



T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***XENORHABDUS SZENTİRMAYI* BAKTERİ METABOLİTLERİ VE
TRANSCİNNAMİK ASİTİN BİTKİ PATOJENİ *BOTRYTIS*
CINEREA FUNGUSUNA KARŞI ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

NEJAT ADLIĞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ BARIŞ GÜLCÜ

DÜZCE, 2019

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***XENORHABDUS SZENTİRMAYI* BAKTERİ METABOLİTLERİ VE
TRANSCİNNAMİK ASİTİN BİTKİ PATOJENİ *BOTRYTIS*
CINEREA FUNGUSUNA KARŞI ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Nejat ADLIĞ tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Dr. Öğretim Üyesi Barış GÜLCÜ

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Dr. Öğretim Üyesi Barış GÜLCÜ

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Mustafa İMREN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Doç. Dr. Nedim ALTIN
Düzce Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 30/07/2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

30 Temmuz 2019

Nejat ADLIĞ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğrenimimde ve bu tezin hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek ve yardımdan dolayı çok değerli hocam Dr. Öğretim görevlisi Barış GÜLCÜ'ye en içten dileklerle teşekkür ederim.

Yine bu çalışmada *Botrytis cinerea* izolatının temin ve teşhisinde destek ve yardımlarından dolayı sayın Doç. Dr. Nedim ALTIN hocama teşekkür ederim.

Bu çalışmada istatistiksel analizler konusunda desteklerini esirgemeyen Dr. Araştırma Görevlisi Salih Tunç KAYA hocama teşekkür ederim.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sevgili aileme ve çalışma arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

30 Temmuz 2019

Nejat ADLIĞ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR.....	viii
SİMGELER	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM	6
3.1. <i>XENORHABDUS SZENTİRMAII</i> SÜPERNATANTI VE TRANSCİNNAMİC ASİT'İN HAZIRLANIŞI	6
3.2. PETRİ DENEYLERİ.....	7
3.3. SAKSI DENEYLERİ.....	8
3.4. İSTATİSTİK ANALİZLER.....	9
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	11
4.1. PETRİ DENEYLERİ.....	11
4.2. SAKSI DENEYLERİ.....	12
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	17
6. KAYNAKLAR.....	18
ÖZGEÇMİŞ	22

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 3.1. Petri denemeleri	7
Şekil 4.1. Petri deney sonuçları.	12
Şekil 4.2. TCA içeren besi ortamında B. cinerea'nın 5 günlük gelişimi	12
Şekil 4.3. Saksı denemesi sonuçları.....	13
Şekil 4.4. Pozitif kontrol grubu (Soldaki) ve %2'lik TCA (Sağdaki) grubu	14
Şekil 4.5. %2'lik TCA (Soldaki) ve %2'lik TCA-Fungusit1/2 (Sağdaki).....	14



ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 4.1. Tüm deney gruplarında ortalama misel gelişimi.	11
Çizelge 4.2. TCA ile fungusit kombinasyonları arasındaki etkileşim durumu.....	15



KISALTMALAR

IJ	İnfektif juvenil
J1	Juvenil 1
J2	Juvenil 2
J3	Juvenil 3
J4	Juvenil 4
NBTA	Nutrient agar, bromothymol blue, triphenyltetrazolium
PDA	Patates dekstroz agar
TCA	Trans-cinnamic Asit
TED	Tavsiye edilen doz
TSBY	Tryptic soy broth + 0.5 % yeast extract)

SİMGELER

µm	mikrometre
ml	mililitre
rpm	rounds per minute
°C	Santigrat derece
cm ²	Santimetre kare
%	yüzde



ÖZET

***XENORHABDUS SZENTIRMAII* BAKTERİ METABOLİTLERİ VE TRANSCİNNAMİC ASİTİN BİTKİ PATOJENİ *BOTRYTIS CİNEREA* FUNGUSUNA KARŞI ETKİNLİĞİNİN BELİRLENMESİ**

Nejat ADLIĞ

Düzce Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Barış GÜLCÜ

Temmuz 2019, 21 sayfa

Bu çalışmada *Xenorhabdus szentirmaii* bakterisi supernatantı ile transcinamic asit (TCA)'ın bitki patojeni *Botrytis cinerea* fungusuna karşı etkinliği petri ve saksı deneylerinde test edilmiştir. Petri deneylerinde TCA ve bakterisi supernatantı farklı oranlarda yapay besi ortamına karıştırılarak fungusun gelişimi takip edilmiştir. TCA'nın test edilen tüm konsantrasyonları (%0.5, %1 ve %2) *X. szentirmaii*'ye göre *B. cinerea*'ın misel gelişimini daha fazla inhibe etmiştir. Saksı deneylerinde ise TCA sentetik bir fungusit ile beraber *B. cinerea* bulaştırılmış marul fidelerine uygulanmıştır. Deney sonunda TCA sentetik fungusit kadar etkili bulunmuştur. Ancak fungusitin daha düşük dozları ile TCA'nın ikili uygulamaları arasında hiçbir sinerjistik etkileşim elde edilememiştir. Test edilen TCA ve sentetik fungusit arasındaki tüm gruplarda yalnızca antagonistik bir ilişki gözlenmiştir.

Anahtar sözcükler: *Botrytis*, Transcinamic asit, *Xenorhabdus*.

ABSTRACT

DETERMINING THE EFFICACY OF *XENORHABDUS SZENTIRMAII* METABOLITES AND TRANSCINNAMIC ACID AGAINST PLANT PATHOGENIC FUNGUS, *BOTRYTIS CINEREA*

Nejat ADLIĞ

Düzce University

Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Biology

Master's Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Barış GÜLCÜ

July 2019, 21 pages

In this study we evaluated the inhibitory effect of cell-free supernatant of *Xenorhabdus szentirmaii* and trans-cinnamic acid (TCA), against *Botrytis cinerea* in petri and pot experiments. In petri assays, the different concentrations of TCA and *X. szentirmaii* were mixed in the media of *B. cinerea* and mycelial growth of fungus was followed. All tested concentration (%0.5, %1 ve %2) of TCA inhibited mycelial growth of *B. cinerea* better than *X. szentirmaii*. In pot experiments, different combinations of TCA and a synthetic fungicide were applied lettuce seedlings which infected with *B. cinerea*. At the end of experiments, TCA was as effective as fungicide. Whereas no synergistic interaction was detected between combined application of the lower concentrations of fungicide and TCA. Only antagonistic interaction was detected between all experiment groups.

Keywords: *Botrytis*, Transcinnamic acid, *Xenorhabdus*.

1. GİRİŞ

Benzersiz bir hayat döngüsüne sahip *Photorhabdus* ve *Xenorhabdus*, Heterorhabditidae ve Steinernematidae familyasından entomopatojen nematodlar ile mutualistik ilişki içerisinde olan iki prokaryotik mikroorganizmadır (Boemare and Akhurst, 2006). *Photorhabdus* bakterileri Heterorhabditidae, *Xenorhabdus*'lar ise Steinernematidae ile beraber evrimleşmişlerdir (Martens and Goodrich-Blair, 2005; Ciche et al., 2008). Doğada bu iki bakteri grubu, *P. asymbiotica* hariç, nematodların infektif juvenil evrelerinin bağırsaklarında veya onların enfekte ettiği böceklerin hemosolünde bulunmaktadır (Griffin et al., 2005). *Photorhabdus*'lar Heterorhabdit'lerin bağırsağında dağınık bir şekilde yerleşmiş iken, *Xenorhabdus*'lar Steinernematid'lerin bağırsağının anterior kısmındaki bir kese içerisinde dirler (Martens and Goodrich-Blair, 2005; Ciche et al., 2008; Gulcu et al. 2017). Heterorhabditidae ve Steinernematidae familyalarından entomopatojen nematodlar zorunlu böcek patojeni canlılardır. Hayat döngülerinde yumurta, juvenil 1 (J1), juvenil 2 (J2), juvenil 3 (J3), juvenil 4 (J4) ve ergin olmak üzere altı evre bulunmaktadır. Juvenil 3 aynı zamanda infektif juvenil (IJ) olarak da bilinmektedir. Bu evre aynı zamanda nematodların toprakta bulunan ve aktif olarak konukçuları arayan tek evresidir. İnfektif juveniller böceklerin ağız, anüs, spirakıl gibi vücut açıklıklarından veya doğrudan kutikulyayı delerek konukçunun hemosölüne girmektedirler (Lewis and Clarke, 2012; Gulcu et al., 2017). Böceğin içerisine giren IJ'ler taşıdıkları bakterileri hemen serbest bırakırlar. Burada üremeye başlayan ve çeşitli toksinler üreten bakteriler böceği 48-72 saat içerisinde septisemi ve toksemiye bağlı olarak öldürmektedir. Bu sırada ergin döneme geçen nematodlar ise hemosöle yayılmış olan bakteriler ve böcek dokusuyla beslenerek hızlı bir şekilde üremeye başlar. Kadavradaki besinin tamamen tükenmesiyle gelişimlerini infektif juvenil evrede durduran nematodlar yutmuş oldukları bakterilerin bir kısmını sindirmeyerek bağırsaklarında depolamaktadır. Ardından konağı terk ederek kendilerine yeni bir av aramaya başlamaktadır. İlk enfeksiyondan itibaren yeni nesil nematodların konağı terk etmesi türlere göre değişiklik göstermekle beraber 7-15 gün sürmektedir (Lacey and Georgis, 2012; Gulcu et al., 2017).

Enterobacteriaceae familyası üyesi olan *Photorhabdus* ve *Xenorhabdus* bakterileri gram negatif ve oksidaz negatif, spor oluşturmeyen, çubuk şekle sahip, hareketli, fakültatif anaerobiktirler (Boemare and Akhurst, 2006). *Xenorhabdus* bakterileri ile *Photorhabdus* bakterileri arasında belirgin farklar bulunmaktadır. *Photorhabdus* bakterileri biyolojik ışık yayma (bioluminescens) olayını gerçekleştirebiliyorken, *Xenorhabdus* bakterileri gerçekleştiremezler. *Xenorhabdus* bakterileri Katalaz negatif (-) iken *Photorhabdus* bakterileri Katalaz pozitif (+)'tir. Optimum üreme sıcaklıkları genellikle 28°C'dir (Forst vd., 1997). Yapılan çalışmalar *Photorhabdus* ve *Xenorhabdus* cinsine ait simbiyotik bakterilerin böcekleri öldüren toksinler dışında kadavrayı fırsatçı bakteri, fungus, virüs, protozoa (Kaya, 2002) ve yağmacılardan (Gulcu et al., 2012; Uluğ et al., 2014) koruyan bir dizi antibiyotik veya antagonistik özellikteki bileşikler de ürettiğini göstermektedir. *Xenorhabdus* türlerinden anti-bakteriyal ve anti-fungal etkiye sahip indole, xenocoumacin, xenorhabdin ve cabanillasin metabolitleri tanımlanmıştır (Boemare and Akhurst 2006; Houard et al., 2013). *Photorhabdus* bakterilerinin ise 2-isopropyl-5-(3-phenyl-oxiranyl)-benzene-1,3-diol, 3,5,-dihydroxy-4-isopropyl-stilbene ve β -lactam carbapenem (Hu et al., 2006; Bode 2009), anthraquinone pigmentleri, trans-stilbenler ve trans-cinnamik asit (TCA) üretebildiği keşfedilmiştir (Boemare and Akhurst 2006; Bock et al., 2014). Bu bileşiklerden antibiyotik özelliğe sahip olanların eczacılık ve tarımda kullanımına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (Webster et al., 2002; Bode 2009; Fang et al., 2011; Fang et al., 2014). Bu metabolitlerin bir diğer potansiyel kullanım alanı biyofungusit olarak uygulanmalarıdır. *Photorhabdus* spp. ve *Xenorhabdus* spp. bakteri metabolitlerinin fungal bitki patojenlerine karşı inhibe edici etkileri pek çok çalışma ile ortaya konmuştur (Chen et al., 1994; Webster et al., 2002; Shapiro-Ilan et al., 2009; Fang et al., 2011; SanBlas et al., 2012; Bock et al., 2014; Fang et al., 2014; Shapiro-Ilan et al., 2014).

Bitki hastalıkları küresel ölçekte besin üretimini ve gıda güvenliği tehdit eden en önemli problemlerdendir (Fang et al., 2011, 2014). Buna sebep olan hastalık etmenleri tarım ürünlerinde görülen kayıpların en büyük sorumlusudur (Bock et al., 2014). Bitkilerde hastalık yapan en yaygın fungus cinsleri *Botrytis*, *Physalospora*, *Alternaria*, *Cochliobolus*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Penicillium*, *Sclerotinia* ve *Phytophthora*'dır (Fang et al., 2014). Bunlar içerisinde *Botrytis cinerea* tüm dünyada ve ülkemizde başta seralar olmak üzere, pek çok tarım alanında sorun oluşturan bir fungus türüdür. Bu fungus süs bitkileri (gül, karanfil, aslanagzı vb.), sebzeler (marul, hıyar vb.) ve meyveler (çilek, üzüm

vb.) dahil 200 civarı bitki türü üzerinde nekrotrofik hayat döngüsü ile önemli oranda ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Rebordinos et al., 2003, Leroux, 2004). Nem ve sıcaklık koşullarının uygun olduğu sera ortamlarında yetiştirilen marul, domates, hıyar, çilek gibi meyve ve sebzelerde yıkıcı enfeksiyonlara sebep olabilmektedir (Baykal, 1997; Delen vd, 1998; Aydoğdu vd., 2001; Kurt, 2016). Polifag bir fungus türü olan *B. cinerea* ülkemizde üzüm ve çilek üretimindeki en önemli zararlılardan birisidir. Ayrıca soğan, marul, biber, domates ve enginar da sorun olabilmektedir. Bitki çeşidine göre fungusun meydana getirdiği belirtiler değişmektedir. Fungusun miselyum, sklerot, konidi olmak üzere üç formu bulunmaktadırlar. Kış dönemini sklerot formunda toprak ve ölü bitki artıklarında geçirmektedirler. İlkbaharda çimlenen sklerotlar konidiosporu ve miselyumu meydana getirirler. *B. cinerea* konukçu bitkinin ilk ekiminden tüketiciye ulaştığı zamana kadar ki her aşamasında bitki üzerinde hastalık oluşturabilmektedir (Baykal 1997; Kurt, 2016).

Günümüzde bitki patojeni fungusların mücadelesinde çoğunlukla aşırı toksik ve doğada bozulmayan sentetik fungusitler kullanılmaktadır. Bu fungusitlerin yoğun ve yaygın kullanımı patojenlerin direnç kazanmasının yanı sıra çevre kirliliğine ve ekosistemlerin bozulmasına yol açmaktadır. Bu nedenle patojenlerle mücadelede yeni alternatiflerin geliştirilmesi gereklidir (Fang et al., 2011; 2014). Bu yüksek lisans tezi kapsamında *Xenorhabdus szentirmaii* bakteri metabolitleri ve transcinamic asitin bitki patojeni *B. cinerea*'ya karşı etkinliği petri ve saksı deneyleri ile test edilmiştir. Saksı deneylerinde marul bitkisi kullanılmıştır. Sebze ve meyvelerdeki patojen funguslara karşı sentetik fungusit kullanımını azaltmak için yeni çevre dostu yaklaşımların bulunması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Chen et al. (1994) yaptıkları çalışmada farklı habitatlardan izole edilmiş 32 fungus türüne karşı *Xenorhabdus nematophila*, *X. bovienii* ve *Photorhabdus luminescens* bakteri türlerinden elde edilen altı günlük süpernatantların antifungal etkinliklerini test etmişlerdir. Kullandıkları tüm süpernatantlar 0.22 µm por çapındaki filtreden geçirilerek bakteri hücreleri uzaklaştırılmıştır. Çalışma sonunda *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* süpernatantlarının bazı bitki patojeni fungusların gelişimini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir.

Ng and Webster (1997) çalışmalarında dört günlük *X. bovienii* bakteri kültürünü etil asetat ile muamele ederek metabolitlerini ekstrakte etmiş ardından çeşitli bitki patojeni funguslara karşı in vitro ve in vivo olarak test etmiştir. Her iki uygulamada metabolitler antifungal etki sergilemiştir. Ancak metabolitlerin bitkilerde fitotoksisite meydana getirdiği belirlenmiştir.

Boszormenyi et al. (2009) *X. szentirmaii* ve *X. budapestensis* bakterilerinden elde ettiği ekstraktları in vitro koşullarda bitki patojeni bakteri ve funguslara karşı test etmiştir. Bakteri metabolitlerinin *Erwinia amylovora* bakterisi ve *Phytophthora nicotianae* fungusunun gelişimini durdurduğunu belirlemiştir.

Yang et al. (2011) yaptıkları çalışmada *X. nematophila* bakterisinden xenocoumacin 1 maddesini saflaştırmış ve bu sekonder metaboliti bitki patojeni fungus türü olan *Phytophthora infestans*'a karşı in vitro ve in vivo olarak test etmişlerdir. Xenocoumacin 1'in küçük dozlarının bile antifungal etkisinin yüksek olduğunu bildirmiştir.

Bock et al. (2014) ilk defa bir *Photorhabdus luminescens* izolatından trans cinnamic asit adlı sekonder metaboliti tanımlamıştır. Bu maddeyi patojen bir fungus olan *Fusicladium effusum*'a karşı in vitro olarak test etmiştir. TCA'nın antifungal etkisinin çok düşük dozlarda bile etkili olduğunu belirtmiştir.

Fang et al. (2011) yaptıkları çalışmada *X. bovienii* YL002 izolatını *Botrytis cinerea* ve *Phytophthora capsici* funguslarına karşı test etmişlerdir. Bakteri süpernatantının *B. cinerea* ve *P. capsici*'nin misel gelişimini %98'den fazla inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Ayrıca süpernatant içerisindeki metabolitleri metanolde çözündürerek saflaştırmışlardır. Bu şekilde domates ve biber üzerinde yaptıkları uygulamalarda metabolitlerin *B. cinerea* ve *P. capsici*'ye yalnızca koruyucu etki göstermediğini ayrıca iyileştirici etki de gösterdiğini

gözlemlemiştir.

Fang et al. (2014) *X. nematophila* bakterisinin filtrelenmiş supernatantını 26 bitki patojeni fungusu in vitro olarak denemiş ve bazılarında antifungal etki görürken bazılarında etkisiz olduğunu bildirmiştir. Ayrıca bakteri supernatantının metanol ekstraktının *B. cinerea* ve *P. capsici* funguslarına karşı in vivo koşullarda da etkili olduğunu bulmuşlardır.

Shapiro-Ilan et al. (2014) yaptıkları çalışmada *X. bovienii* ve *P. luminescens* bakteri türlerinin supernatantları ve ekstrakte edilmiş metabolitlerini *F. effusum*, *Phytophthora cactorum* ve *Armillaria tabescens* patojen funguslarına in vivo olarak denemişlerdir. *Xenorhabdus bovienii* supernatant ve metabolitleri *P. luminescens*'e göre *F. effusum* üzerinde daha etkili olmuştur. *P. cactorum*'a karşı ise her iki bakteri türünün supernatant ve metabolitleri aynı derecede etkili bulunmuştur. *Armillaria tabescens*'e ise yalnızca *P. luminescens* metabolitleri etkili olmuştur.

Hazır et al. (2016) *X. bovienii*, *X. nematophila*, *X. cabanillasii*, *X. szentirmaii*, *P. temperata*, *P. luminescens* (VS) ve *P. luminescens* (K22) bakteri supernatantlarını beş farklı bitki patojeni fungusu karşı test etmiştir. Yüzde onluk bakteri süpernatantı içeren sulu solüsyonları in vitro koşullarda *Fusicladium carpophilum*, *F. effusum*, *Monilinia fructicola*, *Glomerella cingulata* ve *A. tabescens*'e karşı uygulamıştır. Çalışmasına TCA metabolitini de dahil etmiştir. Deneyler sonunda *Xenorhabdus* türlerinin *Photorhabdus* türlerine göre daha etkili olduğunu ancak en yüksek antifungal etkinliği ise trans cinnamic asitin gösterdiğini belirlemiştir.

Shi et al. (2017) çalışmasında *P. temperata* SN259 türünden izole edip tanımladıkları stilben türevlerinin antifungal etkinliğini araştırmıştır. *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, *Exserohilum turcicum* ve *Fusarium oxysporum* gibi bitki patojeni funguslara karşı yedi farklı stilben türevini in vitro olarak test etmişler ve bazı stilben çeşitlerinin antifungal etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Hazır et al. (2018) çalışmasında *X. szentirmaii* bakteri supernatantının antifungal etkisinin yüksek ısıya karşı hassasiyetini test etmiştir. Bununla beraber süpernatantın raf ömrünü de değerlendirmiştir. Ayrıca farklı dozlarının *M. fructicola* ve *G. cingulata*'ya karşı antifungal etkinliği araştırmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda *X. szentirmaii*'nin antifungal metabolitlerinin yüksek ısıya dayanıklı olduğunu, 4 ve 20°C'de bozunmadan kalabildiğini tespit etmiştir. Ayrıca patojen funguslara yaptığı uygulamalarda doz oranı arttıkça antifungal etkinliğinde arttığı belirtmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

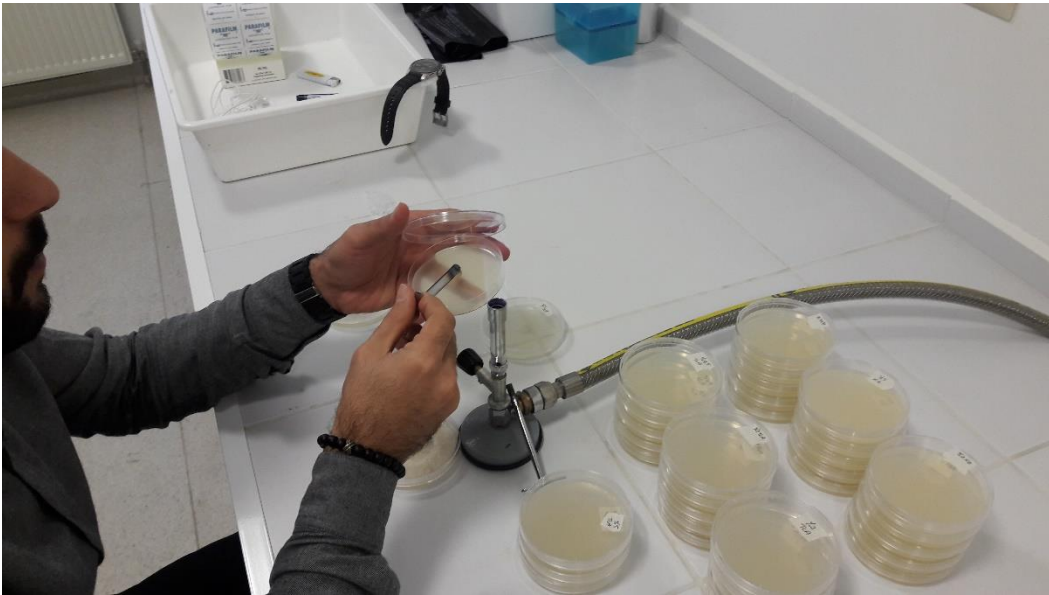
3.1. *XENORHABDUS SZENTIRMAII* SÜPERNATANTI VE TRANSCİNNAMİC ASİT'İN HAZIRLANIŞI

Çalışmada kullanılan *X. szentirmaii* izolatı Prof. Dr. Selçuk HAZIR (Adnan Menderes Üniversitesi, Biyoloji Bölümü)'ın laboratuvarındaki bakteri kolleksiyonundan temin edilmiştir. Stok kültürler sıvı besiyerinde üretildikten sonra %50 besiyeri, %50 gliserol karışımı içerisinde ve -80°C'de muhafaza edilmektedir. *Xenorhabdus*'un faz I ve II olmak üzere iki formu vardır. Bakteriler faz I formunda antimikrobiyal bileşikleri de içeren birtakım sekonder metabolitler üretmektedir. Faz II' ye geçtiklerinde boya bağlama, sekonder metabolit üretme, ekzo enzim üretme ve agar yüzeyinde yayılma yeteneklerini kaybolmaktadır (Givaudan et al., 1995; Forst and Clark, 2002). Bu nedenle deneylerde yalnızca faz I evredeki bakteriler kullanılmıştır. Kullanılacak bakteriler NBTA (2.3% "Difco" nutrient agar, 0.0025% "Merck" bromothymol blue, 0.004%, 2, 3, 5- triphenyltetrazolium) üzerinde çoğaltıldıktan sonra hücre ve koloni morfolojilerine göre hangi fazda oldukları tespit edilmiştir. Seçilen koloniler TSBY ("Difco" tryptic soy broth + 0.5 % "Sigma" yeast extract) ortamına aktarılmıştır. Bakteri kültürü 30°C, 120 rpm'de 120 saat boyunca inkübe edilmiştir. Üremiş olan bakteri kültürü 4°C'de, 10.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek bakteri ve supernatant ayrılmıştır. Supernatant içerisinde bakteri olma ihtimaline karşı 0.22 µm (Thermo scientific, NY) çaplı filtreden geçirilmiştir (Houard et al., 2013). Kullanılacak süpernatantlar en fazla 2 hafta bekletilmiştir ve deneylere kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir (Shapiro-Ilan et al., 2014; Hazir et al., 2016). Çalışmada Sigma firmasının ürettiği TCA tercih edilmiştir. Kullanılan TCA en az %98 saflığa sahiptir. TCA doğrudan suda çözünen bir madde değildir. Yalnızca etanol, metanol ve aseton gibi kimyasallar içerisinde çözünmektedir. Bu çalışmada etanol tercih edilmiştir. Bu amaçla 4.5 g TCA 100 ml etanol (Merck, Darmstadt, Germany) içerisinde çözdürülmüştür. Kullanılan etanolün saflık oranı %96'dır. Hazırlanan stok solüsyondan 0.5, 1 ve 2 ml TCA 100 ml distile su içerisinde aktarılarak deney grupları oluşturulmuştur.

3.2. PETRİ DENEYLERİ

Çalışmanın bu bölümünde *X. szentirmaii* supernatantı veya TCA'nın etkinliği in vitro koşullarda Hazir et al. (2016) çalışmasındaki metod temel alınarak test edilmiştir. Fungus besiyeri olarak PDA (Merck, Almanya) tercih edilmiştir. Besiyeri otoklavlanıp petrilere dökülmeden içerisine supernatant ve TCA ilave edilmiştir. Bu esnada besiyerinin sıcaklığı 50-55 °C civarındadır. Her grup için 100'er ml PDA besiyeri hazırlanmıştır. Ancak supernatantlı deney grupları için 2, 5, 7 ve 10'ar ml supernatant sonradan eklenerek besiyerlerinin toplam hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır. TCA grupları için stok solusyondan 0.5, 1 ve 2'şer ml PDA besiyerine eklenmiştir. Her deney grubu için 6 petri hazırlanmıştır (Şekil 3.1.).

Çalışmada kullanılan *B. cinerea* izolatı Düzce Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesinden Doç. Dr. Nedim ALTIN'nın fungus koleksiyonundan temin edilmiştir. İzolatın doğadan elde edildiği konukçusu marul bitkisidir. Deneylerde kullanmak amacıyla bu izolat PDA üzerinde 20-21°C'de tekrar geliştirilmiştir. Hazırlanan *B. cinerea* kültüründen 5'er mm'lik agar diskleri deney gruplarını içeren petrilere aktarılmıştır. Petrinin tam merkezine yerleştirilen fungusun ortamdaki antifungal maddeye verdiği tepki ve fungusun misel gelişimi beş gün boyunca takip edilmiştir. Beş gün sonunda fungusun geliştiği alan cetvel yardımıyla ölçülerek hesaplanmıştır. Petri deneyi iki defa tekrar edilmiştir Fang et al., 2011; Harun, 2019).



Şekil 3.1. Petri denemeleri.

3.3. SAKSI DENEYLERİ

Petri denemelerinde TCA'nın tüm konsantrasyonları etkili bulunmuştur. Saksı denemelerine ise yalnızca %2'lik konsantrasyon ile devam edilmiştir. Çalışmanın bu kısmında TCA, *B. cinerea*'ya karşı Bayer firması tarafından geliştirilen Teldor 500 isimli sentetik fungusitin daha düşük dozlarıyla sinerjistik bir etki elde etmek için kombine edilmiştir. Bu fungusitin etken maddesi fenhexamid'tir. Deneyde Teldor'un üç dozu %2'lik TCA solusyonu ile eşit oranda karıştırılarak uygulanmıştır. Teldor'un kullanılan dozları sırasıyla tavsiye edilen doz (TED), TED'nin yarısı ($TED/2$) ve TED'nin onda biri ($TED/10$)'dir. Saksı denemeleri için *B. cinerea*'nın konukçularından marul bitkisi (*Lactuca sativa*) tercih edilmiştir. Marul fideleri Bilecik ilinin Söğüt ilçesinde faaliyet gösteren "Dikmen Tarım" isimli özel bir firmadan satın alınmıştır. Çalışmada firmanın ürünlerinden "Festival" çeşidi tercih edilmiştir. Fideler 150x120 mm; 1.1 lt hacimli plastik saksılar içerisine yerleştirilmiştir. Saksılarda kullanılan topraklar deney öncesi 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak deney sırasında ortaya çıkabilecek herhangi bir kontaminasyonun önlenmesi amaçlanmıştır. Saksı denemeleri için kumlu-tınlı toprak kullanılmıştır.

Saksılara aktarılan fideler laboratuvar koşullarında 21°C'de, 16 saat ışık: 8 saat karanlık ortamda muhafaza edilmiştir. Kök ve yaprak gelişimini hızlandırmak marul fidelerine bir defa Fertileader (Timac agro, Fransa) yaprak gübresi uygulanmıştır. Deneylere dikimden 10 gün sonra başlanmıştır. Gübre uygulaması dışında her fideye üç günde bir 100'er ml çeşme suyu verilmiştir.

Saksı denemelerinde kullanılacak fungus kültürü üzüm meyvesi üzerinde geliştirilmiştir. Bu sayede fungusun patojenitesi ve spor üretimi artmaktadır. Bunun için marketten satın alınan bir kilogramlık sofralık üzüm (Kardinal çeşidi) kullanılmıştır. Enfeksiyon işlemi için saplarından ayrılan ve yıkanan üzüm taneleri 16x20x9 cm ve 1500ml'lik kilitli kapaklı plastik kaplar içerisinde yerleştirilmiştir. PDA ortamında geliştirilen *B. cinerea* kültüründen alınan agar diskleri üzüm tanelerine bulaştırılmıştır. Kapağı sıkıca kapatılan plastik kaplar fungusun gelişimi ve spor oluşumu için 21°C'de 10 gün bekletilmiştir. Üzüm taneleri üzerinde sporlanan *B. cinerea* kültürünün olduğu plastik kabın içerisine bir miktar distile su eklenmiştir. Hemen ardından bu sulu karışım tülbentten geçirilerek spor süspansiyonu elde edilmiştir. Thoma lamı ile yapılan sayım sonucunda hazırlanan *B. cinerea* spor konsantrasyonunun 8×10^8 spor/ml olduğu tespit edilmiştir. Denemelerde

negatif kontrol grubu hariç marul fidelerinin kök boğazına otomatik pipet yardımıyla bu spor süspansiyonundan 5'er ml verilmiştir. Fungus enfeksiyonunun oluşabilmesi için saksılar poşet ile örtülmüştür. Spor uygulamasından 24 saat sonra 5'er ml TCA ve fungusit kombinasyonları aynı şekilde kök boğazına ilave edilmiştir. Bu şekilde 10 gün muhafaza edilmişlerdir. Her deney grubu için sekiz saksı hazırlanmıştır. Deneyler 3 defa tekrar edilmiştir (Demir, 2009).

Pozitif kontrol grubunda *B. cinerea* ile enfekte fideler, negatif kontrol grubu sağlıklı fideler bulunmaktadır.

3.4. İSTATİSTİK ANALİZLER

Petri deneylerinde TCA ve *X. szentirmaii* bakteri süpernatantlarının antifungal aktivitesi tek yönlü varyans analizi (SPSS, 2013) ile hesaplanmıştır. Her tekrardan elde edilen veriler bir araya getirilerek, tek parça olarak analiz edilmiştir. Tek yönlü varyans analizi sonucunda anlamlı fark bulunan gruplara Tukey's HSD testi yapılmıştır. Deney gruplarında fungusun geliştiği alanlar santimetre kare (cm²) olarak hesaplanıp sonuç bölümünde verilmiştir. Saksı denemelerinde marul fidelerinin ölüm oranları Abbott formülüne $[(1 - (\text{deney grubundaki canlı bitki sayısı} / \text{pozitif kontrol grubundaki canlı bitki sayısı})) * 100]$ göre hesaplanmıştır (Abbott, 1925).

Çalışmada son olarak TCA ve sentetik fungusit arasındaki etkileşim (sinerjistik, additif veya antagonistik) de araştırılmıştır (Shapiro-Ilan et al., 2009, 2014). Bunun için Abbott formülüne göre hesaplanmış fide ölüm oranları kullanılarak TCA-fungusit kombinasyonları için beklenen mortalite değerleri hesaplanmıştır (Hazır et al., 2017). Beklenen mortalite için hesaplama şu şekildedir;

$$TCA + [Fungusit * (1 - TCA)]$$

Ardından ki-kare değerleri hesaplanmıştır (Hazır et al., 2017). Ki-kare için hesaplama şu şekildedir;

$$[(\text{Gözlenen mortalite} - \text{beklenen mortalite}) * 100] * [((\text{Gözlenen mortalite} - \text{Beklenen mortalite}) * 100) / (\text{Gözlenen mortalite} * 100)]$$

Elde edilen ki-kare değerleri ki-kare tablosuna göre yorumlanmıştır. Buna elde edilen değer 3.84'den küçük ise etkileşim tipi additiftir. Eğer elde edilen değer 3.84'den büyük ve gözlenen mortalite beklenenden büyükse etkileşim tipi sinerjistikdir. Elde edilen değer

3.84'den büyük ve gözlenen mortalite beklenenden küçük ise etkileşim tipi antagonistiktir.



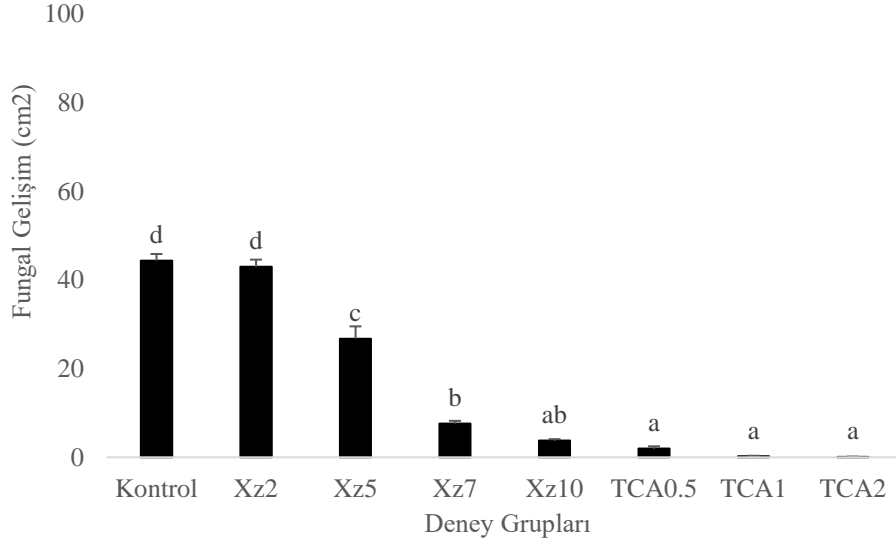
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. PETRİ DENEYLERİ

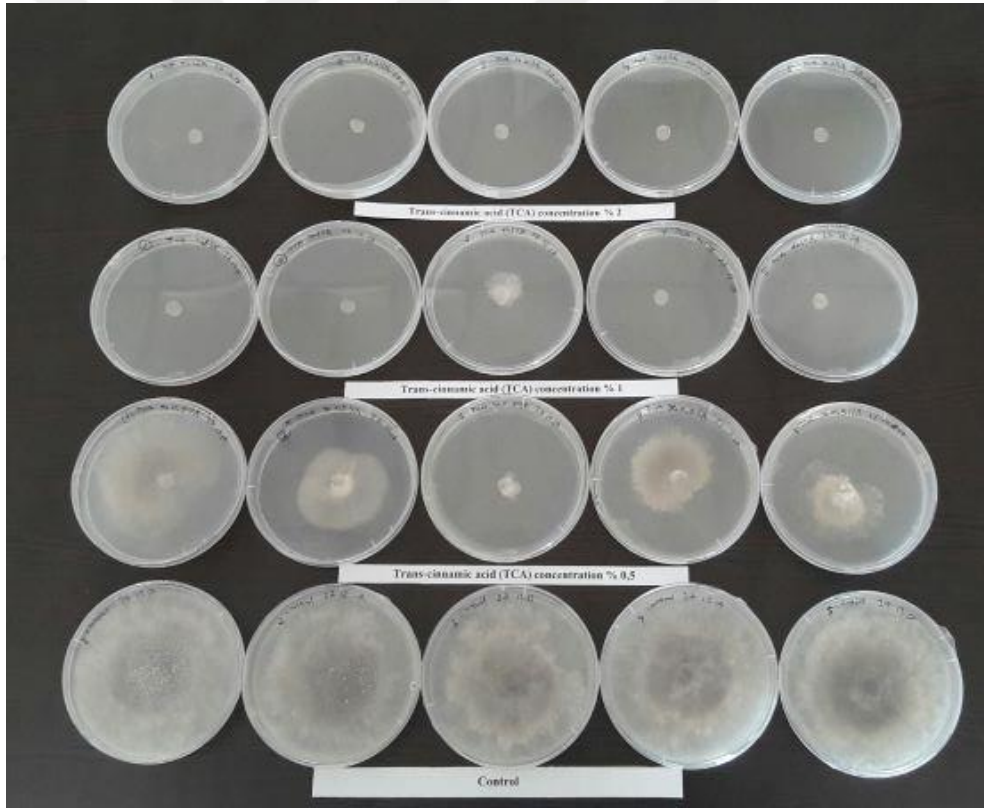
Çalışma sonunda petri deneylerinde TCA, bakteri supernatantı ve kontrol arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($F=221,564$, $df=7$; $P<0.05$). En güçlü antifungal aktivite TCA'nın tüm konsantrasyonlarında görülmüştür. Bununla beraber TCA'nın farklı konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır. TCA'lı besi ortamlarında *B. cinerea*'nin misel gelişimi 0.09 cm^2 ile 1.94 cm^2 arasında değişmektedir (Şekil 4.1.). *X. szentirmaii* supernatantı içeren petrilerde misel gelişimleri ise 3.78 cm^2 ile 42.97 cm^2 arasındadır. Hazir et al. (2016) kendi çalışmasının sonuçlarında da bakteri süpernatantının konsantrasyonu ile antifungal etki arasında paralellik olduğunu belirtmiştir. Tüm bakteri konsantrasyonları istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmuştur. Bununla beraber Xz2 (42.97 cm^2) ile kontrol grubu (44.41 cm^2) arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 4.1.; Şekil 4.1.).

Çizelge 4.1. Tüm deney gruplarında ortalama misel gelişimi.

Deney Grupları	Bitki sayısı	Ortalama misel gelişimi (cm^2)
Kontrol	12	44,41
Xz (%2)	12	42,98
Xz (%5)	12	26,79
Xz (%7)	12	7,61
Xz (%10)	12	3,78
Tca (%0.5)	12	1,95
Tca (%1)	12	0,23
Tca (%2)	12	0,09



Şekil 4.1. Petri deney sonuçları.

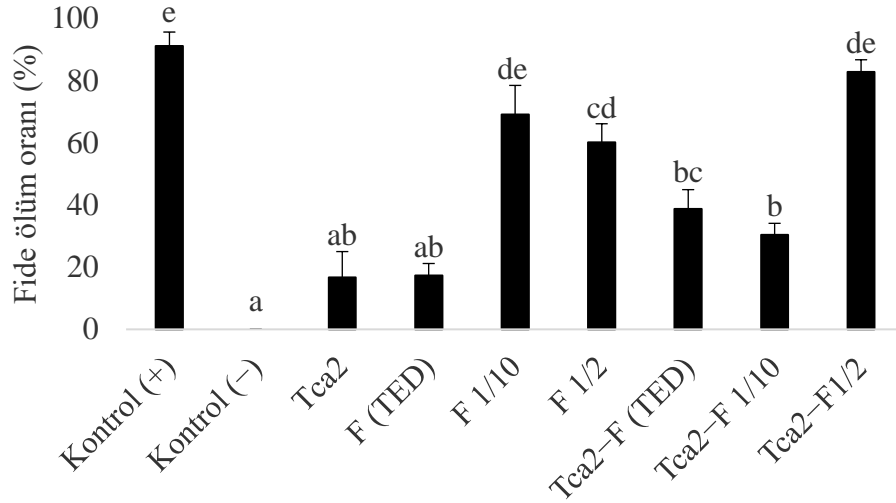


Şekil 4.2. TCA içeren besi ortamında *B. cinerea*'nın 5 günlük gelişimi.

4.2. SAKSI DENEYLERİ

Çalışmanın bu bölümünde *B. cinerea* ile bulaşık marul fidelerine TCA ve fungusit farklı konsantasyonlarda uygulamaları yapılmıştır. Fide ölümlerinin en az olduğu ve hastalığın

en az görüldüğü grupların TCA ve fungusit (TED) olduğu görülmüştür TCA ve fungusit (TED) uygulanan saksılardaki marul fidelerinin ölüm oranları sırasıyla %16.67 ve %17.26'dır. Bu iki deney grubunda fide ölüm oranları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($F=31,237$, $df=8$, $P<0.05$). TCA (2%)- $F^{1/2}$ ve TCA (2%)-TED gruplarındaki fide ölüm oranları ise sırasıyla %30.35 ve % 38.69'dur. Bu iki deney grubunda ise değerler birbirine yakın olmasına karşın aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu durumun gruplardaki örnek sayısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer gruplardaki fide ölüm oranları sırayla $F^{1/2}$ için %60.11, $F^{1/10}$ için %69.04 ve TCA (2%)- $F^{1/10}$ için %82.73'tür. Pozitif kontroldeki fidelerin %91,07'si de *B. cinerea* ile hastalanmıştır. Negatif kontrol grubunda ise fidelerin hepsi sağlıklıdır (Şekil 4.3.). TCA (2%) ile fungusitin beraber uygulandığı deney gruplarında sinerjistik bir etki gözlenememiştir. Yapılan ki-kare analizlerinde tüm kombinasyonlarda yalnızca antagonistik etki görülmüştür (Çizelge 4.2). Şekil 4.4'te pozitif kontrol ile TCA (2%) uygulanmış saksılardaki genel görünüm, Şekil 4.5'te ise TCA (2%) ile TCA (2%)'nin Fungusit^{1/2} ile beraber uygulanan saksılardaki durum verilmiştir.



Şekil 4.3. Saksı denemesi sonuçları.



Şekil 4.4. Pozitif kontrol grubu (Soldaki) ve %2'lik TCA (Sağdaki) grubu.



Şekil 4.5. %2'lik TCA (Soldaki) ve %2'lik TCA-Fungusit^{1/2} (Sağdaki).

Çizelge 4.2. TCA ile fungusit kombinasyonları arasındaki etkileşim durumu.

İkili kombinasyonlar	ki-kare değeri	Etkileşim durumu
Tca2-F rr	17,94	Antagonistik
Tca2-F ¹ / ₁₀	64,24	Antagonistik
Tca2-F ¹ / ₂	5,67	Antagonistik

Bu çalışmada TCA ve *X. szentirmaii* süpernatantının *B. cinerea* üzerine etkinliği test edilmiştir. Elde edilen verilere göre dört farklı sonuç ortaya çıkmaktadır. Buna göre; (I) TCA veya *X. szentirmaii* süpernatantı in vitro koşullarda *B. cinerea*'nın gelişimini inhibe edebilmektedir; (II) Saksı deneylerinde TCA (%2)'nin sentetik fungusitin tavsiye edilen dozu kadar etkili olduğu görülmüştür; (III) TCA marul fidelerinde herhangi bir fitotoksisite meydana getirmemiştir; (IV) TCA ve fungusit beraber uygulandığında yalnızca antagonistik etki elde edilmiştir.

TCA ve *Xenorhabdus* bakteri süpernatantının güçlü antifungal etkisi önceki çalışmalarda pek çok defa ortaya konmuştur (Chen et al., 1994; Fang et al., 2011; Bock et al., 2014; Hazir et al., 2016, Hazir et al., 2017). Bizim çalışmada da benzer şekilde TCA ve *X. szentirmaii* süpernatantın *B. cinerea*'yı etkili bir şekilde baskı altına aldığı tespit edilmiştir. Bununla beraber elimizdeki veriler incelendiğinde TCA, *X. szentirmaii* süpernatantına göre daha güçlü bir antifungal etki ortaya koymaktadır. Bunun sebebinin ürün içerisindeki saf TCA (>%98) miktarının yüksek olmasıdır. *Photorhabdus* süpernatantı içerisinde TCA oranı ise bu kadar yüksek değildir Hazir et al. (2016). Bununla beraber Hazir et al. (2016) *Xenorhabdus* süpernatantlarının *Photorhabdus* süpernatantlarına göre antifungal olarak daha etkili olduğunu söylemiştir. Farklı *Xenorhabdus* türleri içerisinde en iyi antifungal etkinin *X. szentirmaii* tarafından ortaya konduğunu bildirmiştir. Bu bilgiye göre çalışmamızda sadece *X. szentirmaii* türü kullanılmıştır. Ayrıca kullandığımız *X. szentirmaii* izolatı Hazir et al. (2016)'nin çalışmasındaki izolat ile aynıdır. Petri denemelerinde fungusun misel gelişimini en iyi baskılayan süpernatant konsantrasyonunun %10'luk olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki hedef patojen *B. cinerea*'nın farklı *Xenorhabdus* türlerine karşı hassas olduğu Chen et al. (1994) ve Fang et al. (2011; 2014) tarafından önceki çalışmalarda ortaya konmuştur. Buna ilaveten Fang et al. (2011; 2014) *Xenorhabdus* türlerinin süpernatantının yalnızca *B. cinerea*'nın misel gelişimini baskılamadığını ayrıca domates bitkisi üzerinde koruyucu ve iyileştirici etkiye sahip olduğunu bildirmiştir.

Daha önce Hazir et al. (2016) TCA'nın *Fusicladium carpophilum*, *F. effusum*, *Monilinia fructicola*, *Glomerella cingulata* ve *Armillaria tabescens* funguslarına karşı güçlü antifungal etkisini göstermiştir. Bu çalışma ile ilk defa TCA'nın *B. cinerea* üzerine etkisi test edilmiştir.

Yapılan çalışmada TCA'nın marul fideleri üzerine herhangi bir fitotoksik etkisi gözlenmemiştir. Önceki çalışmalarda kendi verilerimizi desteklemektedir. Hazir et al. (2016) TCA'nın patlıcan (*Solanum melongena*), biber (*Capsicum annuum*), tütün (*Nicotiniana tabacum*), domates (*Solanum lycopersicum*), şeftali (*Prunus persica*) ve pekan cevizi (*Carya illinoensis*)'nde de fitotoksisite meydana getirmediğini bildirmiştir. *X. bovienii* bakteri süpernatant ise domates meyvelerinde herhangi fitotoksisite yapmamıştır (Fang et al., 2011). Ancak saksı denemelerinde *X. szentirmaii* süpernatantını kullanmadığımız için *Xenorhabdus*'un marul üzerindeki etkisiyle ilgili bir veri elde edilememiştir. Bu konuda Fang et al. (2011) bakteri izolatu, patojenin türü, süpernatantın hangi çözücü ile çözdürüldüğünün ve bakterinin üretildiği koşullar gibi parametrelerin fitotoksisteyi etkileyebileceğini ileri sürmektedir.

Yaptığımız bu çalışmada *B. cinerea*'ya karşı tavsiye edilen sentetik bir fungusit ile TCA arasında sadece antagonistik bir etki gözlenmiştir. Herhangi bir sinerjistik etki elde edilememiştir. Bu durumun TCA ile fungusit arasında oluşturulan kombinasyon sayısının azlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü Hazir et al. (2017) TCA ile bazı fungusitler (Elast®, PropiMax®, Regalia®, Prophyte® ve Serenade®) arasında *Monilinia fructicola*'ya karşı sinerjistik bir etki gözlemlemiştir. Kendi sonuçlarımıza başka bir açıdan baktığımızda TCA'nın *B. cinerea*'ya karşı tek başına kullanımı yeni bir seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. Hazir et al. (2016) bu konuda TCA'nın sentetik fungusitler kadar kolay uygulanabilen, fiyat ve pazar yönünden fungusitler ile rekabet edebilen bir noktaya gelmesi gerektiğine dikkat çekmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Petri deneylerinin sonuçları TCA ve *X. szentirmaii* süpernatantının güçlü antifungal özelliğini açıkça göstermektedir. Bu antifungal metabolitlerin *B. cinerea*'a karşı kullanım potansiyelinin sera ve alan çalışmalarıyla ortaya konması gereklidir. Sentetik fungusitlerin daha düşük dozları ile TCA'nın beraber uygulama yollarının daha iyi ortaya konması gerekmektedir. Beraber uygulamalarda sinerjistik bir etkinin ortaya çıkarılması en önemli noktadır. Daha az miktarda fungusit kullanımı doğaya bırakılan ilaç miktarını azaltacaktır. Bu durum hem üretici için ekonomik olacaktır. TCA ile beraber uygulamalar patojenlerin direnç kazanmasını da engellemektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbott W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Aydoğdu, N., Büschbell, T., & Kural, İ. (2001). TELDOR SC 500- Yeni bir kimyasal grubun ilk ürünü. İçinde *Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*. (ss. 586-589).
- Baykal, N. (1997). *Sebze Fungal Hastalıkları*. Bursa Uludađ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitapları.
- Bock, C. H., Shapiro-Ilan, D. I., Wedge, D., & Cantrell, C. H. (2014). Identification of the antifungal compound, transcinnamic acid, produced by *Photorhabdus luminescens*, a potential biopesticide. *Journal of Pest Science*, 87, 155-162.
- Bode, H. B. (2009). Entomopathogenic bacteria as a source of secondary metabolites. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2, 224-230.
- Boemare, N.E. & Akhurst, R.J. (2006). *The genera Photorhabdus and Xenorhabdus*. The Prokaryotes. (pp. 451-494). Berlin. Springer.
- Boszormenyi, E., Ersek, T., Fodor, A., Fodor, A. M., Földes, L. Sz., Hevesi, M., Hogan, J. S., Katona, Z., Klein, M. G., Kormany, A., Pekar, S., Szentirmai, A., Sztaricskai, F., & Taylor R. A. J. (2009). Isolation and activity of *Xenorhabdus* antimicrobial compounds against the plant pathogens *Erwinia amylovora* and *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 746-759.
- Chen, G., Dunphy, G. B., & Webster, J. M. (1994). Antifungal activity of two *Xenorhabdus* species and *Photorhabdus luminescens*, bacteria associated with the nematodes *Steinernema* species and *Heterorhabditis megidis*. *Biological Control*, 4, 157-162.
- Ciche, T. A., Kim, K. S., Kaufmann-Daszczuk, B., Nguyen, K. C. Q., & Hall, D. H. (2008). Cell invasion and matricide during *Photorhabdus luminescens* transmission by *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 2275-2287.
- imen H. (2019). ‘*Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterileri tarafından üretilen sekonder metabolitlerin çeşitli insan ve bitki patolenlerine karşı etkinliklerinin araştırılması’,

- Doktora tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Aydın, Türkiye.
- Delen, N., Yıldız, M., & Maraite, H. (1984). Benzimidazole and Dithiocarbamate resistance of *Botrytis cinerea* on greenhouse crops in Turkey. *Mededelingen in Viticulture ed Enologia Universita Torino*, 9, 278-279.
- Demir, M. (2009). ‘Marulda *Botrytis cinerea*’ya karşı in vitro koşullarda biyolojik savaşım olanakları üzerine bir araştırma’, Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Tekirdağ, Türkiye.
- Fang, X. L., Li, Z. Z., Wang, Y. H., & Zhang, X. (2011). In vitro and in vivo antimicrobial activity of *Xenorhabdus bovienii* YL002 against *Phytophthora capsici* and *Botrytis cinerea*. *Journal of Applied Microbiology*, 111(1), 145–154.
- Fang, X., Zhang, M., Tang, Q., Wang, Y., & Zhang, X. (2014). Inhibitory effect of *Xenorhabdus nematophila* TB on plant pathogens *Phytophthora capsici* and *Botrytis cinerea* in vitro and in planta. *Scientific Reports*, 4, 4300.
- Forst, S., Dowds, B., Boemare, N., & Stackebrandt, E. (1997). *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. bugs that kill bugs. *Annual Review of Microbiology*, 51, 47-72.
- Forst, S., & Clarke, D. (2002). *Bacteria-nematode symbiosis*. Entomopathogenic Nematology. (pp. 57-77). Newyork, CABI Publishing.
- Givaudan, A., Baghdiguan, S., Lanois, A., & Boemare, A. N. (1995). Swarming and swimming changes concomitant with phase variation in *Xenorhabdus nematophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61, 1408–1413.
- Griffin, C. T., Boemare, N. E., & Lewis, E. E. (2005). Biology and behavior. *Nematodes as Biocontrol Agents*. (pp. 47–64). Newyork, CABI Publishing.
- Gülcü B., Çimen H., Ramalingam K. R. & Hazır S. (2017). Entomopathogenic nematodes and their mutualistic bacteria: their ecology and application as microbial control agents. *Biopesticide International*, 13(2), 79-112.
- Gülcü, B., Hazır, S., & Kaya, H. K. (2012). Scavenger deterrent factor (SDF) from symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 3, 326-333.

- Hazır, S., Shapiro-Ilan, D. I., Bock, C. H., & Leite, G. (2018). Thermo-stability, dose effects and shelf-life of antifungal metabolite-containing supernatants produced by *Xenorhabdus szentirmaii*. *European Journal of Plant Pathology*, 150, 297-306.
- Hazır S., Shapiro-Ilan D.I., Bock C.H., & Leite L.G. (2017). Trans-cinnamic acid and metabolites synergize the potency of some commercial fungicides, *Journal of Invertebrate Pathology*, 145, 1–8.
- Hazır, S., Shapiro-Ilan, D. I., Bock, C. H., Hazır, C., Leite, L. G., & Hotchkiss, M. W. (2016). Relative potency of culture supernatants of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* spp. on growth of some fungal phytopathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 146, 369–381.
- Houard, J., Aumelas, A., Noel, T., Pages, S., Givaudan, A., Fitton- Ouhabi, V., Villain-Guillot, P., & Gualtieri, M. (2013). Cabanillasin, a new antifungal metabolite, produced by entomopathogenic *Xenorhabdus cabanillasii* JM26. *Journal of Antibiotics*, 66, 617–620.
- Hu, K. J., Li, J. X., Li, B., Webster, J. M., & Chen, G. H. (2006). A novel antimicrobial epoxide isolated from larval *Galleria mellonella* infected by the nematode symbiont, *Photorhabdus luminescens* (Enterobacteriaceae). *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 14, 4677-4681.
- Lacey, L. A., & Georgis, R. (2012). Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of Nematology*, 44, 218–225.
- Lewis, E.E., & Clarke, D. J. (2012). Nematode parasites and entomopathogens. In *Insect Pathology* (pp.395-424). Cambridge. Academic Press.
- Kurt Ş. (2016). *Bitki Fungal Hastalıkları*. Ankara. Akademisyen Kitabevi.
- Martens, E.C., & Goodrich-Blair, H. (2005). *The Steinernema carpocapsae* intestinal vesicle contains a subcellular structure with which *Xenorhabdus nematophila* associates during colonization initiation. *Cell Microbiology*, 7, 1723-1735.
- Ng, K., & Webster, J. M. (1997). Antimycotic activity of *Xenorhabdus bovienii* (Enterobacteriaceae) metabolites against *Phytophthora infestans* on potato plants. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 19, 125-132.

- San-Blas, E., Carrillo, Z., & Parra, Y. (2012). Effect of *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* bacteria and their exudates on *Moniliophthora roreri*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45, 1950-1967.
- Shapiro-Ilan, D. I., Bock, C. H., & Hotchkiss, M. W. (2014). Suppression of pecan and peach pathogens on different substrates using *Xenorhabdus bovienii* and *Photorhabdus luminescens*. *Biological Control*, 77, 1–6.
- Shapiro-Ilan, D. I., Reilly, C. C., & Hotchkiss, M. W. (2009). Suppressive effects of metabolites from *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* spp. on phytopathogens of peach and pecan. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 42, 715-728.
- Shi, D., An, R., Zhang, W., Zhang, G., & Yu, Z. (2017). Stilbene derivatives from *Photorhabdus temperata* SN259 and their antifungal activities against phytopathogenic fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 60-65.
- Ulug, D., Hazir, S., Kaya, H.K. & Lewis E.E. (2014) Natural enemies of natural enemies: The potential top-down impact of predators on entomopathogenic nematode populations. *Ecological Entomology*, 39, 462–469.
- Webster, J. M., Chen, G., Hu, K., & Li, J. (2002). Bacterial metabolites. In *Entomopathogenic Nematology* (pp. 99–114). Newyork. CABI Publishing.
- Yang, X., Qiu, D., Yang, H., Liu, Z., Zeng, H., & Yuan, J. (2011). Antifungal activity of xenocoumacin 1 from *Xenorhabdus nematophilus* var. *pekingensis* against *Phytophthora infestans*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27, 523-528.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı :Nejat ADLIĞ
Doğum Tarihi ve Yeri :14.08.1992 - Seyhan
Yabancı Dili :İngilizce
E-posta :nadlig_01@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Biyoloji	Düzce Üniversitesi	2019
Lisans	Biyoloji	Düzce Üniversitesi	2016
Lise		Ceyhan Anadolu Lisesi	2010

YAYINLAR

Adlığ, N. & Gülcü, B. (2019) 'Trans-cinnamik asit ve *Xenorhabdus szentirmaii* metabolitlerinin bitki patojeni fungus *Botrytis cinerea* mücadelesinde kullanımı', *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7, 2000-2008.