.html)

Tilletiopsis

Külleme hastalıkları özellikle seradaki hıyar bitkilerinde çok önemli bir sorundur. Kükürt ve bazı tolerant çeşitler kullanmak hastalığı önlemede etkisiz kalmaktadır. Bu nedenle bu hastalığın önlenmesinde Ampelomyces yanı sıra başka antagonistler ile de çalışılmıştır.

Bunlardan blastospor üreten bir maya olan Tilletiopsis külleme ile bulaşık yapraklardan izole edilmiştir. Yapılan çalışmalarda külleme konidilerinin Tilletiopsis tarafından tamamen parazitlendiği görülmüştür. Parazitlik dışında antibiyotik etkisinin olmadığı da yine gözlenmiştir. Sera içerisinde 3 kez antagonist uygulanmasının yoğun bulaşık bir serada önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Tilletiopsis'in parazitlik etkisi hem mikroskobik hem de yapraklar üzerinde görülmektedir (Şekil 20)



Şekil 20.Tilletiopsis'in mildiyö hifindeki parazitik etkisinin SEM görüntüsü ve yapraklar üzerinde B-2 kez,C ise 3 kez Tilletiopsis uygulanmış küllemeli yapraklar (Urquhart et al., 1993)

Trichoderma harzianum syreyn T-39:

Trichoderma harzianum ticari preparat olarak İsrail'de geliştirilmiş bir antagonisttir. Bu antagonistin Botrytis'i önlemesi üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Besin rekabeti ve patojene karşı litik enzimleri ile etki gösterdiği ortaya konmuştur. Bu şekilde patojenin konidilerinde çimlenmede bir yavaşlama ortaya çıkmaktadır. Bu da sonuçta konidilerin konukçu bitkiye penetrasyonunu ve maserasyonu azaltmaktadır. Ticari olarak geliştirildiği bitki asma olmakla beraber sera koşullarında yetiştirilen pek çok bitki ile yapılan çalışmalarda etkili olduğu görülmüştür. Trichodex adlı bu antagonistik fungusun diğer pek çok biyolojik savaş ajanı gibi çevre koşullarından çok fazla etkilendiği görülmektedir. Bu nedenle bu

antagonist bazı fungisitler ile kombine edilerek veya alternatifli olarak kullanılarak kurşuni küf araştırmalarında denenmiştir. Yine yapılan araştırmalarda Botrytis hastalık çıkışı üzerine erken uyarı sistemlerinde kullanılmıştır. Botman adı verilen bu erken uyarı sistemi ile seralarda kurşuni küf ile savaşımda fungisitlerin %60 oranında az kullanımı sağlanabilmiştir.

Ulocladium atrum:

Botrytis cinerea ile biyolojik savaşımda rekabetçi funguslardan birisi de *Ulocladium atrum*'dur. Bilindiği gibi *B.cinerea* bir nekrotrofik patojendir. Ölü dokulardaki hızla kolonize olma özelliği ile patojen gelişimi üzerinde bir rekabet koşulu yaratmaktadır. Ölü dokularda özellikle 5-25 ^{0}C'de gerçekleşen yerleşimi nedeniyle patojenin sporulasyonu düşmektedir. Bu güne kadar ticari bir formülasyon haline getirilmemekle birlikte bazı Avrupa ülkelerinde seralarda yetiştirilen domateslerde spor süspansiyonları bitkilere uygulanmaktadır. Bunun sonucunda da enfeksiyonlarda düşmeler görülmektedir.

Antagonistik fungus soğanlar üzerindeki patojene karşı güçlü bir antagonizma göstermektedir. Özellikle bitkinin yeşil kısımlarındaki nekrotik bitki dokularında iyi bir yerleşim sağlayabilmektedir. Siklamen bitkilerinde *U.atrum*'un fungisitler kadar etkili olabildiği çalışmalarla ortaya konmuştur.

Sphaeropsis filum (***Darluca filum***) ve ***Tuberculina spp.:***

Darluca filum:

Pas hastalıklarında biyolojik savaşımda etkili olabilen bazı fungal antagonistler ile çalışılmıştır. Bunlardan hiperparazit özellik gösteren bu iki fungus öne çıkmaktadır.

Darluca filum buğdaygil paslarından *Puccinia coronata, P.graminis,P.recondita,P.sorghii* ve *P.striiformis* üzerinde hiperparazit etki göstermektedir.Bu antagonistik fungus 362 pas türünün üredium ve teliumlarını parazitlemektedir.

S.filum'un parlak siyah yuvarlak piknitleri üredosporları üzerinde gelişmektedir. Fungus aynı zamanda spermogonium,aecium ve teliumları da parazitlemektedir.Yapılan araştırmalarda hiperparazitin konukçunun sporlarının çeperine penetrasyon yaptığını hem mekanik hem de enzimatik olarak etkili olduğunu göstermektedir.*S.filum*, buğday yaprakları üzerinde pas yokken de kolonize olduklarını ve *P.recondita'*nın gelişimi sonrasında ise spor çimlenmesinin hız kazandığını göstermektedir.

Çalışmalarda; hiperparazit *P.recondita* pasından (taçlı pas)3 gün önce buğday bitkilerine püskürtülmüş. Fakat bu uygulamada pas baskılanmamış ancak pas ile hiperparazit birlikte verildiklerinden daha az bir parazitlenme görülmüştür. *S.filum,* pasın olmadığı koşullarda

yaparak üzerinde sınırlı bir gelişme gösterebilmiştir. Çalışmalarda pas enfeksiyon şiddetinin %60-80 azaltılabildiği görülmüştür.

Tuberculina spp.

Hyphomycetes genus funguslardandır. Çeşitli pas türlerinin aecia ve üredosporların parazitlemektedir. Tuberculina yer fıstıklarında görülen pas *P.arachidis* üzerine püskürtüldüğünde uredosporlarda şiddetli bir parazitlenme olduğu kayıtlanmıştır. Bu hiperparazit ile yapılan değişik çalışmalar Çizelgede 7'de görülebilir.

Çizelge 7. Pas fungusları ve parazitleyen antagonistler

Antagonistler	Konukçu fungus
Helicobasidium longisporum	*Coffea sp.*
Tuberculina maxima	*Cronartium ribicola*
Tuberculina persicina	*Puccinia silvatica*
Tuberculina persicina	*Tranzschelia prunispinosae*
Tuberculina sbrozzii	*Puccinia vincae*
Puccinia silvatica	*Taraxacum officinale*
Puccinia vincae	*Vinca major*

Lutz,M.,et al., 2004 ,Mycologia, 96(3), pp. 614–626.)

4.2.2. Çiçek kaynaklı hastalıklarla biyolojik savaşım

Erwinia herbicola

Pseudomonas fluorescens

Elma ve armut ağaçlarının çiçeklerinden başlayan bir hastalık olan *Erwinia amylovora* ile biyolojik savaşım çalışmaları 25 sene önce bir tamamen spekülatif bir konu olarak gündeme gelmişti ve bu hastalığa karşı bakteriyel saprofitlerin baskı kurabileceği ile ilgili yazılı bir çalışma yoktu. Ancak geçen süreç içerisinde, bu konuda yapılan çalışmalar arttıkça ticari olarak formülasyon haline getirilmiş iki önemli biyo ajan ortaya çıkmış ve önemli bir yol kat edilmiştir.

Çiçekler üzerinde epifitik olarak bulunan *Pseudomonas fluorescens* streyn A506, ruhsat almış bir biyolojik preparattır. Ateş yanıklığı yanı sıra bitkilerde buz oluşumunu uyaran bakterilerin baskılanmasında yani don zararlarının önlenmesinde de etkilidir. Diğer antagonistik bakteri ise *Erwinia herbicola* syreyn C9-1 dir Bu da ABD'de ruhsat almıştır.

Bakteriyel antagonistler çiçeklerdeki stigma üzerinde kolonize olmaktadır. Biyolojik savaşta başarılı olabilmek için bu antagonistik bakterilerin özellikle çiçeğin bu kısımlarında hızla yoğun bir populasyona (10^5-10^6 cfu/ml) ulaşması gerekmektedir. *P.fluorescens* patojenin

bulaşmasından 72 saat öncesinde bu bölgeye uygulanırsa *E.amylovora* enfeksiyonlarını baskıla6yabilmektedir. Bitkinin çiçekleri üzerinde epifitik bakterilerde görülen en önemli mekanizma besin rekabetine dayalı olmaktadır. Ancak bunun yanında patojenin baskılanmasında bazı metabolik maddeler de etkili olmaktadır.

Antagonistik bakterilerden *Erwinia herbicola* patojeni engelleyen bazı antibiyotikler salgılamaktadır ve bu antibiyotikler herbicolin O ve I olarak adlandırılmıştır. Antibiyotiklerin doğrudan etkilerinden çok antagonistlerin yer ve besin rekabeti ile etkili oldukları görülmektedir.

Antagonistik bakteri olan *P.fluorescens* ile son 5 yılda yapılan ağaç uygulamalarında hastalığın %40-60 oranında azaldığı görülmüştür. Antagonistik bakterilerin çiçek üzerine ulaştırılmasında değişik yöntemler kullanılmıştır. Çiçeklenme dönemi ve bu dönemdeki ekolojik koşullar çok önemlidir. Ayrıca çiçeklere antagonistik bakterilerin ulaştırılmasında arılardan yararlanılmıştır. Kovanlara bulaştırılan bakteriler arılar aracılığı ile çiçeklere ulaşmaktadır. Ancak bu uygulama çiçeklere püskürtme kadar hızlı bir kolonizasyon sağlamamaktadır. Arı uygulamalarının daha çok sekonder bulaşmalarda etkili olduğu görülmektedir (Johnson ve Stockwell,1998).

Buz oluşumunu engelleyen bakteriler:

Bu kısımda bir abiyotik hastalık olan buz çekirdeği oluşumu ile ilgili bilgiler verilecektir. Başta yumuşak çekirdekli meyve ağaçları olmak üzere pek çok bitki türü ilkbaharın geç donlarından etkilenmektedir.

Bitki dokularında bulunan su, sıcaklık 0^0C'nin altına düştüğünde kristal oluşumunu başlatan etkenler varsa donmaktadır. Bu oluşumda rol alanlar abiyotik etkenler yanı sıra bazı patojenik bakteri genuslarıdır. Bunlar arasında ateş yanıklığına neden olan *E.amylovora* ve patojenik diğer bakterilerden *P.syringae* birer buz çekirdeği görevi yaparak suyun buza dönüşmesini sağlarlar. Buz kristalleri oluşumunu başlatan bu organizmaların bulunmadığı yapraklarda sıcaklık -5 hatta -12 ^{0}C'ye düşse bile donma görülmez dolayısıyla bitkilerde don zararı olmaz. Antagonistik mikroorganizmaların yaprak ve çiçeklere uygulanması ile bu bitki kısımlarında kolonize olmaktadırlar. *E.amylovora*'nın yapraktaki populasyonu düşerek don zararı da azalmaktadır.

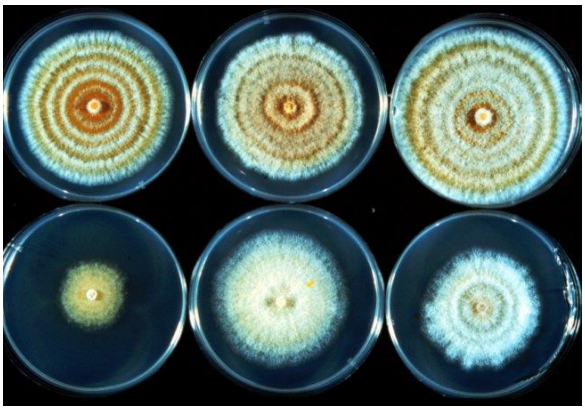
4.2.3. Gövde kaynaklı hastalıklarla biyolojik savaşım

Cryphonectria parasitica

Hipovirulent ırklar ile kestane kanserinin önlenmesi

Kestane kanseri, kestane yetiştirilen pek çok alanda şiddetli ağaç ölümlerine yol açan bir hastalıktır. 20. yüzyılın başında önemli oranda kestane ormanlarının bu hastalık nedeniyle yok olduğu bilinmektedir. Patojen fungus *Cryphonectria parasitica*'nın konidi ve ascosporları rüzgar ve böcekler aracılığı ile ağaçlara bulaşmaktadır.

1950'lerde öldürücü olan bu kanser belirtilerinin zamanla azaldığı ve enfekteli ağaçlarda iyileşmelerin görülmesi dikkati buraya çekmiştir. İyileşme gösteren ağaçlardan *C.nectria*'nın hipovirulent ırkları izole edilmiş ve bu fungusun bulunduğu alanlarda hifsel pigmentasyonun azaldığı, sporulasyonun düştüğü ve hastalık şiddetinde düşmeler gözlenmiştir. Bu hipovirulent ırkların tarafından inokule edilen kanserli dallarda hastalık gelişiminin durduğu görülmüştür.



Şekil 21. Üst sırada virulent alt sırada ise avirulent streynler ve ağaçlara hipovirulent streylerin inokulasyonu

Hipovirulens olayında görülen özellikler:

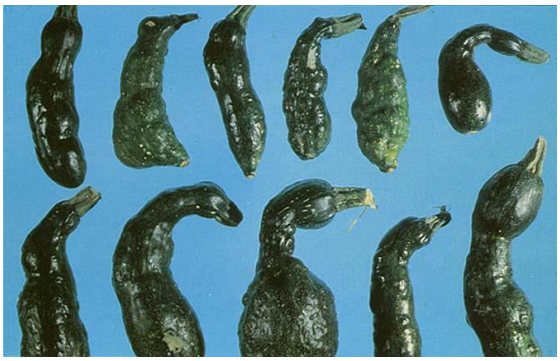
C.parasitica'da görülen hipovirulenslik olayına neden olan ana faktör Hyphovirus genusundaki bir virustur. CHV1 streyni olarak tanılanan bu virus ile çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu virus, fungusun biyolojik savaşımından sorumlu olan ve patojenin sporulasyonu, virulensi ve pigmentasyonu üzerinde etki göstermektedir. Hipovirulent streynler bir biyolojik ajan gibi davranarak hifsel anastomosis yoluyla virulent streynleri hipovirulent hale çevirebilirler. *C.parasitica* izolatları hifsel anastomosis özellikleri bakımından birbirlerinden farklıdır. Birbirleri arasında geçiş yapabilen izolatlar aynı anastomosis gruplarında bulunurlar. Farklı olanlar bu nedenle dsRNA 'yı diğerine aktaramazlar. Anastomosis grupları bölgesel özellikler göstermektedirler. Avrupa'daki hipovirulent ırklar Amerika'daki ırklar üzerinde etkisizdir. Bu nedenle bir bölge için etkili

biyolojik savaşım yapabilecek hipovirulent streyni bulmak için o bölge için görülen virulent izolatın hangi anastomosis grubunda olduğunu bilmek önem taşımaktadır.

Hipovirulent faktörün, hipovirulentten virulente sitoplazmik olarak taşındığı ve çift sarmal RNA'nın bundan sorumlu olduğu görülmektedir (Sneh,1998).

Zuccini Yellow Mosaic Virus'un Çapraz Koruma (Cross Protection) ile biyolojik savaşımı

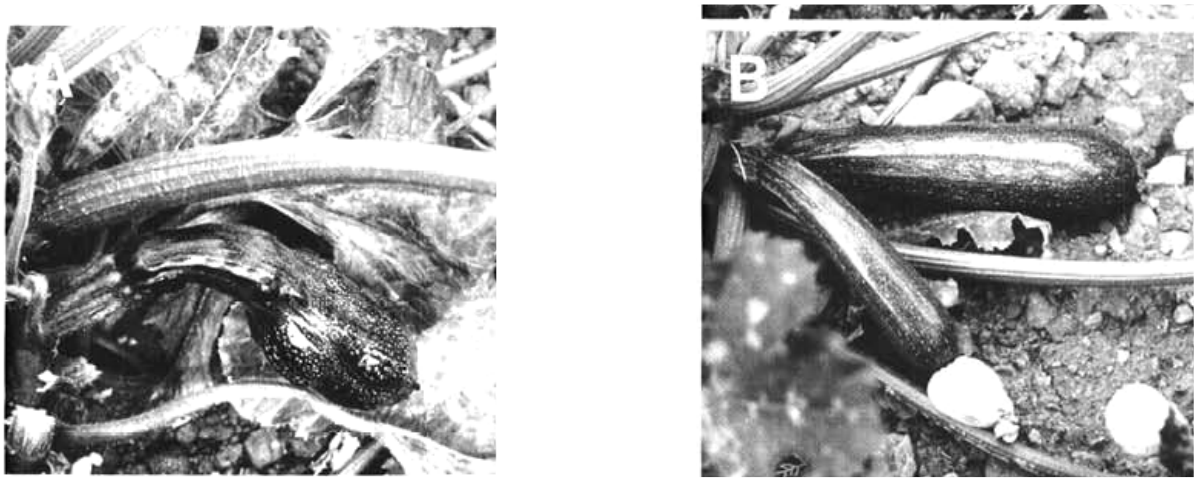
Zuccini Yellow Mosaic Virus (ZYMW) dünyanın her tarafında kabakgillerde görülen en önemli virus hastalıklarındandır. Bu virus non persistent olarak bilinen afit türleri ile taşınmaktadır. Hastalık kabaklarda yaprak ve meyve deformasyonları, mozayık belirtilerine yol açmaktadır. Enfekteli bitkiler dikildiğinde diğer bitkilere bulaşıp hızla bir epidemi oluşturmaktadır.



Şekil 22. ZYMV'un meyvelerdeki belirtisi

Şekil 23. ZYMV'un yapraktaki belirtisi

Kavunlardan izole edilen ZYMV-WK zayıf bir streyni, virulent virus ırkının oluşturduğu belirtilerde azalmalara yol açmıştır. Pilot denemelerde ZYMV'un epidemi yaptığı tarlalarda ılımlı ZYMV ırklarının kabak, kavun, karpuz ve hıyar bitkilerinde önemli bir etki gösterdikleri görülmüştür. Korunan bitkilerde % 40'ın üzerinde bir verim artışının sağlandığı da görülmektedir (Lecoq ve Raccah, 2001).



Şekil.24. ZYMV'un şiddetli belirti gösteren streyni(A) ile ılımlı bir streyn inokule edilmiş enfekteli kabak bitkisi (B) (Lecoq et al., 1991)

Çapraz koruma sırasında ılımlı ırkların başarılı olabilmesi için virusun bitkide sistemik olarak yayılma hızı önem taşımaktadır. Genellikle kabul gören noktalardan birisinin virustan korunan bitkilerde ılımlı virus ırkının bulunmasıdır. ZYMV-WK ılımlı virus ırkı kotiledonlardan bitkiye inokule edildikten sonraki 48 saat içerisinde bitkinin tüm kısımlarında bulunabilmektedir. İnokulasyondan sonra geçen inkubasyon süresinin koruyuculuğun gelişebilmesi için 4-14 gün arasında olması gereklidir. Bu nedenle tarlada bitkilere uygulanacak ılımlı virus ırklarının, bitkinin kotiledon döneminde uygulanması ve bitkilerin tarlaya bir-iki gün sonra şaşırtılması gerekmektedir.

Başarılı bir çapraz koruyuculuğun sağlanması için değişik fizyolojik stres faktörlerine de dikkat etmek gereklidir. Bunun için sulama ve gübrelemenin düzenli yapılması başarı şansını arttırmaktadır.

Bitkinin sonraki gelişme evrelerinde az sayıda da olsa bazı bitkilerde şiddetli virus enfeksiyonları gözlenmektedir. Bunun nedeni olarak tarlada diğer viruslardan kaynaklanan enfeksiyonlar gösterilmektedir.

Turunçgil Tristeza Virusu (CTV)

Virusların savaşımında ticari olarak başarı kazanmış uygulamalardan bir tanesi turunçgil tristeza virusunun ılımlı steynlerinin inokulasyonu yoluyla yapılan biyolojik savaşım yoludur. CTV afitle yayılan ve floemde bulunan bir virus hastalığıdır. Bu hastalıkta gövdede görülen yivlenmeler ve bitkinin sararması ve küçük meyve gelişimleri ile tipik belirtiler görülür.

Şekil 25. Turunçgil Tristeza virusunun gövdede oluşturduğu yivlenme ve ağaçlarda bodurlaşma

Tristeza virusuna karşı tolerant anaçlar üzerine ticari önemdeki çeşitlerin aşılanması hastalığa karşı yapılabilen tek uygulamadır. Çapraz koruma yoluyla ılımlı veya virulensi düşük virus streynlerinin kullanılması ile ilgili çalışmalar 1960'lı yıllarda başlamıştır. Hastalığın bulunduğu ancak bazı ağaçlarda benzer belirtilerin gözlenmemesi sonucu bu ırklar saptanmıştır. Brezilya'da bu biçimde CTV'nin 45 tane ılımlı ırkı saptanmıştır. Bu ırklardan 3 tanesinin Pera tatlı portakal, 2 lime ve bir greyfurt meyvelerinde koruyuculuk gösterdikleri görülmüştür. Bitkilerin iyi büyümeleri, CTV belirtilerini çok az göstermeleri ve iyi verim verdikleri gözlenmiştir. Bu ılımlı ırkların ticari olarak turunçgillere uygulanma çalışmaları sonucunda Brezilya'da 5 milyon ağaç çapraz koruma ile virusun şiddetli ırklarına karşı korunabilmiştir.

Ilımlı ırkların genellikle elde edildiği turunçgil türünden aynı tipteki ağaçlara verildiğinde daha fazla etkili olduğu gözlenmiştir. Bu şekilde Pera tatlı portakal çeşidi üzerinden izole edilen antagonistik viruslar bu çeşitte daha fazla etki göstermişlerdir.

4.2.4.Hasat sonrasında görülen hastalıklarla biyolojik savaşım

Hasat sonrasındaki sebze ve meyvelerde oluşan çürüklükler, günümüzde gelişen depolama teknolojileri ve modern fungisitlere rağmen ürünün %20'si gibi bir bölümünün yok olmasına neden olabilecek boyutlardadır. Hasat sonrasında ürünlerde görülen kayıplar, hasat sonrasında kullanılan fungisitler ve soğuk zincir yoluyla azaltılabilmektedir. Ancak hasat sonrasında kullanılan fungisitlerde ortaya çıkan dayanıklılık ve çevre ile insan sağlığına olumsuz etkilerinden dolayı bu hastalıkların önlenmesinde yeni alternatif arayışlarına yöneltmiştir.

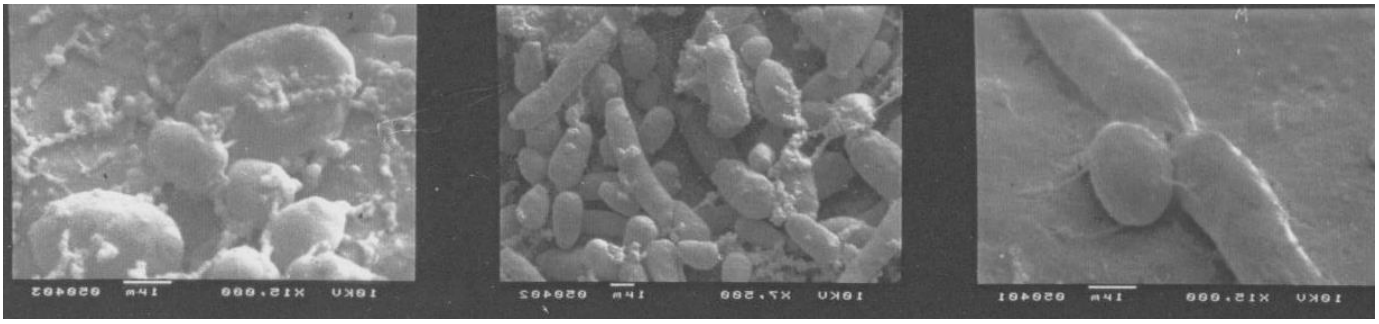
Dünya üzerinde bu amaca yönelik olarak taze meyve sebzelerde hasta sonrasında görülen hastalıklara karşı biyolojik savaş programları geliştirilmeye devam etmektedir.

Son 15 senede biyolojik savaşım hasat sonrası hastalıklar için bir alternatif olarak görülmüştür. Bu şekilde ABD'de ilk ticari biyolojik ürün Biosave 100 ve Aspire adı altında ruhsat almıştır.

Genel olarak etkili organizmaların elde edilmesi ve pilot testler biyolojik savaşımın geliştirilmesi için gerekli olmaktadır.

Hasat sonrasında uygulanacak antagonistlerin diğerlerinden farklılıkları vardır. Hasat sonrasında ürünün paketleme evlerindeki bandırma, meyvelerin su içerisine daldırma veya püskürtme işlemleri sırasında eklenebilmesi uygulama kolaylığı sağlamaktadır. Bu işlemlerden geçirilen taze meyve ve sebzeler soğuk hava depolarında depolanmaktadır. Sıcaklık, oransal nem gibi kontrol edilebilen faktörler antagonistin yerleşebilmesi için daha elverişli bir koşulu yaratmaktadır.

Ürünlerin hasat edilmesi ile depoya konulması arasında geçen süre kısadır. Bu nedenle antagonistin hızlı hareket etmesi gereklidir. Meyveler soğuk hava deposuna konduklarında üründeki metobolik hız ve bununla bağlantılı olarak üzerindeki mikroflora da azalmaktadır. Hasat sonrası patojenlerinin biyolojik olarak engelleyebilecek bir sistemde bu etkiyi gösterecek organizmanın öncelikle yaraların üzerinde hızlı bir kolonizasyon göstermesi ve soğuk koşullarda metabolik aktivitesini göstermesi gereklidir. Hasat sonrasında meyveler üzerinde görülen en önemli patojenlerden Penicillium spp.'ye karşı antagonistik mayaların yara yeri üzerindeki kolonizasyonu Şekil 27'de görülmektedir.



Şekil.26. *P.digitatum*'un maya hücreleri ile etkileşimi (P.Kınay, doktora tezi,, 2001)

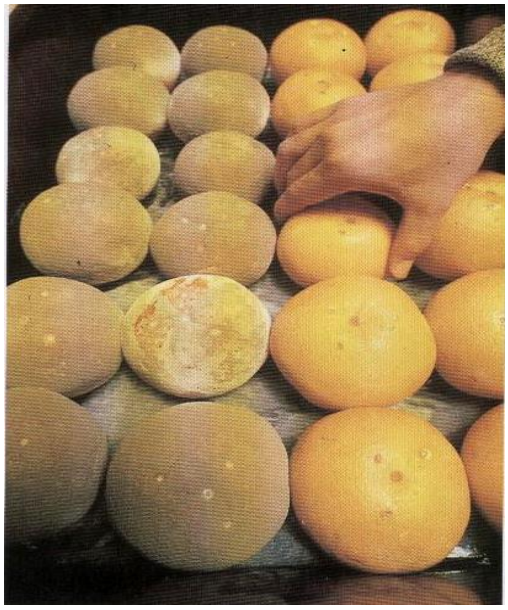
Hasat sonrasında biyolojik savaş çalışmalarında hedeflenen patojenin gelişme istekleri de önemlidir. Çevresel streslere dayanabilen birkaç patojen bu koşullara karşı direnebilmektedirler. Örneğin Penicillium ve Botrytis türlerinde olduğu gibi.

Şeftalilerde hasattan önce latent olarak hasattan sonra da yaralarda etkili olan *Monilia fructicola*'nın etkili bir şekilde baskılanabilmesi için antagonistlerin hem hasattan önce hem de sonra uygulanması gerekmektedir. Yine elma ve armutlarda hasta sonrasında mavi küf

(*Penicillium expansum*) ve kurşuni küfe (*Botrytis cinerea*)'ya neden olan patojenlerin çimlenme ve patojenik aktivitesinin başlaması besin maddesi gereklidir. Bu da besinsel rekabet nedeniyle biyolojik kontrol için uygun olduklarını göstermektedir.

Hasat sonrasında görülen hastalıklara karşı yapılan çalışmalarda maya ve bakteriyel kaynaklı antagonistlerin başarılı oldukları görülmektedir. Bunlar ile ilgili örnekler Şekil 27 ve 28'de görülmektedir.

Şekil 27. Armutlarda Penicillium expansum'un *Pseudomonas syringae* strain L-59-66 ile engellenmesi



Şekil 28. Greyfurtta yeşil çürüklüğe karşı *Candida oleophila*'nın kullanılması

Meyve yüzeyinde çürüklüklere yol açan patojenlere karşı etkili olan antagonistlerin antibiyosis, litik enzimler, parazitizm, dayanıklığın uyarılması ve besin ile yer çekişmesine dayalı mekanizmalara sahip oldukları görülmektedir. Bu mekanizmalar içerisinde Meyve monilyasına etkili olan *Pseudomonas cepecia*'ın ürettiği antibiyotik olan iturin ile; yine turunçgillerde etkili bir antagonistik maya olan *Pichia guillermondi*i'nin *Penicillium italicum*'a karşı besin ve yer çekişmesi ile etki ettikleri görülmektedir.

Hasat sonrasında görülen çeşitli meyve kaynaklı patojenlerle yapılan biyolojik savaşım çalışmaları Çizelge'de verilmektedir.

Çizelge 8.Hasat sonrasında meyveler üzerinde görülen hastalıklarla yapılan biyolojik savaşımda etki gösteren antagonistler

Ürün	Hastalık	Biyokontrol Ajan	Kaynaklar
Elma	Mavi çürüklük	*Pseudomonas syringae*	Janisiewicz, 1987
	Mavi "	*P. cepecia*	Janisiewitz&Ritman,1988
	" "	*Cryptococcus spp.*	Roberts, 1991
	" "	*Pichia guillermondii*	Mclaughlin et al.,1990
	" "	*Pichia anomala*	Jijakli&Lepoivre,1993
	" "	*Candida sake*	Say, 2000
	Kurşuni küf	*Pichia guilliermondii*	Wisniewski et al.,1988
	" "	*Pseudomonas cepecia*	Janisiewitz&Rottman,1988
	" "	*Candida spp.*	Say, 2000
	Mucor çürüklüğü	*P. cepecia*	Janisiewitz&Rottman,1988
	Monilia çürüklüğü	*Endofitik bakteriler*	Protella et al, 1994
	Rhizopus "	" "	" "
	Kurşuni küf	*Trichoderma harzianum*	Dubos, 1984
	Rhizopus çürüklüğü	*Pichia guilliermondii*	Ben Arie et al,1991
Üzüm	Kurşuni küf	" "	" "
	Rhizopus çürüklğü	*Kloekera apiculata*	McLaughlin et al, 1992 "
		" "	
Şeftali	Rhizopus çürüklüğü	*Enterobacter cloacea*	Wilson et al, 1987
	Kahverengi çürüklük	*Bacillus subtilis*	Pusey and Wilson, 1984
	" "	*Klockera apiculata*	Karabulut, 2001
	Kurşuni küf	" "	" "
	Mavi çürüklük	" "	" "
Kiraz	Alternaria çürüklüğü	*E. aerogenes*	Utkheda&Sholberg,1986
	Kahverengi çürüklük	*Bacillus subtilis*	" "
Kayısı	Kahverengi çürüklük	*B.subtilis*	Pusey&Wilson,1984
	Mavi çürüklük	*Pseudomonas cepecia*	Janisiewicz&Roitman,1980
Armut	Kurşuni küf	*P.cepecia*	Janisiewicz&Roitman,1980
	Mucor çürüklüğü	*Cryptococcus laurentii*	Roberts,1988
Turunçgil	Yeşil küf	*Trichoderma viridae*	Borras&Aguilae,1980
	Yeşil küf	*Bacillus pumilus*	Huang et.al, 1992
	" "	*Pichia guilliermondii*	Droby et.al,1991
	Yeşil ve mavi küf	*Değişik maya türleri*	Kınay&Yıldız,2000
	Ekşi çürüklük	*Pichia guilliermondii*	Delen ve ark.,2000
	Ekşi, çürüklük	*Trichoderma sp.*	Chalutz&Wilson,1990
	" "	*Bacillus subtilis*	De Matos, 1983
	Sap dibi çürüklüğü	*B. subtilis*	Singh&Deverall,1984
			" "

4.2.4. Yabancı otlarla biyolojik savaşım çalışmaları

Yabancı otlarla biyolojik savaşım kararı verilebilmesi için aynı bitki patojenlerinde olduğu gibi bazı koşulların sağlanması gereklidir. Öncelikle yabancı otun savaşım yöntemlerinin sınırlı olduğu, herbisitlere karşı bir dayanıklılığın geliştiği veya herbisit kullanımının yapılamadığı, istenmediği veya ekonomik olmadığı durumlarda söz konusudur. Bundan sonrası için de yabancı ot sorununun iyi analiz edilip biyolojik savaş için uygunluğu araştırılmaktadır.

Yabancı ot türlerinin biyolojisi, yayılma biçimi ve üremesi bu bakımdan çok önem teşkil etmektedir. Otlara karşı biyolojik savaşımda kullanılabilecek antagonistlerin aranmasında yine klasik yöntemler yerini almaktadır. Bunlar içerisinde yabancı otun içinde bulunduğu habitat içerisinde doğal düşmanlarının aranması veya başta gelmektedir. Bu biçimde elde edilen antagonistlerin uygulandığı alanlarda yabancı ot populasyonunu ekonomik zarar eşiğinin altına çekmesi beklenmektedir.

Biyolojik savaşım çalışmaları sırasında bu bitki türleri üzerinde virulent patojen türlerinin oluşması ve yabancı otu yok etmesi hedeflenmektedir. Etki gösteren bu patojen organizmalar kitle halinde üretilmekte herbisitlere benzer biçimde bitkilere uygulanmaktadır. Biyolojik savaşım çalışmalarında endemik türdeki patojenlerin geliştirilmesi ile biyoherbisit veya mikoherbisitler geliştirilmektedir.

Biyolojik savaşımın başarılı olabilmesi için çoğalma yeteneği iyi, yayılabilen ve bulaşık olan bölgedeki ot yoğunluğunu azaltan patojenleri kullanmak gerekmektedir. Ayrıca,bulunduğu mikroklimaya uyum sağlayabilen ve güçlü bir patojenik aktiviteye sahip olması da gerekmektedir.

Yabancı ot türlerinde biyolojik savaş yapabilecek mikroorganizmaların elde edilmesinde bazı ana noktalar öne çıkmaktadır. Bunalar şu şekilde sıralanabilir.

1.Patojenlerin seçimi

Yabancı otlar üzerinde biyolojik olarak etki gösterebilen ve bitkinin gelişimi ile üremesi üzerine etki yapabilecek tüm patojen grupları (virus,bakteri,mikoplazma,fungus ve nematod) olabilir. Şimdiye kadar bunlar içerisinden funguslar, üzerinde çalışmaların yoğunlaştığı organizmalardır. Fungal organizmaların konukçuya özelleşmeleri ve patojenik mekanizmalarının bilinmesi nedeniyle tercih edildikleri görülmektedir. Ancak antagonistlerin seçiminde hedef alanda daha önce görülememiş olmaları konukçuya özelleşmiş ırklarının bulunmaması önemlidir. Virusların böcek vektörleri ile transferleri nedeniyle uygulama güçlükleri bulunmaktadır.

2.Yabancı ot hastalıklarının sörveyi

Bu amaçla uygulama yapılacak alanda, etkili olacak organizmanın daha önceden o alanda bulunup bulunmaması ve bu alandaki uygulanması ile yabancı otlarda zararlı olup olamayacağı iyi araştırılmalıdır. Yapılacak sörveylerde, yabancı otlarda zarar oluşturan tüm patojen türleri, değişik zaman aralıklarında toplanmalıdır. Kullanılabilecek patojen türünün seçiminde bitkinin genç döneminden başlayarak gelişmiş bitki aşamasına kadarki tüm aşamalarında bitkiye saldırabilen patojen türünün seçilmesi önem kazanmaktadır.

Bu patojenler yüksek virulens, geniş çaplı yayılım göstermesi bakımından biyolojik savaşım için etkili olarak seçilebilirler.

3.Tarlada etkinin değerlendirmesi

Biyolojik savaşımda kullanılacak antagonistik mikroorganizmanın uygulamada başarılı olabilmesi için iklim, coğrafik özellikler gibi çevresel faktörlerin patojenin virulensi, hastalık yoğunluğu tarlada yayılmasına etkisi çok önemlidir. Bu nedenle çevre faktörlerine karşı gelişmenin sürdürülmesi, aday antagonsitler için gerekli bir koşul olmaktadır.

4.Konukçuya özelleşme

Yabancı otlara karşı kullanılacak bitki patojenlerinin, kültür bitkisine zararlı bir etkisinin olmaması gerekmektedir. Bu nedenle patojenlerle yapılan çalışmalar önce serada testlenmelidir.Bu etkiyi testlemek için patojenin konukçu dizisi içerisinde yer alan bitkilerin incelenmesi gerekir. Ancak tüm konukçu bitkilerin testlenmesi oldukça zor olduğu için bazı temsil edici bitki türlerinin kullanıldığı bir protokol tercih edilmektedir. Bunun ile ilgili seçim şöyle yapılmaktadır.

a) Hedef bitki türünün diğer formları b)aynı genustan diğer türler c) aynı sınıftan diğer üyeler d) aynı alt familya üyeleri e) diğer familya üyeleri f) aynı takım üyeleri seçilmelidir.

5. Biyolojik savaşımda başarılı olmuş uygulamalar

***Chondrilla juncea* (İskelet otu):**

Bu alanda yapılan çalışmalarda, Avustralya'da buğday alanlarında görülen bir yabancı ot olan *Chondrilla juncea*'nın, *Puccinia chondrillina* ile başarılı olan biyolojik savaşımı ağırlık kazanmaktadır. İskelet otu, Avustralya'da buğdaygil yetiştirilen alanlarda önemli bir sorundur. Bu bitki Akdeniz bölgesi, Avrupa ve Orta Doğu'da görülmekte ve doğal düşmanları arasında özellikle bir pas fungusu bulunmaktadır. Bu ot üç ayrı formda, dar, orta ve geniş yapraklı formlarda bulunmaktadır. Bu ot üzerinde patojen olan pas, çok devrelidir ve Akdeniz bölgesinde yıl boyunca bitkinin yeşil kısımlarında kalabilen bir fungustur. Sonbahar ve ilkbaharda çimlenen fideler, kahve renkli üredosporlar ile enfekte olur. Üredosporlar ilkbaharın sonundan itibaren yaz boyunca çoğalır ve oluşan çiçek tomurcuklarını enfekte eder. Yaz sonunda yapraklar üzerinde pasın telia devresi oluşur. Bulaşıklığın yoğun olduğu bitkilerde otlar ya ölür, ya da şiddetli bir şekilde zarar görür, bu şekilde tohum oluşumunda ve kök gelişimi azalır. Yabancı ot üzerinde gerçekleştirilen biyolojik savaşımda başarılı olmuş bu konukçu patojen ilişkisi Şekil 29'da görülmektedir.

Şekil.29: İskelet otu *C.juncae*'nin pas fungusu *P.chondrillina* ile önlenmesi (www.fs.fed.us/rm/ecology/studies/biocontrol/rsw/solda ve: www.scienceimage.csiro.au/index.cfm?event=sit...)

Pas fungusu *Puccinia chondrillina*, Avustralya'da 1971 yılında tarlada uygulanmış ve bitkinin dar yapraklı formunda çok başarılı olmuştur. Hastalık uygulandığı alanının çevresindeki 320 km lik bir alana yayılmış çok hızlı bir 12 generasyon ile 7 ayda büyük bir hızla çoğalmıştır. Yabancı otun bu pas patojeni tarafından enfeksiyonu sonucunda ot populasyonu azalarak buğday ürününde artış sağlanmıştır (Hasan.,1988).

6. Biyoherbisitler

Yabancı otlarla biyolojik savaş çalışmalarında kullanılan bazı biyoherbisitler bulunmaktadır. Bunlar içerisinde çeltik tarlalarında sorun olan yabancı otlardan birisi olan *Aeschynomene virginica'*ya karşı bir antraknoz etmeni olan *Colletotrichum gleospoioides* bulunmaktadır. Bu yabancı ot, çeltikte verim ve kalite kayıplarına yol açmaktadır.

Yabancı otun üzerinde etki gösteren antraknoz fungusu tarla testlerinde 2-6x10^6 spor/ml oranında uygulandığında genç fideleri hızla öldürdüğü, bitki büyüdükçe öldürme oranının %99 dolayında olduğu görülmektedir. Fungusun bir biyolojik savaş ajanı olarak kullanılabilmesi için yapılan çeşitli tarla denemelerinde %95-100 oranında bir başarı sağlanmıştır. Güvenilirlik testlerinden geçirilen bu fungus, bu yabancı ota karşı ticari olarak ruhsat almıştır.

5. Biyopestisitler

Genel olarak bakıldığında pestisit pazarında biyolojik savaşımda kullanılan biyolojik kaynaklı organizmalar %1'lik bir kısmı oluşturmaktadır. İlk biyokontrol ajanı olarak bir bakteri (*Agrobacterium radiobacter* strain K84) 1979 yılında A.B.D.'in çevre koruma örgütü (EPA) tarafından ruhsatlandırılmıştır. Bundan 10 yıl sonra *Trichoderma harzianum* ATCC 20476, yine aynı örgüt tarafından ruhsatlandırılmıştır. Bu örgütün ABD'de yaptığı ruhsatlandırma çalışmalarında toplam 14 bakteri ve 12 fungus bulunmaktadır. Bunlar içerisnden bir bakteriye ait ruhsat kaldırılmıştır. EPA tarafından ruhsat verilen organizmaların %65'inin son 10 yılda alındığı görülmektedir (Fravel,2005).Ruhsatlı biyofungisitler Çizelge 9'da görülmektedir.

Biyofungisitlerin üretimi:

Biyolojik savaşımda biyopreparat üretimini kısıtlayan en önemli faktörlerden birisi; yüksek üretim maliyetleridir. Bu tür bir üretimde etkili propagüllerin büyük miktarlarda ve kısa bir sürede üretilmesi gerekmektedir. Büyük çaplı biyolojik ajan üretimlerinde değişik üretim teknikleri geliştirilmiştir. Turunçgillerde antagonistik maya olan *Pichia guilliermondii*'nin üretiminde endüstride kullanılan bazı atık maddelerin fermentasyonundan yararlanılmaktadır.

Çizelge 9. Çeşitli hastalık etmenlerine karşı Ruhsatlı biyofungisitler (Fravel,2005)

Antagonist	Patojen	Kullanıldığı bitki	Ticari adı ve ruhsat tarihi
Agrobacterium radiobacter K84	*A.tumefaciens*	Meyve ağaçları,süs bitkileri	Galltrol, 1979
Agrobacterium radiobacter K1026	*A.tumefaciens A.rhizogenes*	Meyve ağaçları,süs bitkileri	Nogall, 1999
Ampelomyces quisqualis M-10	Küllemeler	Meyve,sebze ve süs bitkileri	AQ10, 1994
Aspergillus flavus strain AF36	*Aspergillus flavus*	pamuk	Aspergillus flavus AF36, 2003
Aspergillus flavus strain NRRL 21,882	*Aspergillus flavus*	Yer fıstığı	Afla-guard, 2004
Bacillus licheniformis strain SB3086	Yaprak yanıklık patojenleri	Süs bitkileri	Ecoguard, 2003
Bacillus pumilis strain GB34	*Rhizoctonia, Fusarium*	Soya fasülyesi	Gb 34, 2002
Bacillus subtilis GB03	*Rhizoctonia Fusarium Aspergillus*	Pamuk,soya,buğday bezelye tohumları	Kodiak Companion, 1992
Bacillus subtilisMBI60	*Rhizoctonia,Fusarium Aspergillus*	Pamuk,soya,buğday bezelye,mısır	Subtilex, 1994
Bacillus subtilisQST713	Yaprak pat.,çürüklük ve yanıklıklar	Sebzeler, kiraz,bağ, ceviz	Seranade, Rhapsody, 2000
B.s.var.amylolique faciens FZB24	*Rhizoctonia,Fusarium*	Orman ve süs ağaçları fidanları	Taegro,2000
Candida oleophila I-82	Hasat sonrası pat.	Meyve, sebze,çiçek	Aspire
Coniothrium minitans CON/ M/91-08	*Sclerotinia sclerotiorum.S.minor*	toprak	Contans WG Intercept,2001
Glocladium catenulatum strain J1446	Toprak patojenleri	Sebze,çim,süs bit.ağaç fidanları	Primastop,1998

Gliocladium virens GL-21	Toprak patojenleri	Süs bitkileri, sebze,pamuk	Soilgard,1990
Pseudomonas chloropsis strain 63-28	*Pythium,R.solani, Fusarium*	Sera sebze ve süs bitkileri	AtEze,2001
Pseudomonas aureofaciens Tx-1	*Sclerotinia, Pythium Colletotrichum*	çim	Bio-ject Spot-Less,1999
Pseudomonas fluorescens A506	Don zararı, ateş yanıklığı	Meyve ağ.patates,domates	Blightban A506 Frostban,1992
Pseudomonas syringae strain ESC-10	Hasat sonrası has.	Elma,armut, limon,portakal	Bio-Save 10LP, 1995
Pseudozyma flocculosa strain PFA22 UL	Külleme	Serada gül ve hıyar	Sporodex L, 2002
Streptomyces griseoviridis strain K61	Toprak patojenleri	Çeşitli ürünler,süs bit.fidanları	Mycostop,1993
Trichoderma harzianum ATCC-20,476	Gövde yaraları	Süs bit.orman ağaç.	Binab-T,1989
Trichoderma harzianum T-22	Toprak patojenleri	Sera,bahçe top.	Root shield,1990
Trichoderma harzianum T-39	Botrytis cinerea	Çeşitli ürünler	Trichodex,1996

Formülasyon:

Formülasyon, organizmaların biyolojik performanslarını, raf ömürlerini ve güvenliklerini etkilemektedir. Biyolojik sistemlerde biyolojik preparatların başarısı üzerinde üç parametre önemlidir. Bunlar; su, besin maddesi ve çevredir. Suyun aktivitesi,formülasyondaki biyokontrol ajanının canlılığının etkilemektedir. Ürünün kuru olması nakliye sırasında ürünün ağırlığını azaltmakta ve bulaşmaları önlemektedir. Bazı biyolojik ürünlerin formülasyonları daha basit olmaktadır. Örneğin bakteriyel endosporlar, mayalar ve bazı funguslarda oluşan dinlenme sporları gibi.

Ruhsatlanma:

Bir biyolojik pestisitin pazara çıkması ve burada kalabilmesi için farklı yasal denetlemelerden geçmesi gerekmektedir. Bir mikrobiyal ürünün bu işlemlerden sonra bir biyopestisit olarak satılabilmesi için EPA tarafından verilen ruhsatının olması gerekmektedir. Ruhsatlanma

aşamasında iki önemli nokta öne çıkmaktadır. Bunlar; toksisite ve çevreye olan etkidir. Bu ürünlerin insanlar olan etkilerinin en başında toksik olmamaları, alerjenik etkilerinin olmaması ve patojenik olmamalarıdır.

Biyolojik savaşımda gelecekteki beklentiler:

Biyolojik savaş alanında yapılmış tüm çalışmalar pek çok bitki türü üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunlar; buğdaydan hasat sonrasındaki ürünlere kadar sıralanabilir. Hastalıklarda savaşımda biyolojik savaşım henüz küçük bir pay almakla birlikte, bazı hastalıklarla (taş çekirdekli meyve ağaçlarında kök uru) savaşımda önemli bir rol oynayabilmektedir.
Biyolojik savaşımda daha çok araştırma yapılarak, üreticilere ulaştırılabilecek ürün sayısının arttırılması ve bu sanayi kolunun bu alana daha çok ilgisinin çekilmesi gereklidir. Bunun yanı sıra biyopestisitlerin entegre savaşım içerisine dahil edilmesi ve kimyasal ilaçlarla dönüşümlü olarak kullanılabilmeleri için daha çok araştırmaya gerek vardır. Bu tür çalışmalarla biyolojik ajanların sürdürülebilir tarım içerisine güvenle katılabilmesi ve savaşımları zor veya güç olan hastalıklara karşı bir alternatif olma araştırmalarının da sürdürülmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Alabouvette,C.,V.Edel.,P.Lemancau,C.Olivain,G.Recorbet.,C.Steinberg,2001.Diversity and Interactions among strains of Fusarium oxysporum: application to biological control. In: Biotic Interactions in Plant Pathogen Associations.(Ed.J.M. Jeger)CABI Publishing,GBR,p131-143.

Alabouvette,C.,D.Backhouse.,C.Steinberg.,N.J.Donavan.,V.Edel Hermann, L.W.Burgess.,2003.Microbial Diversity in Soil-Effects on Crop Health. In: Managing Soil Quality: Challenges in Modern Agriculture (Eds.,P.Schonning ve B.T.Christensen) pp.121-143.

Anjaiah,V.,2004. Biological Control Mechanisms of Fluorescent Pseudomonas species involved in Control of Root Diseases of Vegetable/Fruits in: Fruit and Vegetable Diseases Vol.1. (Ed. K.G.Mukerji),pp.453-500.

Bora,T.,M.Yıldız.,C.Akıncı.,T.Nemli.,1982. Investigations on fungistasis with respect to wilt diseases in important cultivated soils of the western Aegean region. The J.Turkish Phytopathology, V:11,No:1-2,1-14.

Cook,J.R.,K.F.Baker,1983. The nature and Practice of Biological control of Plant Pathogens.APS,St.Paul Minnesoto,pp 539.

Fravel,D.R.2005.Commercialization and Implementation of Biocontrol. Ann.Rev.Phytopathol.43:337-59.

Hajek,A. E.2004. Natural Enemies: An Introduction to Biological Control. Cambridge University Pres,N.Y.,USA,396p.

Hasan,S.,1988. Biocontrol of weeds with microbes.In: Biocontrol of Plant Diseases Volume 1 (K.G.Mukerj, and K.L.Garg,eds.) crc PRESS Florida USA.pp.129-151.

Janisiewicz,W.,L.Korsten.,2002. Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits. Ann. Rev. Phytopathol.,40:411-41.

Johnson, K.B.,V.O. Stockwell,1998. Management of Fire Blight: A Case Story in Microbial Ecology. Ann. Rev. Phytopathol.,36:227-48.

Kiss,L.,2001. The Role of Hyperparasites in Host Plant-Parasitic Fungi Relationships. In: Biotic Interactions in Plant Pathogen Associations. .(Ed.J.M. Jeger) CABI Publishing,GBR,p 227-239

Kloepper,J.W.,J.Leong,M.Teintze.,M.N.Schroth.,1980. Pseudomonas siderephores: A mechanism explaining disease suppression in soils. Current Microbial. 4:317-320.

Lecoq,H.,B.Raccah, 2001,Cross protection: Interactions between strains exploited to control

plant virus diseases. In: Biotic Interactions in Plant Pathogen Associations.(Ed.J.M. Jeger) CABI Publishing,GBR,p 177-189.

Lemanceau,P.,C. Alabouvette,1993. Suppression of Fusarium wilt by fluorescent pseudomonads mechanisims and application.Biocont.Sci.Tech. 3:219-234.

Pal,K.K.,B.McS, Gardener,2006. Biological control of plant pathogens.The plant health ınstructor DOI:10,APS net, pp.1-25.

Paulitz.,T.C.,R.R.Belanger, 2001. Biological control in greenhouse systems. Ann.Rev.Phytopathol.,39:103-133.

Raajmaker,J.M.,D.M. Weller,1998.Exploiting the genetic diversity of Pseudomonas spp. characterization of suppresior colonizing P.fluorescens strain Q8r1-96. Appl.Environ.Microbiol.67:2545-54.

Smith,J.J.,G.S.Saddler, 2001. The use of avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* to control bacterial wilt disease. In: Biotic Interactions in Plant Pathogen Associations. CABI Publishing,GBR,p159-171.

Sneh,B.1998,Use of non-pathogenic or hyphovirulent fungal strains to protect plants against closely related fungal pathogens. Biotechnolgy Advances Vol: 16, No:1,pp 1-32.

Whipps,J.M.,R.D.Lumsden.2001. Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: Status and prospects.In: Fungi as biocontrol agents: progress,problems and potential (ed.T.M.Butts),CABI publishing GBR,pp 9-19.