



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



**BAZI BAKTERİYEL FORMULASYONLARIN  
HIYARDA *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV.  
*LACHRYMANS*'A VE BİTKİ GELİŞİMİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Yüksek Lisans Tezi**

Aslı AKBIYIK

Bitki Koruma Anabilim Dalı

İzmir

2022





T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BAZI BAKTERİYEL FORMULASYONLARIN  
HIYARDA *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV.  
*LACHRYMANS*'A VE BİTKİ GELİŞİMİNE ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

Aslı AKBIYIK

Danışman: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Bitki Koruma Anabilim Dalı  
Fitopatoloji Yüksek Lisans Programı

İzmir  
2022



# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Bazı Bakteriyel Formülasyonların Hıyarda *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’a ve Bitki Gelişimine Etkisinin Araştırılması**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

07 / 01 / 2022

Aslı AKBIYIK





**ÖZET****BAZI BAKTERİYEL FORMULASYONLARIN HIYARDA  
PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. LACHRYMANS'A VE BİTKİ  
GELİŞİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

AKBIYIK, Aslı

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Ocak 2022, 80 sayfa

Bu tez çalışmasında hıyar yetiştiriciliğinde önemli ürün kayıplarına yol açan bakteriyel köşeli yaprak lekesi hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*)'a karşı daha önceden yürütülmüş olan çalışmalardan biyolojik savaş açısından başarılı bulunan ve hıyar yetiştiriciliği sırasında bitki gelişimi ve verimini artırdıkları saptanan altı farklı yararlı bakterileri izolatından elde edilen liyofilize ıslanabilir toz formulasyonlar ile çalışılmıştır. Altı farklı biyoformulasyonun farklı doz serileri teksele ve kombinasyon halinde *in vivo* koşullarda, saksı denemeleriyle, bitki büyüme odası koşullarında, *Psl*'ye karşı biyokontrol açısından etkisi değerlendirilmiştir. Tohum uygulaması biçiminde verilen biyoformulasyonlardaki bakterilerin bitkide kolonizasyonunun izlenmesi de hedeflenmiştir. Sonuç olarak; *Psl* için *in vivo* saksı denemeleri sonucunda 41 nolu *P. putida*, 83 nolu *P. agglomerans*, 99 nolu *B. thuringiensis*, 101 nolu *P. putida* 103 nolu *P. fluorescens* 112 nolu *P. fluorescens* olarak tanımlanan altı farklı bakteriyel formulasyonlar arasından en başarılı uygulamanın 83 nolu *P. agglomerans* izolatı olduğu ve bunu 99 nolu *B. thuringiensis* izolatının izlediği saptanmıştır. Özellikle 83 ve 99 nolu bakteriyel formulasyonların hıyarda bitki büyüme parametrelerine de olumlu etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır. Formulasyonları yapılan bakteri izolatlarının da bitki dokularında başarıyla kolonize olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, hıyar, biyoformülasyon, yararlı bakteriler, biyolojik mücadele.



**ABSTRACT****THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SOME BACTERIAL FORMULATIONS ON *PSEUDOMONAS SYRINGAE* PV. *LACHRYMANS* AND PLANT GROWTH OF CUCUMBER PLANTS**

AKBIYIK, Asli

MSc in Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

January 2022, 80 pages

In this thesis, it had been studied with the freeze-dried wettable powder formulations obtained from six different beneficial bacterial strains, which were found successful during previous studies for biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*), the causal agent the bacterial angular leaf spot disease, and also promotion of plant growth and yield of cucumber. The effects of different dose series of six different bioformulations single and in combination at *in vivo* conditions, in terms of biocontrol against *Psl* has been evaluated by pot experiments under climate room conditions. It was also aimed to monitor the colonization of the bacteria in the bioformulations applied by seed application in the plant tissues. Consequently, as a result of *in vivo* pot experiments for *Psl*, it has been determined that the most successful application was *P. agglomerans* strain 83, followed by *B. thuringiensis* strain 99 among the six different bacterial formulations defined as *P. putida* strain 41, *P. agglomerans* strain 83, *B. thuringiensis* strain 99, *P. putida* strain 101, *P. fluorescens* strain 103 and *P. fluorescens* strain 112. It was concluded that formulations obtained from bacterial strains 83 and 99 especially had a positive effect on plant growth parameters in cucumber. It has also been observed that the bacterial strains that were formulated successfully colonized in the plant tissues.

**Keywords:** *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, cucumber, bioformulation, beneficial bacterias, biological control.



## ÖNSÖZ

Ülkemiz, hıyar üretiminde dördüncü sırada yer almaktadır. Örtü altı hıyar yetiştiriciliğinde pestisitler ve kimyasal gübreler yoğun olarak kullanılmaktadır. Bu kimyasalların kullanımı güvenli gıda teminini güçleştirmekte ve ürünlerimizin ihracatında sorun yaşanmasına neden olmaktadır. Son yıllarda, iyi tarım uygulamaları kapsamında; bitki gelişimini arttırma ve bitki hastalık ve zararlılarıyla biyolojik mücadelede yararlı bakteri preparatlarının kullanımı artmaktadır.

Örtü altı hıyar yetiştiriciliğinde sorun olan, önemli ürün kayıplarına yol açan hıyar bakteriyel köşeli yaprak lekesi hastalığına karşı daha önce yürütülen Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde yürütülen ve sonuçlanan TÜBİTAK COST 1110 505 no.lu projesinde biyolojik savaş açısından başarılı bulunan ve hıyar yetiştiriciliği sırasında bitki gelişimi ve verimini artırdıkları saptanan yararlı bakteriyel endofitlerin pratiğe aktarılmasını sağlamak amacıyla 117 O820 nolu TÜBİTAK - 1003 proje çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu yüksek Lisans tez çalışması da TÜBİTAK projesi kapsamında yürütülmüştür. Bu nedenle, TÜBİTAK'a, lisansüstü tez çalışmasına sağladığı bu katkı ve desteklerden ötürü içten teşekkür ederiz.

İZMİR

07 / 01 / 2022

Aslı AKBIYIK



**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK .....	ii
KABUL ONAY SAYFASI .....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xxiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	9
2.1 Hastalık Etmeni ( <i>PsI</i> ) İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	9
2.2 Hastalık Etmeni ( <i>PsI</i> )'nin Özellikleri İle İlgili Yapılan Çalışmalar .....	9
2.3 Hastalık Etmeni ( <i>PsI</i> )'nin Yaşam Döngüsü İle İlgili Yapılan Çalışmalar.....	13

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
2.4 Hastalık Mücadelesi İle İlgili Yapılan Çalışmalar .....	14
2.4.1 Kültürel önlemler ile ilgili yapılan çalışmalar .....	14
2.4.2 Kimyasal mücadele ile ilgili yapılan çalışmalar .....	15
2.4.3 Biyolojik mücadele ile ilgili yapılan çalışmalar .....	16
2.5 Yararlı Bakteri Formülasyonlarının Geliştirilmesi Konusunda Yapılan Çalışmalar .....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	23
3.1 Materyal .....	23
3.1.1 Çalışmada kullanılan test bitkisi .....	23
3.1.2 Çalışmada kullanılan test patojeni .....	23
3.1.3 Çalışmada kullanılan bakteriyel formülasyonlar .....	24
3.1.4 Çalışmada kullanılan besi yerleri .....	25
3.1.5 Çalışmada kullanılan yetiştirme ortamı ve koşulları.....	26
3.2 Yöntem.....	27
3.2.1 Bakteriyel Formülasyonlarla <i>In Vivo</i> Testler .....	27
3.2.2 <i>In Vivo</i> testlerden başarıyla geçen bakteriyel formülasyonların bitki içinde kolonizasyonunun izlenmesi .....	35

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.2.3 İstatistiksel analizler .....	38
4. BULGULAR.....	39
4.1 Biyoformulasyonlarla <i>In vivo</i> Bitki Büyüme Odası Koşullarında Saksı Denemeleri Sonuçları .....	39
4.1.1 Bakteriyel formulasyonların <i>PsI</i> 'a etki testi sonuçları.....	39
4.1.2 Bakteriyel formulasyonların bitki gelişimine etki testi sonuçları.....	42
4.1.3 Seçilen formulasyonların teksel ve kombinasyon olarak <i>PsI</i> 'ye etki denemesi sonuçları.....	48
4.2 <i>In vivo</i> Testlerden Başarıyla Geçen Bakteriyel Formulasyonların Bitki İçinde Kolonizasyonunun İzlenmesi.....	55
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	62
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	64
TEŞEKKÜR .....	79
ÖZGEÇMİŞ .....	80

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. <i>Psl</i> 'nin hıyar yapraklarında oluşturduğu leke, yırtılma, ölüm biçimindeki hastalık belirtileri. ....	6
2.1. <i>Psl</i> 'nin hıyar yapraklarında oluşturduğu belirti a) damarlarla sınırlanmış alanda suda haşlanmış belirti b) nekrotik yaprak belirtisi ve bu alanlardaki yırtılmalar c) yaprak sapında bakteriyel akıntı. ....	11
2.2. <i>Psl</i> 'nin hıyar meyvelerinde ve yapraklarında oluşturduğu hastalık belirtileri a) solgunluk belirtisi ve büyüme ucunun enfeksiyonu b) Meyvede oluşan çürüme belirtisi. ....	12
3.1. Beith Alpha hıyar ( <i>Cucumis sativus L.</i> ) tohumu ambalajı. ....	23
3.2. <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lacrymans</i> ( <i>Psl</i> ) izolatının King B besiyerinde koloni gelişimi. ....	24
3.3. <i>In vivo</i> denemelerinde kullanılan steril torf ile doldurulmuş viyollerin ve tohum ekiminin görünümü. ....	26
3.4. Tohumların yüzey dezenfeksiyonu uygulaması (Tohumlar 1,5 dakika NaOCI'de bekletilip sonrasında 1'er dakikalık saf durulama suyunda 2 kere durularak, kurutma kağıtlarına alınmıştır.) ....	27
3.5. Carboxy Methyl Cellulose (%1'lik CMC) görünümü. ....	28
3.6. Biyoformülasyonlarla tohum kaplama aşaması ve uygulama görmüş tohumların 30 dakika süreyle 121 rpm'de çalkalayıcıdaki bekletilmesi. ....	28

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.7. <i>In vivo</i> denemelerinde kullanılan steril torf ile doldurulmuş saksıların ve iki gerçek yapraklı aşamaya gelen hıyar fidesinin şaşırtma görünümü.....	29
3.8. Yeşil aksam uygulaması (bitki başına 10 ml olacak şekilde uygulanmıştır).....	29
3.9. Kök içirme uygulaması (bitki başına 20 ml olacak şekilde içirme biçiminde uygulanmıştır).....	29
3.10. <i>Psl</i> patojeninin yoğunluğunun spektrofotometrede ölçümü. ....	30
3.11. <i>Psl</i> süspansiyonun yapraklara püskürtme aşaması. ....	30
3.12. <i>Psl</i> inokulasyonunu takiben 3 gün süreyle yüksek oransal nemin sağlanması.....	30
3.13. <i>Psl</i> 'nin oluşturduğu hastalık şiddetinin belirlenmesi için kullanılan 0-4 skalasının (0: belirti yok, 1: 0 > %25, 2: %25 > %50, 3: %50 > %75, 4: %75 > %100) yapraktaki görünümleri. ....	31
3.14. Yeşil Aksam yaş ağırlık tartımları. ....	32
3.15. Kök yaş ağırlık tartımları.....	32
3.16. 68 °C'de etüvde 72 h kurutma işlemi.....	32
3.17. Yeşil Aksam kuru ağırlık tartımları.....	33
3.18. Kök kuru ağırlık tartımları.....	33

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.19. Hıyar tohumunun gelişim aşamaları. ....	36
3.20. Bitki içerisinde kolonizasyonunu belirlemek için kullanılan yöntemin aşamalarından bir görünüm; a) tohum uygulama aşaması, b) çalkalayıcıda karıştırılma aşaması, c) köklere içirme uygulaması sonrasındaki aşama, d-e) yeşil aksama püskürtme uygulamasından sonraki aşama, f-g) bitki ekstraksiyonundan seyreltme serileri hazırlanma aşaması. ....	37
4.1. Bitki büyüme odası <i>in vivo</i> deneme görünümü. ....	39
4.2. 41 no'lu izolatin <i>in vivo</i> 'da Psl'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması. ....	40
4.3. 83 no'lu izolatin <i>in vivo</i> 'da Psl'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması. ....	41
4.4. 99 no'lu izolatin <i>in vivo</i> 'da Psl'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması. ....	41
4.5. 101 no'lu izolatin <i>in vivo</i> 'da Psl'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması. ....	41
4.6. 103 no'lu izolatin <i>in vivo</i> 'da Psl'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması. ....	42
4.7. 112 no'lu izolatin <i>in vivo</i> 'da Psl'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması. ....	42
4.8. 41 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi. ....	44

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.9. 41 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi. ....	45
4.10. 83 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.....	45
4.11. 83 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi. ....	45
4.12. 99 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.....	46
4.13. 99 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi. ....	46
4.14. 101 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.....	46
4.15. 101 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi. ....	47
4.16. 103 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.....	47
4.17. 103 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi. ....	47
4.18. 112 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.....	48
4.19. 112 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi. ....	48
4.20. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> 'ın $10^7$ uygulama dozunun yeşil aksamd Psl gelişimine etkisi. ....	49
4.21. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> 'ın $10^7$ uygulama dozunun Psl varlığında kök gelişimine etkisi. ....	50
4.22. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> 'ın $10^8$ uygulama dozunun yeşil aksamda Psl gelişimine etkisi. ....	50

## ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.23. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> 'ın $10^8$ uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi. ....	50
4.24. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> 'ın $10^9$ uygulama dozunun yeşil aksamda <i>Psl</i> gelişimine etkisi. ....	51
4.25. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> 'ın $10^9$ uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi. ....	51
4.26. 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> $10^7$ uygulama dozunun yeşil aksamda <i>Psl</i> gelişimine etkisi. ....	51
4.27. 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> $10^7$ uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi.....	52
4.28. 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> $10^8$ uygulama dozunun yeşil aksamda <i>Psl</i> gelişimine etkisi. ....	52
4.29. 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> $10^8$ uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi.....	52
4.30. 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> $10^9$ uygulama dozunun yeşil aksamda <i>Psl</i> gelişimine etkisi. ....	53
4.31. 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> $10^9$ uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi.....	53
4.32. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> ve 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> $10^7$ uygulama dozunun yeşil aksamda <i>Psl</i> gelişimine etkisi. ....	53

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.33. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> ve 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> 10 <sup>7</sup> uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi. ....	54
4.34. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> ve 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> 10 <sup>8</sup> uygulama dozunun yeşil aksamda <i>Psl</i> gelişimine etkisi. ....	54
4.35. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> ve 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> 10 <sup>8</sup> uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi. ....	54
4.36. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> ve 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> 10 <sup>9</sup> uygulama dozunun yeşil aksamda <i>Psl</i> gelişimine etkisi. ....	55
4.37. 83 nolu <i>Pantoea agglomerans</i> ve 99 nolu <i>Bacillus thuringiensis</i> 10 <sup>9</sup> uygulama dozunun <i>Psl</i> varlığında kök gelişimine etkisi. ....	55
4.38. 83, 99 ve 112 nolu bakteriyel preparatların kolonizasyonunun izlenmesi. ....	56

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Hıyarım bilimsel sınıflandırılması .....	1
1.2. Türkiye'de 2018 yılında, meyvesi için yetiştirilen sebzelerin üretim miktarları .....	1
1.3. 100 g taze hıyar meyvesinin kimyasal ve besin içeriği .....	2
1.4. Hıyar üretiminde lider ülkelerin üretim miktarları .....	2
1.5. Türkiye'de yıllara göre hıyar üretim miktarları .....	3
1.6. Dünyada hıyar yetiştiriciliğinde ürün kayıplarına neden olan önemli fungal, viral ve bakteriyel etmenlerden bazıları .....	4
2.1. <i>Psl</i> etmeninin taksonamik sınıflandırılması .....	9
3.1. Çalışmada hıyarda bakteriyel köşeli yaprak lekesi hastalık etmenine ( <i>Psl</i> ) karşı etkisi araştırılan liyofilize WP bakteriyel formülasyonlar .....	25
3.2. King B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları .....	25
3.3. Triptik Soya Agar (TSA) genel besiyeri ve yararlı bakteri'lere Rifamycin (200 ppm)'e dayanıklılık kazandırılması ve kolonizasyonun incelenmesi için gerekli kimyasallar ve miktarları .....	26
3.4. Hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-4 skalası .....	31
3.5. Bakteriyel formülasyonların bitki içerisinde kolonizasyonunu takip etmek amacıyla uygun görülen örnek alınma zamanları .....	36

## ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Formülasyonu yapılan yararlı bakterilerin farklı doz serilerinin, teksel uygulanmaları durumunda, hıyarda bakteriyel köşeli yaprak lekesi etmeni <i>Ps1</i> 'a karşı bitki büyüme odası koşullarında <i>in vivo</i> 'da biyokontrol etkisi .....	40
4.2. Formülasyonu yapılan yararlı bakterilerin, teksel olarak, farklı doz serilerinin hıyarda bitki büyüme odası koşullarında bitki (kök ve yeşil aksam) yaş ağırlığına (biyomasa) etkisi .....	43
4.3. Formülasyonu yapılan yararlı bakterilerin, teksel olarak, farklı doz serilerinin hıyarda bitki büyüme odası koşullarında bitki (kök ve yeşil aksam) kuru ağırlığına (biyomasa) etkisi .....	44
4.4. Seçilen yararlı bakterilerin farklı doz serilerinin, teksel ve kombinasyon şeklinde uygulanmaları durumunda, hıyarda bakteriyel köşeli yaprak lekesi etmeni <i>Ps1</i> 'a karşı bitki büyüme odası koşullarında <i>in vivo</i> 'da biyokontrol etkisi .....	49
4.5. Bakteriyel formülasyonların bitki içinde kolonizasyonunun izlenmesi .....	56

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Santigrat Derece
cfu	Koloni Oluşturan Bakteri
mL	Mililitre
dk	Dakika
rpm	Rotation per minute (dakikada dönme sayısı)
µm	Mikrometre
<u>Kısaltmalar</u>	
CFU	Colony Forming Unit
CMC	Carboxymethyl Cellulose
EB	Endofitik Bakteri
f. sp.	Form Specialis
FAO	Food And Agriculture Organization
TSA	Triptik Soya Agar
IAA	İndol-3-Asetik asit
ASM	Acibenzolar S-Methyl
ISR	Uyarılmış sistemik dayanıklılık (Induced Systemic Resistance)

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
KB	King's B
NK	Negatif Kontrol
PAL	Phenylalanine Ammonia-Lyase)
PGPB	Bitki Gelişimini Artıran Bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria)
PGPR	Bitki Gelişimini Artıran Rhizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)
PK	Pozitif Kontrol
<i>Psl</i>	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>
pv.	Patovar
SAR	Sistemik Uyarılmış Dayanıklılık (Sistemic Acquired Resistance)
sp.	Species
spp.	Subspecies
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviolet
WP	Wetable Powder
YB	Yararlı Bakteri



## 1. GİRİŞ

Hıyar (*Cucumis Sativus L.*), tarihte 5000 yıldır varlığı bilinen ve orijini Hindistan olup Cucurbitales takımında yer alan, kabakgiller (Cucurbitaceae) familyasından tek yıllık bir bitkidir (Çizelge 1.1). Dünyada ve ülkemizde hem örtü altı hemde açıkta yetiştiriciliği yapılan sebze türlerinden birisidir. Orta Çağ'da Avrupa'da kültüre alınmakla birlikte 1494 yılında ilk kez Haiti'de Kolomb tarafından yetiştirilerek yeni dünyaya tanıtılmış ve pek çok ülkede kültüre alınmıştır (Robinson, 1999).

Çizelge 1.1. Hıyarın bilimsel sınıflandırılması

<b>Alem</b>	: Plantae (Bitkiler)
<b>Bölüm</b>	: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
<b>Sınıf</b>	: Magnoliopsida (İki çenekliler)
<b>Takım</b>	: Cucurbitales
<b>Familya</b>	: Cucurbitaceae (Kabakgiller)
<b>Cins</b>	: Cucumis
<b>Tür</b>	: <i>Cucumis sativus L.</i>

Türkiye'de 2018 yılında, meyvesi için yetiştirilen sebzeleri göz önünde bulundurduğumuzda en çok üretilen sebzelerin domates, karpuz, biber, hıyar ve kavun olduğu görülmektedir (Çizelge 1.2). Hıyar bu sıralamada dördüncü sırada yer almaktadır (TUİK, 2018).

Çizelge 1.2. Türkiye'de 2018 yılında, meyvesi için yetiştirilen sebzelerin üretim miktarları (TUİK, 2018)

<b>Sebze türü</b>	<b>Üretim miktarı (Ton)</b>
Domates	12.150.000
Karpuz	4.031.174
Biber	2.554.974
<b>Hıyar</b>	<b>1.848.273</b>
Kavun	1.753.942
Patlıcan	827.380
Fasulye (taze)	580.949
Kabak (sakız)	474.527
Bezelye (taze)	107.344
Balkabağı	87.207

Hıyar meyvesi kalori açısından düşük, vitamin ve mineral madde açısından zengin bir sebzedir (Çizelge 1.3). Bu özellikleri ile hıyar, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra, konserve sanayinde, turşuluk üretimde, kozmetik sanayinde ve birçok alanda ekonomik öneme sahip olmaktadır (Sevgican, 1999).

Çizelge 1.3. 100 g taze hıyar meyvesinin kimyasal ve besin içeriği

İçeriği	Miktarı
Su	%95
Enerji (cal)	15
Protein (g)	0.9
Yağ (g)	0.1
Karbonhidrat (g)	3.4
Kalsiyum (mg)	25
Fosfor (mg)	27
Sodyum (mg)	6
Potasyum (mg)	160
Vitamin A1 (UI)	250
Thiamine (mg)	0.03
Riboflavin (mg)	0.04
Niasin (mg)	0.8
Askorbik asit (mg)	11
B2 Vitamin (mg)	0.16
B6 Vitamin (mg)	0.57
C Vitamin (mg)	52

Hıyar üretiminde lider ülkelerin üretim miktarları Çizelge 1.4’de verilmiştir (FAO, 2017). Türkiye ise, Dünya’da Çin, İran ve Rusya’dan sonra en çok hıyar üretilen ülkeler arasında dördüncü sırada yer almaktadır (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.4. Hıyar üretiminde lider ülkelerin üretim miktarları (FAO, 2017)

Sıra	Ülke	Üretim miktarı (ton)
1	Çin	64.824.643
2	İran (İslam Cumhuriyeti)	1.981130
3	Rusya	1.940010
4	<b>Türkiye</b>	<b>1.827782</b>
5	Amerika Birleşik Devletleri	1.012378
6	Meksika	956005
7	Ukrayna	896280
8	Özbekistan	813591
9	İspanya	634824
10	Japonya	559500
	<b>Dünya</b>	<b>83.753.861</b>

Dünya pazarında yoğun olarak talep edilen hıyar, 2018 TÜİK verilerine göre Türkiye’de toplam 1.848.273 ton üretim yapılmış (Çizelge 1.5), bunun 1.701.735 tonu sofralık hıyar, 146.538 tonu turşuluk hıyar ve 42.631 tonu acur hıyardan oluşmaktadır (TÜİK, 2018).

Çizelge 1.5. Türkiye’de yıllara göre hıyar üretim miktarları (TÜİK, 2018)

Yıllar	Üretim miktarı (ton)	Yıllar	Üretim miktarı (ton)
2001	1.740.000	2010	1.739.191
2002	1.670.000	2011	1.749.174
2003	1.783.120	2012	1.741.878
2004	1.725.000	2013	1.754.613
2005	1.745.000	2014	1.780.472
2006	1.799.613	2015	1.822.636
2007	1.670.459	2016	1.811.681
2008	1.682.776	2017	1.827.782
2009	1.735.010	2018	1.848.273

Ekolojik koşulların uygun olması sebebiyle Türkiye’de örtü altı hıyar yetiştiriciliği özellikle kıyı bölgelerimizden Akdeniz bölgesi ve Ege bölgelerinde yapılmaktadır. Yoğun üretim sonucu Türkiye’de ve Dünyada, toprak kirliliği, toprak yorgunluğu, kontrolsüz ve gereksiz gübre kullanımı, toprak sterilizasyonu gibi sorunları beraberinde getirmektedir. Toprak kaynaklı pek çok patojenler, seralarda yetiştirilen bitkilerde hastalıklara yol açmaktadır. Bu problemleri aşmak için dünyada topraksız tarım sistemlerine yönelim hızla artış göstermektedir. Örneğin, Hollanda’da topraksız tarıma yaklaşık %75 oranında bir geçiş yapılırken; Kanada’da bu oranın tamamına yakın olduğu bildirilmektedir. Türkiye’de ise, topraksız tarım sistemleri ile üretimin yapılması 1990’lara uzanmakta ve 2004 yılı itibari ile yaklaşık 750 da alanda üretim yapıldığı bildirilmektedir (Gül vd., 2000; Gül, 2005; Tüzel vd., 2005).

Cucurbitaceae (Kabakgiller) familyasında bilinen 200’den fazla hastalık ile karşılaşmaktadır (Zitter et al., 2010). Hıyar bitkisinin verimi ve kalitesi birçok fungal, bakteriyel ve viral hastalık tarafından olumsuz yönde etkilenmektedir (Pohronezny et al., 1977). Dünyada hıyar yetiştiriciliğinde yaygın olarak görülen, fungal, viral ve bakteriyel etmenlerin bazıları Çizelge 1.6’da verilmiştir.

Çizelge 1.6. Dünyada hıyar yetiştiriciliğinde ürün kayıplarına neden olan önemli fungal, viral ve bakteriyel etmenlerden bazıları (Akköprü, (2012) ve Akbaba, (2014)'den uyarlanmıştır).

<b><u>FUNGUS</u></b>	<b><u>VİRÜS</u></b>	<b><u>BAKTERİ</u></b>
<i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>cucurbitae</i> <i>Colletotrichum orbiculare</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i> (CMV) <i>Zucchini yellow mosaic virus</i> (ZYMV)	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> <i>Xanthomonas campestris</i>
<i>Phomopsis sclerotioides</i>	<i>Cucurbit aphid-borne yellows virus</i> (CABYV)	<i>Erwinia carotovora</i> ssp. <i>Caratovora</i>
<i>Cercospora citrullina</i> <i>Corynespora cassiicola</i>	<i>Beet pseudo yellows virus</i> (BPYV) <i>Cucumber vein yellowing virus</i> (CVYV)	<i>Erwinia tracheiphila</i> <i>Agrobacterium</i> sp.
<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	<i>Cucumber yellow stunting disorder virus</i> (CYSVD)	
<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cucumerinum</i>	<i>Melon necrosis spot virus</i> (MNSV)	
<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Tobacco necrosis virus</i> (TNV)	
<i>Cladosporium cucumerinum</i>	<i>Cucumber green mottle mosaic virus</i> (CGMMV)	
<i>Didymella bryoniae</i>		
<i>Sphaerotheca fusca</i>		
<i>Erysiphe orontii</i>		
<i>Leveillula taurica</i>		
<i>Pythium</i> spp.		
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		
<i>Septoria cucurbitacearum</i>		
<i>Ulocladium cucurbitae</i>		
<i>Verticillium dahliae</i>		

Çizelge 1.6'da belirtilen bakteriyel etmenler içerisinde dünyada en yaygın görülen ve ekonomik anlamda kayıplara neden olan hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın (*PsI*) sebep olduğu Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığıdır (Raajmakers et al., 1995; Anonim, 2002; EPPO 2004).

Hıyarda bakteriyel köşeli yaprak leke hastalığı, 1915 yılında Smith and Brayn tarafından dünyada ilk defa ABD’de, bakteriyel etmen olarak tanımlanmıştır (Agiros, 2005; Türküsay, 1998; Zitter et al., 2010). İlk olarak ABD’de belirlenmesinin ardından İngiltere, Rusya, Japonya, İrlanda, İsrail, Çin ve Türkiye dâhil olmak üzere birçok Asya, Avrupa ve Afrika ülkesinde hastalığın gözlemlendiği bildirilmiştir (Bradbury, 1986).

Etmen; aerobik, gram negatif, çubuk şeklinde ve beş polar flagellaya sahip bir bakteridir. Bakterinin gelişimi için gerekli olan optimal sıcaklık aralığı 25-27 °C’dir. Maksimum 35 °C, minimum ise 1 °C’dir. Hıyar köşeli yaprak leke hastalığının oluşumunda çevre faktörlerinin, özellikle sıcaklık ve yüksek nemin çok önemli olduğu bildirilmiştir (Carsner, 1918; Türküsay, 1998; Agrios, 2005; Zitter et al., 2010). Etmenin sebep olduğu tipik büyük köşeli lezyonların, nispeten nemin %90’dan yüksek olduğu seviyelerde ortaya çıktığı bildirilmiştir (Watanabe and Ohuchi, 1983). Etmenin bitki kalıntılarında ve tohumda 32 ay kadar canlı kalabildiği tespit edilmiştir. Etmenin ekonomik öneme sahip başlıca konukçuları ise; hıyar, kavun, kabak, acur ve balkabağıdır (Agiros, 2005; Türküsay, 1998; Zitter et al., 2010).

Hıyar köşeli yaprak leke hastalığı, kotiledon, yaprak, gövde ve meyvede belirti oluşturmaktadır (Nazir vd., 2010). Öncelikle yaprak yüzeyinde küçük dairesel lekeler olarak belirti vermektedir. Ardından küçük dairesel lekeler hızlıca büyür. Bu büyüme, yaprak damarlarına kadar düzensiz bir şekilde ilerler ancak damarları aşamaması nedeniyle lekeler köşeli bir görünüm almaktadır. Enfekteli bölgeler hastalık başlangıcında suda ıslanmış gibi gözükmektedir. Suda ıslanmış gibi gözüken bu alanlar daha sonra nekroz olup, yırtılmaktadır. Yaprak yüzeyinde büyük, şekilsiz delikler oluşur (Şekil 1.1). Oluşan bu delikler hastalık için giriş kapısı oluşturarak çürükçül fungus ve bakterilerin girişini kolaylaştırmaktadır. Bunun sonucunda ise bütün meyvenin çürümesine neden oldukları saptanmıştır (Zitter et al., 2010; Agrios, 2005). Ayrıca meyvelerde dairesel, küçük ve genellikle yüzeysel lekelerin bazen doku içine kadar ilerleyerek bütün meyveyi çürüttüğü gözlenmiş olup bunun sonucunda meyve sayısında ve ağırlığında, %37 ile %40 oranlarında ürün miktarında azalmaya ve nispeten bazı hıyar meyvelerinin de pazar değerinin düşmesine neden oldukları bildirilmiştir (Pohronezny et al., 1977).



Şekil 1.1. *Psyl*'nin hıyar yapraklarında oluşturduğu leke, yırtılma, ölüm biçimindeki hastalık belirtileri.

Türkiye’de, uzun zamandan beri varlığı bilinen etmen *Psyl*'nin (Karaca ve Demir, 1988; Özaktan ve Bora, 1994b) tanımlanmasına ve mücadelesine yönelik bazı çalışmalar yapılmıştır (Karaca ve Demir, 1988; Türküsay, 1998; Özaktan ve Bora, 1994a; 1994b; Özgen vd., 2005; Aksoy, 2006). Batı Anadolu bölgesinde yapılan bir çalışmada; hastalık şiddetinin %32’ye kadar ulaştığı belirlenmiş, hastalığın yaygınlık oranının ise %30,5 olduğu saptanmıştır (Türküsay, 1998).

Hastalıkla mücadelede kültürel önlemler olarak, etmeden ari temiz tohum ve dayanıklı çeşit kullanımının yanı sıra, Cucurbitaceae (Kabakgiller) familyasına ait olmayan bitkiler ile ürün rotasyonu, hastalıklı bitki atıklarını ortamdaki uzaklaştırılması, özellikle de seralarda hıyar yetiştiriciliğinde oransal nemi %80-90’ın altına düşürmek ve vektörlerle mücadele hastalığın yayılmasını önleyebilecek en önemli başlıca kültürel önlemler arasında yer almaktadır (Türküsay ve Saygılı, 2008). Kimyasal mücadelede ise Maneb, Mancozeb ve bakırlı bileşiklerden faydalanılabileceği bildirilmektedir (EPPO, 2004; Anonim, 2002). Hastalıkla mücadelede kültürel önlemlerin her zaman istenilen sonucu verememesi, kimyasal mücadelenin ise insan sağlığı ve çevreye olan olumsuz etkileri nedeniyle bu hastalığın kontrolünde biyolojik mücadele çalışmalarının önemli bir alternatif olacağı düşünülmektedir.

Son zamanlarda biyolojik savaş kapsamında bitki gelişimini artıran bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria -PGPB-) toprak ve bitki sağlığının yönetilmesinde dikkat çekmektedir (Bashan and Holguin, 1998). Bu bakterilerin kullandıkları mekanizmalar, ekolojik nişlerinde bulunan diğer mikroorganizmalarla rekabet halinde olarak, patojenlere karşı engelleyici allelokimyasallar üreterek, patojenlere ve abiyotik strese karşı bitkide sistemik dayanıklılığı (Induce Systemic

Resistance -ISR-) uyararak olarak belirtilmektedir (Mayak et al., 2004; Nowak and Shulaev, 2003).

PGPB'lerin en çok çalışılan grubunu, rhizosferde bulunan ve kök yüzeyini kolonize eden bitki gelişimini artıran rhizobakterilerin (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR-) oluşturduğu bildirilmiştir (Kloepper et al., 1978, 1999). Bu rhizobakteriler, Indol Asetik Asit (IAA) gibi fitohormonları üreterek ve bitkide fitohormon sentezini etkileyerek doğrudan ve dolaylı olarak bitki gelişimini uyarabildikleri bildirilmiştir (Brown, 1974; Tien vd., 1979; Barbieri vd., 1986; Jacobson vd., 1994; Holland, 1997; Lazarovits and Nowak, 1997; Lee vd., 2004). Siderofor üretimi ve fosfatın çözünübilirliği aktivitesi gibi mekanizmalar ile minerallerin bitkiye alınımını kolaylaştırabilmektedirler (Davison, 1988; Murty and Ladha, 1988; Costa and Loper, 1994; Verma vd., 2001; Wakelin vd., 2004). Ayrıca don zararı ve bitki patojenlerine karşı bitki duyarlılığını düzenleyerek bitki büyüme ve gelişimini teşvik edebilmektedirler (Fredrickson and Elliot, 1985; Gagné vd., 1989; Xu vd., 1998; Schippers vd., 1990; Pirttila vd., 2004). Tüm bunların yanında antagonizm, rekabet veya bitkinin kendi savunma sistemlerinin devreye girmesini uyararak bitkilerin hastalıklara dayanıklılığını arttırarak bitki gelişimini teşvik edebilmektedirler (Compant vd., 2010).

Son yıllarda, iyi tarım uygulamaları kapsamında; bitki gelişimini arttırma ve bitki hastalık ve zararlılarıyla biyolojik mücadelede yararlı bakteri preparatlarının kullanımı artmaktadır. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarın da bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş ve bitki verimini arttırmada başarılı olan geniş bir yararlı bakteri koleksiyonu bulunmaktadır. Bu yüksek lisans tez çalışmasının ana hedefi, örtü altı hıyar yetiştiriciliğinde sorun olan, önemli ürün kayıplarına yol açan bakteriyel köşeli leke hastalık etmeni *Psl*'a karşı daha önce yürütülen projelerde biyolojik savaş açısından başarılı bulunan ve hıyar yetiştiriciliği sırasında bitki gelişimi ve verimini arttırdıkları saptanan yararlı bakterilerin pratiğe aktarılmasını sağlamaktır. Söz konusu yararlı bakteriler, bu alanda yürütülen bir başka proje kapsamında ucuz substratlar kullanılarak geniş ölçekte üretilmiş, ıslanabilir toz (WP) liyofilize formülasyonları elde edilmiş ve canlılık / raf ömrü açısından gerekli testlerden geçmiştir. Bu yüksek lisans tez çalışmasında; ülkemizin örtü altı hıyar yetiştiriciliğinde sorun olan, önemli ürün

kayıplarına yol açan bakteriyel köşeli yaprak leke hastalık etmeni olan *Psl*'a karşı biyolojik savaş açısından başarılı bulunan ve hıyar yetiştiriciliği sırasında bitki gelişimi ve verimini artırdıkları saptanan sözkonusu bakteriyel preparatların farklı doz serilerinin teksele ve kombinasyon halinde *in vivo* koşullarda, saksı denemeleriyle *Psl*'ye karşı biyokontrol açısından etkisinin, patojenin varlığında ve yokluğunda bitki gelişimine etkisinin araştırılması ve söz konusu bakteriyel preparatlardaki aktif organizmanın bitki içerisindeki kolonizasyonunun izlenmesi hedeflenmiştir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Hastalık Etmeni (*Psl*) İle İlgili Yapılan Çalışmalar

İlk araştırmacılar Smith and Brayn (1915) ABD’de, hıyarda bakteriyel köşeli yaprak lekesi etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’ı tanılamaya yönelik çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmalarını gerçekleştirirken etmenin konukçusu üzerinde oluşturduğu gözyaşı benzeri bakteriyel akıntılardan ilham alarak, Latince gözyaşı anlamına gelen “*lachrymans*” adını kullanarak etmeni ilk *Bacterium lachrymans* olarak adlandırmışlardır. Etmen sonrasında birçok kez farklı isimler almış olmakla birlikte son olarak Young and Wilkie’ tarafından 1978’de *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (*Psl*) olarak adlandırılmıştır (Bradbury, 1986). Günümüzde ise Hıyar köşeli yaprak leke hastalığı etmeni *Psl*’ın taksonomik sınıflandırması Çizelge 2.1’de yer almaktadır (Kado, 2010).

Çizelge 2.1. *Psl* etmeninin taksonomik sınıflandırılması

<b>Domain</b>	: Bacteria
<b>Şube</b>	: Proteobacteria
<b>Sınıf</b>	: Gammaproteobacteria
<b>Takım</b>	: Pseudomonadales
<b>Familiya</b>	: Pseudomonadaceae
<b>Cins</b>	: Pseudomonas
<b>Tür</b>	: <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i> ( <i>Psl</i> )

ABD’de görülen en şiddetli hastalıklardan biri olarak değerlendirilmiş olan hıyarda bakteriyel köşeli yaprak leke hastalığı günümüzde ise Japonya, Rusya, İsrail, İngiltere, İran ve Türkiye olmak üzere birçok Afrika ve Avrupa ülkelerinde görüldüğü saptanmıştır (Bradbury, 1986).

### 2.2 Hastalık Etmeni (*Psl*)’nin Özellikleri İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Hastalık etmeni olan *Psl* Cucurbitaceae (Kabakgiller) familyasına özelleşmiş olup konukçuları; hıyar (*Cucumis sativus*); karpuz (*Citrullus lanatus*); kavun, miskavunu, kış kavunu (*Cucumis melo*); lifkabağı (*Cucumis acutangulus*) şeklinde sıralanabilmektedir (Bradbury, 1986).

*Psl*'ın hıyar ve kavundan izole edildiği kolonilerin beyaz görünümlü, yavaş gelişim gösteren, saydam ve beef-ekstrakt agarda düzensiz kenarları olan dairesel koloniler oluşturduğunu ve bol miktarda yeşil floresan pigment ürettiği bildirilmiştir (Smith, 1946).

Kagiwata (1990), bazı *Psl* izolatların morfolojik özelliklerini çalışmış ve bu izolatların tümünün; gram negatif, aerobik, 5 polar kamçı bulundurup bunun sadece biri ile hareketini sağlayabildikleri, spor formu olmayan düz çubuk şeklinde ve 0,8 x 1-2 µm boyutlarında olduğunu saptanmıştır (Zitter et al., 2010).

Braun-Kiewnick and Sands (2001), *Pseudomonas*'ların özelliklerini araştırdıkları çalışmada; *Psl*'ın adonitol, D(-) tartarate, L-lactate, anthranilate ve DL-homoserine'den yararlanma özelliklerinin negatif, *Psl*'ın pectate lyase, beta-glucosidase, polygalacturonase, arbutin hidrolizi ve aesculin, jelatinin parçalanması, levan oluşumu, buz çekirdeği oluşumu ve D-mannitol, insitol, D-sorbitol, trigonalline, D-quinat, erythritol, L(+) tartarate, glutarate and DLglycerate'dan karbon kaynağı olarak yararlanabilme özelliklerinin ise pozitif olduğu bildirilmiştir.

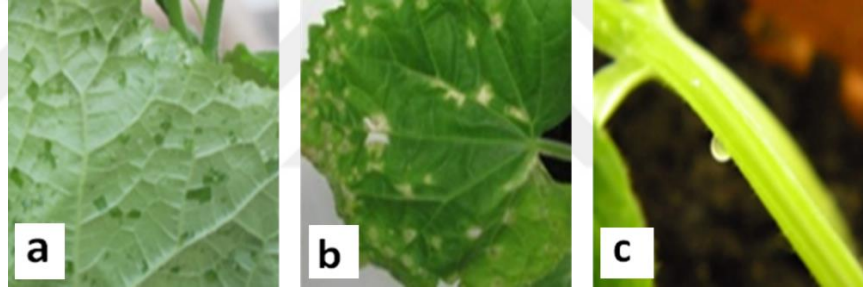
*Psl*'ın sükrozdan levan üretimi, tütünde hipersensitif reaksiyon verme, arginine dihidrolase özelliklerinin pozitif olduğunu, oksidaz, nişasta hidrolizi, patateste pektolitik aktivitenin ve gluconate' dan 3 gün içerisinde 2-ketogluconate üretme özelliklerinin ise negatif olduğu saptanmıştır (Bradbury, 1986).

*Psl* izolatının farklı hıyar yapraklarından izole edilen çeşitli moleküler yöntemlerle genetik karakterizasyonu yapılmıştır. Bunun yanında izolatın patojenisite ve biyokimyasal özellikleri de belirlenmiştir. Bu çalışmalara ait sonuçların ise etmenin popülasyonunun genetik bir çeşitliliğe bağlı olduğunu ortaya çıkmıştır (Olczak-Woltman et al., 2007).

*Psl* izolatları üzerinde yürütülen bir başka çalışmada ise; serolojik testlerde bir farklılık yok iken, moleküler testler ile floresan pigment oluşumu ve levan oluşumu gibi biyokimyasal testlerde izolatlar arasında farklılıklar saptanmıştır.

Etmen izole edilen konukçularda aynı reaksiyonları verirken, hıyardan elde edilen bazı izolatlar, kavun ve kabakta patojenisite göstermemiştir (Fatmi et al., 2008).

Hıyar köşeli yaprak leke hastalığı, kotiledon, yaprak, gövde ve meyvede oluşturduğu belirti birçok bilim insanı tarafından araştırılmıştır (Nazir et al., 2010). İlk görülen semptomlardan biri kotiledonların en ucundan başlayan doku çöküşlerinin gözlenmesidir (Keppler and Novacky, 1986). Yaprak semptomları ise yüzeyde küçük dairesel şekilde belirti göstererek sonrasında bu lekelerin hızlıca büyüdüğü ve sınırlandırılmış açısallık olarak köşeli bir yapıya dönüştüğü belirlenmiştir (Şekil 2.1b). Bu lekelerin görünümü başta suda ıslanmış şekilde (Şekil 2.1a) belirti versede sonrasında yaprak altlarında bakteriyel akıntı şeklinde de (Şekil 2.1c) belirti vermiştir. Oluşan lekelerin bulunduğu bölgeler zamanla yırtılarak, kuruyarak, dökülerek ve büyük delikler oluşturarak yaprak deformasyonuna neden olmaktadır (Jindal, 1994; Verma and Sharma, 1999).



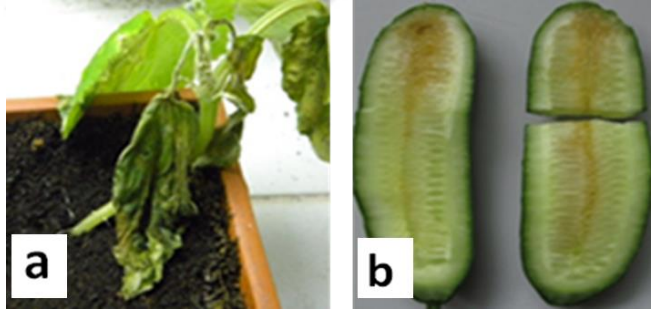
Şekil 2.1. *Psl*'nin hıyar yapraklarında oluşturduğu belirti a) damarlarla sınırlanmış alanda suda haşlanmış belirti b) nekrotik yaprak belirtisi ve bu alanlardaki yırtılmalar c) yaprak sapında bakteriyel akıntı.

Yapılan bir çalışmada, 1-8 mm çapında köşeli, buruşuk, kahverengi lezyonların bir arada olduğu ve nemli dönemlerde ise bakteriyel akıntı gözlemlendiği kaydedilmiştir (Hellmers, 1950). *Psl*'nin düzensiz yaprak lekeleri oluşturmasının yanı sıra hıyar gövdesinde solgunluğa da sebep olmaktadır. Etmenin sistemik olarak konukçunun büyüme ucuna kadar ulaşması ve büyüme ucunu olumsuz etkileyip sararıp ölmesine yol açmaktadır (Şekil 2.2a) (Saleh and Korobko, 1981; Zitter et al., 2010).

Meyvelerde de küçük ve genellikle dairesel 1-3 mm çapında lekeler gözlemlenebilir. Meyve ve gövde üzerinde lezyon gelişiminin yanında bakteriyel akıntı oluşumunda dikkat çekmektedir. Meyve iç çürüklüğü derinlere ilerleyerek meyvenin etli kısımlarına doğrusal bir şekilde (Şekil 2.2b) uzanabilir (Agrios, 2005; Zitter et al., 2010). Etmen daha çok genç meyvelere saldırdıktan hemen sonra meyvenin dökülmesine, şekilsizleşmesine, pazar değerinin kaybolması gibi olumsuzluklara sebep olmaktadır (Chand and Walker, 1964b).

Hastalıktan etkilenen bu bölgeler suda ıslanmış ve kahverengi bir görünüm oluşturmuştur. Oluşan bu görünüm sonrasında doku ölümleri ve çatlaklar meydana gelerek çürükçül fungus ve bakteriler için bir giriş kapısı oluşmuş ve sonrasında bütün meyvenin çürümesine yol açmıştır.

Araştırmacılar tarafından patojenin yetişkin meyvelerde de hastalık lezyonlarının görüldüğü ve aynı zamanda oluşan bu çatlaklar sayesinde dokuya giriş yapıp meyvenin çürümesine yol açtığı bildirilmiştir (Wiles and Walker, 1951; Verma and Sharma, 1999).



Şekil 2.2. *Ps*'nin hıyar meyvelerinde ve yapraklarında oluşturduğu hastalık belirtileri a) solgunluk belirtisi ve büyüme ucunun enfeksiyonu b) Meyvede oluşan çürüme belirtisi.

Hıyar köşeli yaprak leke hastalığı etmeni *Ps*; genel olarak tohum kaynaklı olup kışı enfekteli bitki kalıntılarında veya bulaşık tohumda geçirmektedir (Kritizman and Zutra, 1983). Ayrıca bitki kalıntılarında ve kurumuş yapraklarda 2,5 yıl canlılığının sürdürdüğü saptanmıştır (Agrios, 2005; Lelliott and Stead, 1987; Zitter et al., 2010). Etmen, tohumdan kotiledonlara kotiledonlardan yapraklara bitki boyunca ilerleyebilmektedir. Etmen bitkiye doğal açıklıklardan ve yaralardan giriş

yapabilmektedir. Patojen, yapraklardan yapraklara, bitkilerden bitkilere sıçrayan su damlaları ve vektörler aracılığıyla bitkiye ulaşabilir ve sonrasında sistemik olarak bitkiye yayılmaktadır.

Sera ve tarlada yapılan denemeler sonucunda enfekteli tohumların hastalığı geniş alanlara yayarak o alanların olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (Carsner, 1918). Gilbert and Gardner (1918), bitki artıklarında yaşamını sürdüren etmenin ise 20 aylık depolama süresi ardından tekrardan hastalık oluşturabildiğini tespit etmişlerdir.

Hastalığın oluşumunda çevre faktörleri arasından özellikle sıcaklık ve nem oldukça önemlidir (Carsner, 1918; Agios, 2005). *PsI*'ın en iyi gelişim sıcaklığı 25 °C ile 27 °C arasındadır, sıcaklık 36 °C ve üzerinde ise bakterinin gelişimi sınırlanarak olumsuz etkilenmektedir. *PsI*'nin dona karşı hassasiyetinde oldukça fazla olduğunu tespit etmişlerdir (Smith and Bryan, 1915). Farklı çevre koşullarında etmen yaprak yüzeyinde çok hızlı bir şekilde populasyon oluşturarak, yayılım gösterdiği tespit edilmiştir (Brien and Lindow, 1989).

Nem oranı düşük koşullar altında olan etmenin bitki içindeki populasyonu lezyonla kaplı bir yaprakta  $2,8 \times 10^4$  CFU/g olarak bildirilirken nem oranı yüksek yapraklarda uygulama yapıldığında ise ilk 12 saatte *PsI*'nin populasyon hızında bir artış olduğunun tespiti yapılmıştır (Haas and Rotem, 1976).

Yürütülen bir başka çalışmada ise etmenin  $10^5$  CFU/g yaprak lezyonu oluşturma durumunda tarlada belirti tespit edilmiştir (Rouse et al., 1985).

### **2.3 Hastalık Etmeni (*PsI*)'nin Yaşam Döngüsü İle İlgili Yapılan Çalışmalar**

Hastalık etmeni bitki artıklarıyla toprağa geçerek 1-2 yıl canlılığını koruyabilmekte, ancak bitki artıkları olmadıklarında toprakta uzun süre yaşayamamaktadırlar. Kışı bulaşık tohumlarda ve enfekteli bitki kalıntılarında geçirebilen bu etmen, ayrıca bitki kalıntılarında 2,5 yıl canlılığını koruyabildiği

bildirilmiştir (Kritizman and Zutra, 1983; Agios 2005; Zitter et al., 2010; Akköprü'den, 2012).

Hastalık etmeni ile bulaşık tohum primer enfeksiyon kaynağıdır. Patojen tohumda en az 16 ay canlı kalabilmektedir. Sekonder enfeksiyonlar stomalar, hidatot ve yaralar yoluyla olmaktadır. Hastalık yağmur, yağmurlama sulama ve bakım işlemleri sırasında yayılır. Yayılmasında sulama suyu en önemli rolü oynar. Ilık ve nemli iklim koşulları hastalığın oluşumunu teşvik etmektedir. (Teknik Talimatlar, 2008). Bu sebeplerden dolayı iyi bir hastalık yönetimi yapılması oldukça önemlidir.

## **2.4 Hastalık Etmeninin Mücadelesi İle İlgili Yapılan Çalışmalar**

### **2.4.1 Kültürel önlemler ile ilgili yapılan çalışmalar**

Kültürel önlemlerin en başında dayanıklı çeşit yetiştiriciliği, rotasyon, hastalıktan ari tohum kullanmak ve hastalıklı bitki artıklarının uzaklaştırılması gibi yöntemler gelmektedir. Bu yöntemler ise *Ps1*'in mücadelesi içinde önemli bir yere sahiptir.

Klossowka (1976), duyarlı ve çeşitli tolerant hatlar arasındaki çaprazlamalar sonucuyla oluşan F1, F2 ve F3 nesillerinin analizleri, patojene karşı dayanıklılığın çok fazla sayıda resesif genetik faktörler aracılığıyla kontrol edildiği saptanmıştır. Bir başka çalışmada ise, *Ps1*'ye tek bir resesif gen (*pl*) tarafında kontrol edilebildiği tespit edilmiştir (Dessert et al., 1982).

*Ps1*'a karşı dayanıklılık, 2375 çeşidin doğal ve yapay olmak üzere inokulasyonu gerçekleştirilmiştir. Yüksek dayanıklılık gösteren çeşitler ise; Jaipur Balan, Summer, F1 Femglass, F1 Sampson ve M549410 olmuştur. Calipso yerel bir çeşit ve F1 Femglass dayanıklı bir çeşit olarak tespit edilmiştir. (Medvedev and Medvedeva, 1989). Calipso çeşidi tüm strainlere dayanıklılık gösterirken sadece strain 16'ya karşı duyarlılığı olduğu bildirilmiştir (Krivchenko and Medvedeva, 1985).

Hansen (2009), patojenle bulaşık olmayan yerlerde hastalıktan ari tohum yetiştirmenin, Cucurbitaceae familyasında olmayan bitkiler ile hastalıkla bulaşık yerlerde 2 yıllık ürün rotasyonu yapılması, aşırı sulamanın önlenmesi bu hastalığın şiddetini ve yayılımını azaltacağını bildirmiştir. Ayrıca bazı ticari hıyar çeşitlerinin *PsI*'ye karşı dayanıklılık sağladığı saptanmıştır.

Bitkide nitrojen konsantrasyonu fazla ise *PsI*'ye karşı daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (Van Gundy and Walker, 1957). Yapılan bir başka çalışmada ise bazı kornişon çeşitleri tolerant olarak saptanmıştır (Özaktan ve Bora, 1994a). Buna benzer bir çalışmada ise bazı kornişon çeşitleri az duyarlı ve tolerant bulunurken, sofralık çeşitlerin ise az duyarlı olduğu bildirilmiştir (Türküsay, 1998).

#### 2.4.2 Kimyasal mücadele ile ilgili yapılan çalışmalar

1950'lerin başında bitkisel üretimde antibiyotikler ve özellikle streptomycin kullanılmaya başlanmıştır. Bir süre sonra *PsI*'ye karşı dayanıklılık oluşumu gerçekleşmiştir (Yano et al., 1978). Günümüzde hala ABD başta olmak üzere yasal olarak antibiyotik kullanımı devam etmektedir ayrıca antibiyotikler; meyve, sebze ve kültür bitkilerindeki bakteriyel hastalıkların kontrolünde de kullanıldığı tespit edilmiştir.

Hastalığın kimyasal mücadelesinde ise en yaygın; bordo bulamacı, bakır hidroksit, bakır sülfat vb. gibi bakırlı bileşiklerin ve ağır metallerin kullanılmasıdır. Daha küçük alanlarda özellikle sera için uygulananlar ise; streptomycin ve tetracycline gibi antibiyotikler, bakır veya diğer organik bakterisitlerdir. Bitkilerde en yaygın şekilde kullanılan antibiyotiklerin başında oxytetracycline ve streptomycin gelmektedir. Bitki patojenlerinin dayanıklılığı Oxytetracycline de ender görülürken *Xanthomonas campestris*, *Erwinia amylovora* ve *Pseudomonas* türlerinin streptomycin'e dayanıklı strainlerinin ortaya çıkması, hastalık kontrolünü gittikçe zorlaştırmaktadır. Streptomycin'e dayanıklı genlerden bir kısmının topraktan, insanlardan ve hayvanlardan izole edilen genlerin benzerlik gösterdiği ve bu durumun plazmit ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir (McManus et al., 2002).

Tarımda antibiyotik kullanımlarındaki zorluk ise uzun yıllar önce etmenin dayanıklılık kazanması sonucu ve insan sağlığına olumsuz etkisi dolayısıyla yasaklanması ve kullanılmasına sınır konulmasıdır (Stall and Thayer, 1962; Conlin and McCarter, 1983; Brisset et al., 1991; Wimalajeewa et al., 1991).

Antibiyotiklerden streptomycin ve tetracycline *Psl*'ın *in vitro* koşullar altında patojen gelişimini engelleyebildiğini bildirmişlerdir (Knosel, 1965). Japonyadan alınan 121 *Psl* izolat örneği ile çalışma sonucunda, 52 *Psl* izolat örneğinin streptomycin ve chloramphenicol'un dayanıklılık gösterdiğini bildirmişlerdir (Mukai et al., 1976). Yine Japonyada 1978 yılı içerisinde streptomycin ve dihydrostreptomycin'e dayanıklılık gösteren *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* izolatlarının oranı ise %77.3 artmıştır (Yano et al., 1978). Ayrıca Japonyada streptomycin'e dayanıklı ve duyarlı *Psj* izolat örneklerinin *in vitro* da gelişimini engelleyen Myomycin adı verilen bir antibiyotik bulunmuştur (Yoneyama et al., 1978). Bir başka çalışmada ise Agrimycin-100, trimiltox (mancozeb + bakıroksiklorit + bakır karbonat), bakır oksiklorit, streptomycin sülfat laboratuvarında ki çalışmalar sonucunda sırayla %96.7, 87.7, 84.3 ve 76.7 *Psl*'nin gelişimini engelleyebildikleri saptanmıştır (Khlaif and Abu-Blan, 1994). *Psl* ile kimyasal mücadelede Manep ve Mancozeb önerilse de daha çok tercih edilenler bakırlı preparatlardır (Türküsay, 1998; Bora, 2001; Agrios, 2005; Zitter et al., 2010).

*Psl* ile mücadelede kültürel mücadelenin her zaman istenilen derecede hızlı sonuç vermemesi ve kimsayal mücadelenin insan sağlığı başta olmak üzere hedef dışı diğer canlılara ve çevreye olumsuz etkilerinin yanında bu bakterilerin antibiyotik ve bakıra karşı direnç geliştirdikleri tespit edildiğinden dolayı hastalık kontrolü için yeni metotlara ihtiyaç duyulacağı bildirilmiştir (Scheck et al., 1996; Sundin and Bender 1993; Vidaver, 2002). Bu noktada biyolojik mücadelenin önemli derecede alternatif olacağı düşünülmektedir.

### **2.4.3 Biyolojik mücadele ile ilgili yapılan çalışmalar**

Bitki ile ilişkili olan mikrobiyal organizmalar hem ürün verimini artırması hem de stres faktörlerine karşı dayanıklılığı artırmasından dolayı günümüzde tercih

edilmeye başlamıştır (Yang et al., 2009). Uzun yıllar etkisinin devam etmesi ve bunun yanında insan sağlığını, çevreyi ve hedef dışı diğer canlıları, olumsuz bir şekilde etkilememesi sebebiyle biyolojik mücadele kapsamında yapılan araştırmalar her geçen gün olumlu yönde gelişim göstermektedir (Paulitz and Bélanger, 2001, Nicot et al., 2011).

Biyolojik mücadelede bitki gelişimini uyaran bu kök bakterilerinin (PGPR) kullanımı bir diğer yandan sentetik uyarıcılar ile birlikte bitki gelişimini arttırmada veya bitkilerin dayanıklılık sistemlerini uyararak bitkileri hastalıklara karşı dirençli hale getirmesinde büyük bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Kloepper 2003; Van Loon and Bakker, 2006; Saharan and Nehra 2011).

#### **2.4.3.1 Bitki gelişimini arttıran yararlı bakteriler (PGPR) ile ilgili yapılan çalışmalar**

Bitki büyümesi ve gelişimini destekleyici mikroorganizmalar olarak bitki ile ilişkili bakteriler üzerinde çok fazla literatür bulunmaktadır (Glick, 1995; Hallman et al., 1997; Rovira, 1965; Sturz et al., 2000; Welbaum et al., 2004). Yararlı serbest yaşayan toprak bakterileri; bitki gelişimini teşvik eden rhizobakteriler veya PGPR'lar olarak adlandırılırlar (Kloepper et al., 1989). PGPR'ların doğrudan ve dolaylı olarak bitki gelişimini teşvik ettiği bildirilmiştir (Kloepper, 2003; Antoun ve Prévost 2006; Saharan ve Nehra 2011). Son yıllarda biyolojik mücadelede, çoğunlukla bitkilerin yetiştirildiği ortamlarda bulunan ve birçok bitki türü ile ilişki içerisinde bulunan bitki gelişimini teşvik eden bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria -PGPB-) dikkat çekmektedir (Bashan and Holguin, 1998). Kök yüzeyini kolonize eden aynı zamanda rizosferde bulunan bu bitki gelişimini arttıran rhizobakterler PGPB'lerin en çok çalışılan grubunu oluşturmaktadır (Kloepper and Schroth, 1978; Kloepper et al., 1999). PGPR'ların toprak mikroflorasının yaklaşık olarak %2-5'ini oluşturdukları tahmin edilmektedir (Antoun and Prévost 2006).

Bitki hormonları ve bakteriyel uyarıcıların üretilmesi ve bunun yanında bitkilerdeki etilen seviyesinin düşürülmesi, azot fiksasyonu, çözünmeyen formdaki fosfat ve mikrobesein elementlerinin serbest hale geçmesiyle bitkilerdeki hastalık direnç mekanizmaları PGPR'ların doğrudan etki mekanizmaları olduğu

bildirilmiştir (Ryu et al., 2004; Antoun and Prévost 2006; Fuentes-Ramirez and Caballero-Mellado 2006; Saharan and Nehra 2011). PGPR'ların dolaylı etki mekanizmaları ise faydalı simbiyotik ilişkilerin uyarılması veya toprakta bulunan ksenobiyotiklerin ayrıştırılması yoluyla gerçekleşebildiği bildirilmiştir (Kloepper, et al. 1991; Antoun and Prévost 2006; Saharan ve Nehra 2011).

Stankiewicz et al. (1989), biyolojik mücadele kapsamında *Psl*'a karşı yürütülen bir çalışmada; köklerden, yapraklardan, meyvelerden elde edilmiş saprofitik bakteriyel ve fungal antagonistlerin *in vitro* ön çalışmalarından geçerek sonra bu antagonistlerin tohum ve yaprak uygulamaları ile saksıda ve tarlada denemesinin yürülmüş olduğu ve bu etmene karşı etkinliğinin araştırıldığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda; *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Enterobacter* ve *Saccharomyces* gibi mikroorganizmaların hıyar rhizosfer ve filosferinde bulunan biyolojik mücadele elemanı olma potansiyeline sahip olabilecekleri bildirilmiştir. *Enterobacter* sp. Mikroorganizmaların ise hastalığı kontrol altında tutmada kimyasal mücadele kadar etkin olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar hastalık baskılama mekanizması olarak antibiyosis ve besin içi rekabetinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler ile alakalı ülkemizde sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmada topraksız tarım sisteminde hıyar, biber ve domates'in gelişimi üzerine PGPR'ların olası etkileri araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan PGPR bakterileri; 18/1K: *Pseudomonas putida*, 21/1K: *Enterobacter cloacae*, 62: *Serratia marcescens*, 70: *P. fluorescens*, 66/3: *Bacillus* sp., 180: *P. putida* altı adet doğal izolat ve *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 iki tanede ticari PGPR preparatı üzerinde çalışmalar yürütülmüştür. İzolatların in-vitro'da IAA (İndol Asetik Asit) üretimi ve fosfat çözebilme yetenekleri saptanmıştır. *P. putida*, *S. marcescens* ve *P. fluorescens* ile uygulama görmüş hıyar bitkileri kontrole göre değerlendirildiğinde *P. putida* %42; *S. marcescens* %43; *P. fluorescens* %20 oranında bir verim artışı sağladığı gözlenmiştir. Kullanılan bu bakterileri izolatlarının; bitki gelişimine, kök kolonizasyonuna, bitki besin maddesi alımına ve verime olan etki parametreleri ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucu *Bacillus* spp., *P. putida* ve *P.*

*fluorescens*'in topraksız tarım çalışmasındaki bütün bitkilerde ve buna ek olarak sebze yetiştiriciliğinde olumlu bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Gül vd., 2008).

Kim et al. (2011), bitki gelişimini teşvik eden bakterileri farklı şekillerde sınıflandırıldığını bildirmişlerdir. Bu özelliğe sahip bakterilerin belirli gruplar içinde yoğunlaştığı gözlenmiştir. PGPR bakterilerinin ise kültüre alınabilecek taksonomik gruplar içinde yer alabilecekleri düşünülmektedir. Kore'de yürütülen bir çalışmada, 7638 bakteri izole edilmiştir, izole edilen bu bakteriler ise suni ortamlarda geliştirilebilen PGPR'ların genetik çeşitliliğini ortaya çıkarma amacıyla yapılmıştır. İzole edilen bu bakteriler sonrasında hıyar fidelerinde uygulanarak denemesi yapılmıştır. Elde edilen bu bakterilerden, Gam-pozitif PGPR'lar iki grup içinde ayrılmışlardır: düşük ve yüksek G+C oranına sahip Actinobacteria ırklarının, Gam-negatif PGPR'ler ise;  $\alpha$ -proteobakteriler,  $\beta$  proteobakteriler, ve  $\gamma$ -proteobakterler olmak üzere üç grup içinde yer almışlardır. Bu çalışmaların sonunda seçilmiş olan 90 PGPR izolatının %76'sı Gam-pozitif ve %24'ü Gam-negatif olarak belirlenmiştir. 32 türle *Bacillus* sp. en geniş grupta yer alırken *Paenibacillus*'tan 19, ve *Pseudomonas*'tan ise 11 tür belirlenebilmiştir.

Çalışmada duyarlı (22-46 F1) ve tolerant (Crispina F1) hıyar (*Cucumis sativus*) çeşitlerinde kök bakterileri (KB) ve Acibenzolar S-Methyl (ASM) yoluyla uyarılan bitki dayanıklılığının hıyar köşeli yaprak leke hastalığı etmeninin (*Psl*) popülasyonuna ve topraksız tarım sisteminde verime olan etkileri araştırılmıştır. En başarılı kök bakteri izolatu *P. putida* strain AA11/1'in ve ASM uygulamasının zamana bağlı olarak *Psl* popülasyonuna olan etkisi saksı denemeleriyle gözlemlenmiştir. ASM, duyarlı ve tolerant hıyar çeşidinde *Psl* popülasyonunu ve hastalık şiddetini Pozitif Kontrole göre azaltmıştır. Kök bakteri izolatu *P. putida* strain AA11/1 ise, duyarlı ve tolerant hıyar çeşidinde, *Psl* popülasyonunu etkilemeksizin, hastalık şiddetini Pozitif Kontrole göre engellemiştir. KB ve ASM uygulamaları, topraksız tarım sisteminde, duyarlı hıyar çeşidinde (22-46 F1) hastalık şiddetini Pozitif Kontrole göre, sırasıyla %33 ve 58, tolerant hıyar çeşidinde (Crispina F1) ise %17 ve 56 oranında engellemiştir. Hastalık baskısının olmadığı koşulda, KB uygulaması pazarlanabilir verimi duyarlı ve tolerant çeşitte Negatif Kontrole göre, sırasıyla, %33 ve 67 oranında artıran en iyi uygulama olmuştur. ASM uygulaması ise, Negatif Kontrole göre verimde bir fark

yaratmamıştır. *P. putida* strain AA11/1 no'lu KB izolatının *in vitro*'da Indol 3 Acetic Acid (60 µg/ml) ve yüksek düzeyde siderofor üretme yeteneğindedir sahip olduğu bildirilmiştir (Akköprü, 2012).

## 2.5 Yararlı Bakteri Formülasyonlarının Geliştirilmesi Konusunda Yapılan Çalışmalar

Formülasyon, belirli bir ürünü oluşturmak için çeşitli maddelerin hassas oranlarda birleştirilmesi prosesidir. Bir ya da daha fazla yararlı organizmanın, organik veya inorganik bir taşıyıcı ve/veya substrat ile formüle edilerek, yararlı organizmanın laboratuvarından, üretim ortamındaki bitkiye taşınıp uygulanabilirliği sağlanabilen formuna da biyofarmülasyon denir. Başlangıçtan, üretimin sonuna kadar olan bu süreci kapsayan bölüme ise proses geliştirme denmektedir (Monteiro et al., 2005; Junker, 2004).

Biyopestisitler, bakteriler, virüsler, funguslar, nematodlar gibi mikroorganizmalara veya bitki özleri ile yarı kimyasallar (örn; böcek feromonları) dahil olmak üzere doğal olarak oluşan maddelere dayanan aktif bileşenlerin, formüle edilmiş formudur. Biyopestisitlerin uygulanması, mahsulün korunması için kullanılan tüm pestisitlerin yalnızca yüzde birkaçıyla sınırlıdır. Pahalı üretim yöntemleri, zayıf depolama kararlılığı, çevresel koşullara duyarlılık, etkinlik sorunları, vb. gibi bu duruma katkıda bulunan birçok faktör vardır. Biyopestisitlerin aktivitesini genişletmek en önemli alan haline gelmektedir (Gašić and Tanović; 2013).

Biyopestisitlerin aktif bileşenleri, çoğu sentetik pestisitlerle aynı şekilde formüle edilmektedir. Çoğu biyopestisit, canlı organizmalara dayanır. Yaşayabilirliği bu organizmaların formülasyon işlemi ve saklama sırasında kabul edilebilir seviyelerde tutulması gerektiği özellikle belirtilmiştir. Uygulama anında, organizmaların aktif olabilmeleri için hareketsiz durumlarından yeniden canlanmaları gerekir. Bu sebeple biyopestisit ürünlerinin formüle edilmesindeki problemler oldukça fazladır, canlı kalabilme kabiliyetinin kapsamlı bir şekilde anlaşılması bu konuda ilerlebilmek için oldukça gereklidir (Seaman, 1990; Boyetenko, 1998).

David et al. (2018), biyopreparat formülasyonunun başarısını etkileyen en önemli unsur, taşıyıcı madde içeriğindeki canlı hücre sayısının miktarıdır. Bu sebeple biyopreparat üretiminde kullanılacak mikroorganizmanın etkili olabilmesi; taşıyıcı materyalde popülasyon seviyesinin optimum değere ulaştırılması ve hayatta kalma süresinin belirlenmesi gibi önemli unsurlar arasındadır. Mikrobiyal gübre veya pestisitlerde taşıyıcı materyal kullanımının, mikroorganizmayı dış etkenlere karşı koruduğu bildirilmiştir. Ayrıca taşıyıcı maddenin ve üretim ortamı maliyetinin minimuma indirilmesi ve suda çözünürlüğünün maksimum olması da önemli unsurlar arasındadır. Biyoformülasyonun, depolanma aşamasında da mikroorganizmanın canlılığını koruyabilmesi, pH ve nem içeriği gibi durumları da oldukça önemlidir. Biyopreparatın etkinliği bu unsurlar ile yüksek derecede etkilenmektedir. Bu sebeple biyoformülasyon ürününün raf ömrünü uzatacak şekilde tasarlanması ve uygun tipte taşıyıcı seçimi yapılması oldukça öneme sahiptir.

Biyopestisitler arasında kullanılan *Bacillus thuringiensis*, böcekleri kontrol altında tutmak için kullanılan birçok yöntemden daha yaygındır. Pazar değeri yüksek bir ürün, *B. thuringiensis* büyük ölçüde suyun uzaklaştırılmasıyla konsantre edilmeli ve ürünün ömrünü, verimliliğini ve nakliye kolaylığını iyileştirmek için formüle edilmelidir. Jelatinize tapyoka nişastası ve süt tozu, askıda kalabilirliği olumlu yönde etkilemiş olup, ancak kurutulmuş formüle edilmiş ürünün ıslanabilirliğini olumsuz etkilemiştir (Kumar et. al., 2014).

Başka bir çalışmada mısır nişastası ile yapılan *B. thuringiensis* biyopreparatı dayanıklılık ve esnekliğe sahip film oluşturma özelliğine sahip olduğu saptanmıştır. Amilaz ve amilopektinden oluşan nişasta ise, suda pişirildiğinde jelatinleşme ve soğuduğunda da çözünemez forma geçme özelliğine sahiptir. Ulaşılabilir ve ucuz olan, önceden işlenip jelatinleştirilmiş nişastanın *B. thuringiensis* ve soğuk su ile karıştırılması ile elde edilen preparat, gerekli olan ısı işlemlerin, nişastanın mikroorganizmayla buluşmasından önce uygulanmış olması sebebiyle, işlenmemiş nişasta kullanımı ile karşılaştırıldığında, mikroorganizmanın canlılık kaybının olmadığı görülmektedir. Elde edilen preparatın yeniden kurutulup öğütülmesinin ardından raf ömrü takip edildiğinde ise 4 ay boyunca mikroorganizmanın canlılık kaybına uğramadığı bildirilmiştir. Çalışma gelecek çalışmalar için umut verici

nitelikte olmuştur (Dunkle and Shasha, 1988; Bartelt et al., 1990; McGuire et al., 1990; McGuire and Shasha, 1995).

McKinley et al. (1989), Bazı mikroorganizmalar sıvı formülasyonlarda gelişebilir ve bu gelişimler genellikle alkali ortamlar ile nötral ortamlarda gözlenmiştir. Kontaminasyona sebep olan mikroorganizmalar, formülasyon içerisindeki organizmanın antagonisti olabilmektedir, bu da ortaya çıkan metabolit artıklarından dolayı, formülasyonda pH değişimlerine ve yararlı organizma için zararlı enzimler üretilmesine sebep olabilmektedirler. Mikrobiyal faaliyetler sonucu oluşan gazlar, ürünün açılmadan önce veya açıldığı sırada patlamasına sebep olabilir. Ürünü kontaminasyondan korumak için, pH değerini potansiyel kontaminantların üreyemeyeceği aralıkta tutmak yararlıdır ancak bu koruyuculuk uygulama sonrası devam etmemektedir. Formülasyon yapılırken kullanılacak ürünlerin içerisine antibiyotik gibi ürünler eklenirken, insanlara ve diğer omurgalılara etki edecek tıbbi problemler dikkate alınmalıdır. Buna ek olarak ürünün kurutulması ile birçok kontaminasyon riskinden kaçınılması amaçlanmıştır (Jones and Burges, 1998). Soğuk ortamda saklama işlemi de kontaminasyon riskini azaltmaktadır ancak maliyeti artırması sebebiyle, biyopreparatın kimyasal alternatiflerle rekabet gücünü azaltacağı için, gelişmekte olan ülkelerde pratikte mümkün olmayabilir.

Formülasyon şekli ıslanabilir toz (WP: Wettable Powder) olan biyofarmülasyon üretilirken canlılık kaybını en aza indirme noktasında, kurutma en önemli aşamalardan biridir. Kurutma aşaması için doğru bir yöntem seçildiğinde canlılık kaybı en aza indirilmiş olup aynı zamanda ürünün raf ömrü uzatılabilmektedir. Canlılık kaybı sorununa çözüm olarak, havayla ve dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemlerinin alternatif olacağı bildirilmiştir (Kosanke et al., 1992). Ürün içerisinde su miktarı ne kadar az olursa, ürünün raf ömrü o kadar uzun olmaktadır; ürün içerisinde bulunan bakteriler dormant fazda bulunduğundan kontaminantlara karşı elverişsiz ve uygulamaya uygun hale gelmektedir (Bashan, 1998).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Çalışmada kullanılan test bitkisi

Çalışmada İstanbul Tohumculuk Tarım San. ve Tic. Ltd. Şti tarafından temin edilen standart bir çeşit olan Beith Alpha hıyar (*Cucumis sativus L.*) çeşidi test bitkisi olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Beith Alpha hıyar (*Cucumis sativus L.*) tohumu ambalajı.

##### 3.1.2 Çalışmada kullanılan test patojeni

Çalışmada, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan ve patojenisite testleri ile yüksek virülensliğe sahip olduğu belirlenen *Pseudomonas syringae* pv. *lacrymans* (*Psl*) izolatı (Şekil 3.2) test patojeni olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.2. *Pseudomonas syringae* pv. *lacrymans* (Psl) izolatının King B besiyerinde koloni gelişimi.

### 3.1.3 Çalışmada kullanılan bakteriyel formülasyonlar

Çalışmada örtü altı hıyar yetiştiriciliğinde sorun olan hıyar bakteriyel köşeli yaprak lekesi hastalık etmenine (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)'a karşı daha önce yürütülen projelerde sera koşullarında denenerek başarılı bulunan ve verimi artıran (PGPR), kesin tanısı yapılmış; 112 ve 103 nolu *Pseudomonas fluorescens* izolatları, 101 ve 41 nolu *Pseudomonas putida* izolatları, 99 nolu *Bacillus thuringiensis* izolatı 99 ve 83 nolu *Pantoea agglomerans* izolatının ucuz substratlar kullanılarak geniş ölçekte reaktörde üretimleri yapılarak elde edilen liyofilize ıslanabilir toz (WP) formülasyonları kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada hıyarda bakteriyel köşeli yaprak lekeli hastalık etmenine (*Ps*) karşı etkisi araştırılan liyofilize WP bakteriyel formülasyonlar

Kodu	İzolat No	Türü	İzole edilmiş konukçu	37°C'de gelişme	Tütünde HR	Patateste pektolitik aktivite	Etkili Olduğu patojen	Etkimekanizması	PGPR Etki
41	(Pp30) <sup>3,4</sup>	<i>P. putida</i>	Kavun	-	-	-	FOM, FON	ISR, Rekabet	Hıyar, Kavun
83	Pa83	p. agglomerans	Hıyar	-	-	-	FOC PSL LD	ISR, Rekabet	Hıyar
99	(Bt99) <sup>1</sup>	<i>B. thuringiensis</i>	Hıyar	-	-	-	FOC PSL LD	ISR, Rekabet	Hıyar
101	(18/1k) <sup>2</sup>	<i>P. putida</i>	Domates	-	-	-	PST	ISR, Rekabet	Domates
103	(Pf 70) <sup>2,3</sup>	<i>P. fluorescens</i>	Hıyar	-	-	-	PST FOC	ISR, Rekabet	Hıyar, Kavun
112	(Pf 112) <sup>1</sup>	<i>P. fluorescens</i>	Hıyar	-	-	-	FOC PSL LD	ISR, Rekabet	Hıyar, Kavun

<sup>1</sup> Özaktan ve ark., 2015. Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Yetiştiriciliğinde Biyogübre ve Biyopestisit Olarak Kullanılma Olanakları. TÜBİTAK-COST 1110505 no.lu proje kesin raporu

<sup>2</sup> Gül ve ark., 2008. Önemli Sera Sebze Türlerinde Bazı Kök Bakterilerinin Bitki Gelişimi, Verim ve Besin Maddesi Alımına Etkileri. TÜBİTAK TOVAG 1050571NO.LU PROJE kesin rp.

<sup>3</sup> Gül A., F. Kızıoğlu, H. Özaktan, Y. Tüzel, 2013. Rhizobacteria promoted yield of cucumber plants grown in perlite under Fusarium wilt stress. Scientia Horticulturae 153:22–25

<sup>4</sup> Bora, T., Özaktan H., Göre E., Aslan E., 2004. Biological Control of Fusarium oxysporum f. sp. melonis by Wettable Powder Formulations of the two Strains of Pseudomonas putida. Journal of Phytopathology 152(8-9):471 – 475

<sup>5</sup> Özaktan, H., Özsarı P., Akbaba M., Karsavuran Y., 2016. Using of endophytic bacteria for biological control of potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) and plant growth promotion. Transferring knowledge of tritrophic interaction to field application of microbes, 29-30 September, 2016. Bielefeld-Germany

\* FOC: Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum', FORC: F.oxysporum f.sp. radiciscucumerinum', FON: F.oxysporum f.sp. niveum, FOM: F.oxysporum f.sp. melonis, PST: Pseudomonas syringae pv. tomato, PSL: Pseudomonas syringae pv. lachrymans, LD: Leptinotarsa decemlineata

### 3.1.4 Çalışmada kullanılan besi yerleri

Çalışmada, *P. syringae* pv. *lachrymans*'ın kültüre alınması ve Yararlı Bakteri'lerin bitki içerisindeki kolonizasyonlarının izlenmesi için King B (Çizelge 3.2) ve Triptik Soya Agar (TSA) (Çizelge 3.3) ortamları kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. King B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları

1000 ml King-B besiyeri		King's B (King et al., 1954)	Kullanım Amacı
Kimyasallar	Miktarları		
Pepton	20 g		Bakteriyel etmenlerin izolasyonu, pigment oluşumu
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,5 g		
MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	1,5 g		
Gliserol	10 ml		
Agar	16 g		
Ph 7'ye ayarlanır ve 121°C'de 20 dk. Otoklavlanır.			

Çizelge 3.3. Triptik Soya Agar (TSA) genel besiyeri ve yararlı bakteri'lere Rifamycin (200 ppm)'e dayanıklılık kazandırılması ve kolonizasyonun incelenmesi için gerekli kimyasallar ve miktarları

1000 ml TSA besiyeri		TSA + Rifamycin (200ppm)	Kullanım Amacı
Kimyasallar	Miktarları		
Triptic soy broth	30 g		Kolonizasyonun incelenmesi ve Yararlı bakterilere Rifampicine (200 ppm)'e dayanıklılık kazandırılması
Agar	16 g		
121°C'de 20 dk. Otoklavlanır.			
Rifamycin	200 mg		
Rifamycin 3-5 ml alkolde çözüldükten sonra sterilize edilmiş 50 °C'ye kadar soğutulmuş TSA ortamına eklenir.			

### 3.1.5 Çalışmada kullanılan yetiştirme ortamı ve koşulları

Bitkilerin yetiştirilme ortamı ve koşulları Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümüne ait ayarlanabilir sıcaklık ve ışık sistemine sahip olan iklim odasında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada tohum ekimi için 45 gözlü viyoller kullanılmış olup bitki yetiştirmek için ise 10\*10\*8 cm çapında saksılar ve yetiştirme ortamı olarak steril torf kullanılmıştır (Şekil 3.3).



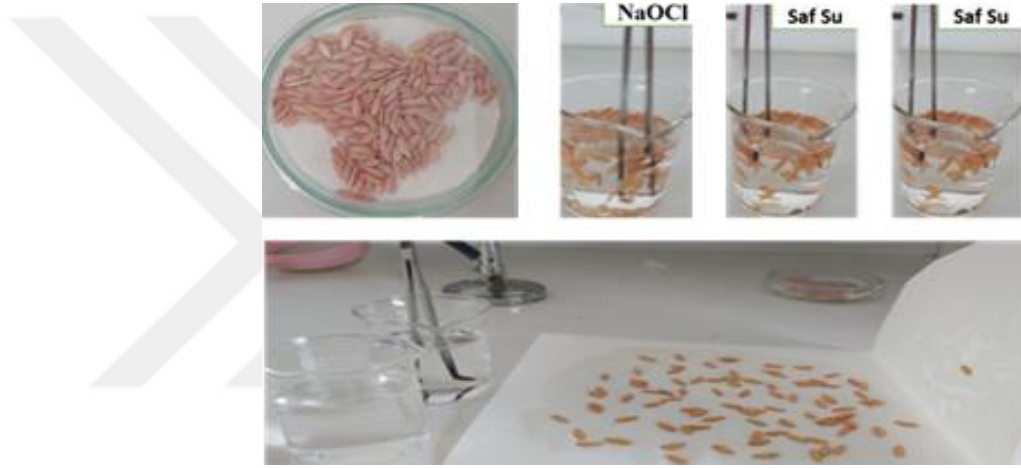
Şekil 3.3. *In vivo* denemelerinde kullanılan steril torf ile doldurulmuş viyollerin ve tohum ekiminin görünümü.

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Bakteriyel Formulasyonlarla *In Vivo* Testler

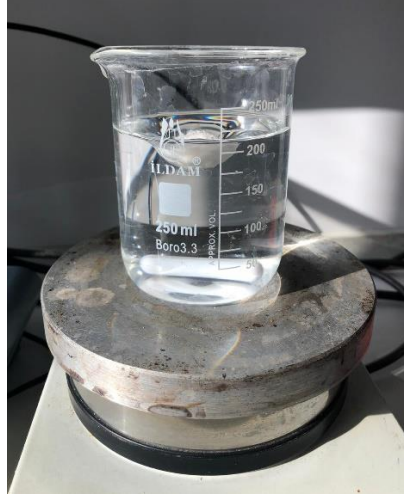
#### 3.2.1.1 Bakteriyel formulasyonların *PsI*'a biyokontrol etkilerinin denemesi

Bakteriyel formulasyonların *PsI*'a biyokontrol etkilerinin denemesi için öncelikle sağlıklı hıyar (cv. Beith Alpha) tohumları önce iyice yıkanmış (Şekil 3.4) ve tohumları Sodyum Hipoklorit (%1) ile yüzey dezenfeksiyonu uygulanmıştır.



Şekil 3.4. Tohumların yüzey dezenfeksiyonu uygulaması (Tohumlar 1,5 dakika NaOCl'de bekletilip sonrasında 1'er dakikalık saf durulama suyunda 2 kere durularak, kurutma kağıtlarına alınmıştır.)

Tohumlar kurutma kağıdında bir gece boyunca kurutulduktan sonra Carboxy Methyl Cellulose (%1'lik CMC) ile uygulama görmüş (Şekil 3.5) ve farklı doz serilerinde bakteri formulasyonu ( $10^9$ ,  $10^8$  cfu/ml) ile 30 dakika süreyle 121 rpm'de çalkalanarak kaplanmıştır (Şekil 3.6). Kaplama işleminden sonra kurutma kağıtları arasında tutulan tohumlar beklemeye alınmıştır. Kontrol (-) tohumları ise sadece Carboxy Methyl Cellulose (%1'lik CMC) çözeltisi ile kaplanmıştır.



Şekil 3.5. Carboxy Methyl Cellulose (%1'lik CMC) görünümü.

Çizelge 3.1'de özellikleri belirtilen bakteriyel preparatlar, hıyarda *Psl*'ye karşı bitki büyüme odasında biyopestisit olarak etkileri açısından teksel olarak farklı doz serilerinde ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) tohum kaplama (Şekil 3.6) ve yeşil aksam uygulaması biçiminde gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.6. Biyoformülasyonlarla tohum kaplama aşaması ve uygulama görmüş tohumların 30 dakika süreyle 121 rpm'de çalkalayıcıdaki bekletilmesi.

Tohum bakterizasyonu için farklı dozdaki ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) bakteriyel biyoformülasyonlarla uygulama görmüş hıyar tohumları, torf içeren viyollere ekilmiştir (Şekil 3.7). İki gerçek yapraklı aşamaya gelince saksılara şaşırtılmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.7. *In vivo* denemelerinde kullanılan steril torf ile doldurulmuş saksıların ve iki gerçek yapraklı aşamaya gelen hıyar fidesinin şaşırtma görünümü.

Yeşil aksam uygulaması için ise; viyollerde bulunan, 2 gerçek yapraklı aşamaya gelmiş hıyar fideleri saksılara şaşırtıldıktan sonra, biyoformulasyon süspansiyonları farklı dozda ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) her bitki başına 10 ml olacak şekilde uygulanmıştır (Şekil 3.8).

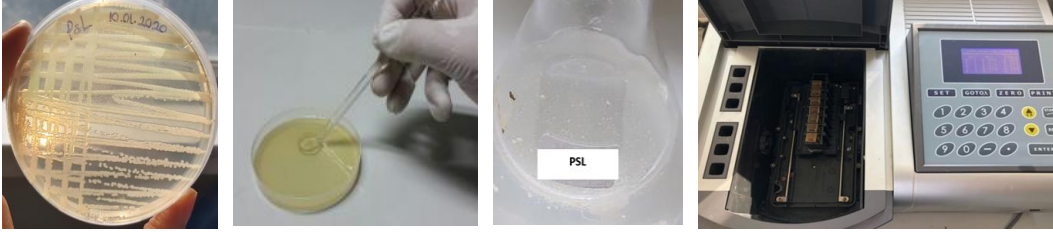


Şekil 3.8. Yeşil aksam uygulaması (bitki başına 10 ml olacak şekilde uygulanmıştır).



Şekil 3.9. Kök içirme uygulaması (bitki başına 20 ml olacak şekilde içirme biçiminde uygulanmıştır).

Bakteriyel formülasyonlarla yeşil aksam uygulaması gören hıyar fidelerine 24 saat sonra,  $10^7$  cfu/ml (OD 600 nm: 0,05, Şekil 3.11) yoğunluğundaki patojen *Psl* süspansiyonu yapraklara püskürtme biçiminde uygulanmıştır (Şekil 3.12). Sadece *Psl* uygulanmış hıyar bitkileri pozitif kontrol olarak, herhangi bir uygulama görmemiş hıyar bitkileri ise negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.10. *Psl* patojeninin yoğunluğunun spektrofotometrede ölçümü.

*Psl* inokulasyon sonrası bitkiler şeffaf plastik torbalar altında yüksek oransal nemde (%80-90) 3 gün süreyle inkubasyona bırakılmıştır (Şekil 3.12), 3 gün sonunda poşetler çıkartılmıştır.



Şekil 3.11. *Psl* süspansiyonun yapraklara püskürtme aşaması.



Şekil 3.12. *Psl* inokulasyonunu takiben 3 gün süreyle yüksek oransal nemin sağlanması.

*Psl* patojeni uygulamasından 14 gün sonra, 0-4 skalasına göre bitkilerdeki hastalık şiddeti değerlendirilmiştir (Çizelge 3.4).

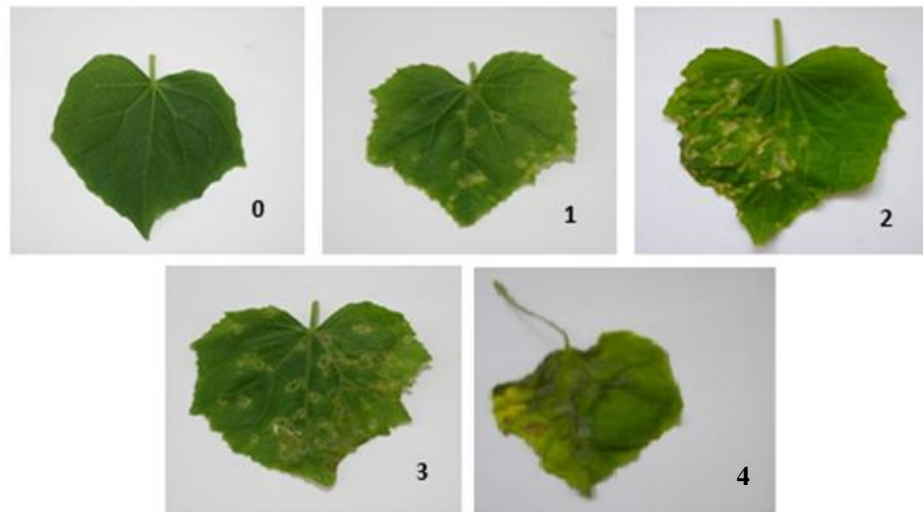
Elde edilen skala değerleri Thousand Heuberger formülü\* yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür. Elde edilen sonuçlar pozitif kontrol uygulamalarıyla karşılaştırılarak biyopreparatların *Psl*'ye etkisi ABBOTT (%) formülü ile değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.4. Hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-4 skalası

Skala değeri	Açıklama
0	Hastalık belirtisi yok
1	Yaprağın % 0-25'inde hastalık belirtisi
2	Yaprağın % 26-50'sinde hastalık belirtisi
3	Yaprağın % 51-75'inde hastalık belirtisi
4	Yaprağın % 76-100'ünde hastalık belirtisi veya ölüm

Elde edilen hastalık şiddeti (%) sonuçları, Abbot formülü\* yardımı ile kontrole göre % etki değerleri olarak hesaplanmıştır.

$$* \% \text{ Hastalık şiddeti} = \frac{\sum (\text{Skala değeri} \times \text{Skalada değerlendirilen bitki sayısı})}{\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{Enyüksek skala değeri}} \times 100$$



Şekil 3.13. *Psl*'nin oluşturduğu hastalık şiddetinin belirlenmesi için kullanılan 0-4 skalasının (0: belirti yok, 1: 0 > %25, 2: %25 > %50, 3: %50 > %75, 4: %75 > %100 ) yapraktaki görünümüleri.

Biyoformulasyonların biyokontrol etki denemeleri 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 1 bitki yer alacak şekilde Tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmıştır. Deneme sonunda bu bitkiler sökülerek, yeşil aksam ve kök için yaş ağırlık ve kuru ağırlık (68°C’de etüvde 72 h kurutma sonrası elde edilen değerler, Şekil 3.14, 3.15, 3.16, 3.17, 3.18) değerlendirilmesi yapılmıştır.



Şekil 3.14. Yeşil Aksam yaş ağırlık tartımları.



Şekil 3.15. Kök yaş ağırlık tartımları.



Şekil 3.16. 68 °C’de etüvde 72 h kurutma işlemi.



Şekil 3.17. Yeşil Aksam kuru ağırlık tartımları.



Şekil 3.18. Kök kuru ağırlık tartımları.

Böylece, bakteriyel formülasyonların denendiği hastalık etmenine ve bitki gelişimine karşı en etkili oldukları doz da belirlenmiştir.

### **3.2.1.2 Bakteriyel formülasyonların bitki gelişimine etkilerinin denenmesi**

Çizelge 3.1’de özellikleri belirtilen bakteriyel formülasyonların hastalık baskısı olmaksızın hıyarda bitki büyüme odasında biyogübre olarak bitki büyüme ve gelişmesine etkileri açısından teksel ve kombinasyon halinde farklı doz serilerinde ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) denenmiştir. Denemelerde biyoformülasyonlar, sırasıyla, tohum kaplama, kök içirme ve yeşil aksam uygulaması (Şekil 3.6, Şekil 3.8, Şekil 3.9) biçiminde gerçekleştirilmiştir. Tohum bakterizasyonu için farklı dozdaki ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) bakteriyel biyoformülasyonlarla uygulama görmüş

hıyar tohumları steril torf içeren 45 gözlü viyollere ekilmiştir (Şekil 3.3). İki gerçek yapraklı aşamaya gelince saksılara şaşırtılmıştır (Şekil 3.7). Kök içirme uygulaması için, iki gerçek yaprak aşamasına gelmiş ve saksılara şaşırtılan hıyar fidelerine, farklı dozda ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) biyoformulasyon süspansiyonları her bitki başına 20 ml olacak şekilde içirme biçiminde uygulanmıştır (Şekil 3.9). Yeşil aksam uygulaması için ise; 2 gerçek yapraklı aşamaya gelmiş hıyar fideleri saksılara şaşırtıldıktan sonra, biyoformulasyon süspansiyonları farklı dozda ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) her bitki başına 10 ml olacak şekilde uygulanmıştır (Şekil 3.8). Biyoformulasyonların bitki gelişimine etki denemeleri 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 1 bitki yer alacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmıştır. Uygulama gören bitkiler saksılara şaşırtıldıktan sonra, yaklaşık 27-30 gün süreyle gelişmeleri izlenip ve bu süre sonunda değerlendirilmiştir. Herhangi bir uygulama görmemiş bitkiler Negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar negatif kontrol uygulamalarıyla karşılaştırılarak biyopreparatların bitki gelişimine etkisi ABBOTT (%) formülü ile değerlendirilmiştir (Çizelge 3.4). Deneme sonunda bu bitkiler sökülerek, yeşil aksam ve kök için yaş ağırlık ve kuru ağırlık ( $68^{\circ}\text{C}$ 'de etüvde 72 h kurutma sonrası elde edilen değerler) değerlendirmesi yapılmıştır (Şekil 3.14, Şekil 3.15, Şekil 3.16, Şekil 3.17, Şekil 3.18). Böylece; biyoformulasyon uygulamalarının hıyar bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlıklarına etkisinin olup olmadığı ve biyogübre olarak kullanılabilecekleri en uygun doz ve uygulama biçimi belirlenmiştir.

### **3.2.1.3 Seçilen formulasyonların teksel ve kombinasyon olarak *PsI*'ye etki denemesi**

Bakteriyel formulasyonların *PsI*'a biyokontrol etkilerinin denemesi sonucu elde edilen veriler doğrultusunda Çizelge 3.1'de özellikleri belirtilen 99 nolu *B. thuringiensis* ve 83 nolu *P. agglomerans* preparatlarının, üç farklı dozunun ( $10^7$ ,  $10^8$  ve  $10^9$  cfu/ml) teksel ve kombinasyon halinde denenmesine karar verilmiştir. Öncelikle yıkanmış hıyar tohumlarına yüzey dezenfeksiyonu uygulanmıştır (Şekil 4.1) Tohumlar kurutma kağıdında bir gece boyunca bekletildikten sonra Carboxy Methyl Cellulose (%1'lik CMC) ile uygulama görmüş ve 30 dakika süreyle 121 rpm'de çalkalanarak kaplanmıştır. Kaplama işleminden sonra kurutma kağıtları arasında tutulan tohumlar beklemeye alınmıştır. Kontrol (-) tohumları ise sadece

Carboxy Methyl Cellulose (%1'lik CMC) çözeltisi ile kaplanmıştır. Denemelerde biyoformulasyonlar tohum kaplama (Şekil 3.6) ve yeşil aksam uygulaması (Şekil 3.8) biçiminde gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel biyoformulasyonlarla uygulama görmüş hıyar tohumları, steril torf içeren viyollere ekilmiştir (Şekil 3.3). İki gerçek yapraklı aşamaya gelince saksılara şaşırtılmıştır (Şekil 3.7). Yeşil aksam uygulaması için hıyar fideleri saksılara şaşırtıldıktan sonra, biyoformulasyon süspansiyonları farklı dozda ( $10^7$ ,  $10^8$  ve  $10^9$  cfu/ml) her bitki başına 10 ml olacak şekilde uygulanmıştır (Şekil 3.8). Yeşil aksam uygulamasından 24 saat sonra,  $10^7$  cfu/ml (OD600nm: 0,05) yoğunluğundaki patojen *Psl* süspansiyonu hıyar fidelerinin yapraklarına püskürtme biçiminde uygulanmıştır. Sadece *Psl* uygulanmış hıyar bitkileri pozitif kontrol olarak, herhangi bir uygulama görmemiş hıyar bitkileri ise negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. *Psl* inokulasyonundan sonra, şeffaf plastik torbalar yardımıyla 3 gün süreyle yüksek oransal nem sağlanmıştır. Biyoformulasyonların biyokontrol etki denemeleri 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 1 bitki yer alacak şekilde Tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmıştır. *Psl* inokulasyonundan 14. gün sonra 0–4 sıklasına göre (Özaktan ve Bora, 1994; Türküsay;1998) hastalık şiddeti değerlendirilmiştir. Elde edilen skala değerleri Thousand Heuberger formülü\* yardımı ile hastalık şiddeti (%) değerlerine dönüştürülmüştür. Elde edilen sonuçlar pozitif kontrol uygulamalarıyla karşılaştırılarak biyopreparatların *PSL*'ye etkisi ABBOTT (%) formülü ile değerlendirilmiştir (Çizelge 3.4) (Şekil 3.13). Deneme sonunda bu bitkiler sökülerek, yeşil aksam ve kök için yaş ağırlık ve kuru ağırlık (68°C'de etüvde 72 h kurutma sonrası elde edilen değerler) değerlendirmesi yapılmıştır (Şekil 3.14, Şekil 3.15, Şekil 3.16, Şekil 3.17, Şekil 3.18). *Psl* baskısına rağmen, hıyar bitkilerinde biyoformulasyon uygulamalarının yeşil aksam yaş ve kuru ağırlıklarında, kök yaş ve kuru ağırlıklarında etkisinin olup olmadığı da değerlendirilmiş ve bakteriyel formulasyonların denendiği hastalık etmenine ve bitki gelişimine karşı en etkili oldukları doz belirlenmiştir.

### **3.2.2 *In Vivo* testlerden başarıyla geçen bakteriyel formulasyonların bitki içinde kolonizasyonunun izlenmesi**

Tohum bakterizasyonu, köklere içirme (Şekil 3.9) ve yeşil aksama püskürtme (Şekil 3.8) biçiminde ve farklı doz serilerinde uygulanan ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml)

biyoformulasyonların aktif organizması olan bakterilerin zamana bağlı olarak bitki içinde tutunma ve kolonizasyonu saksı denemeleriyle bitki büyüme odasında araştırılmıştır.



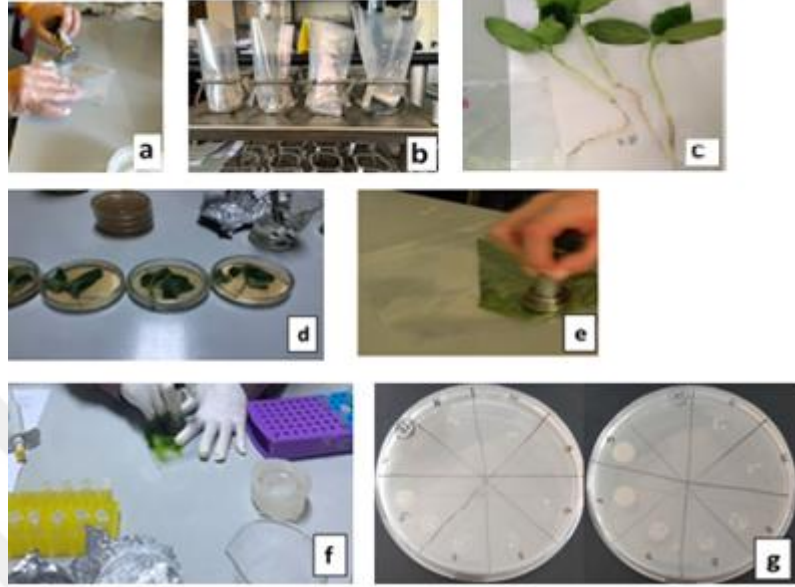
Şekil 3.19. Hıyar tohumunun gelişim aşamaları.

Hıyar bitkilerinde biyoformulasyonların aktif organizması yararlı bakterilerin populasyonunu izlemek amacıyla, testlenecek bakterilerin rifamycin (200 ppm)'e dayanıklı olan paralelleri laboratuvar stoklarımızda mevcuttur. Rifamycin'e dayanıklı bakteri izolatlarının özel olarak küçük ölçekte üretilen biyoformulasyonları hıyar bitkilerine uygulandıktan sonra bitkideki kolonizasyonları aşağıda belirtilen dönemler boyunca izlenmiştir.

Çizelge 3.5. Bakteriyel formulasyonların bitki içerisinde kolonizasyonunu takip etmek amacıyla uygun görülen örnek alınma zamanları

- |    |  |
|----|--|
| 1. | Tohum bakterizasyonu sonrası (cfu/tohum) |
| 2. | Kotiledon dönemi (cfu/ bitki)            |
| 3. | İlk gerçek yaprak (cfu/bitki)            |
| 4. | İkinci gerçek yaprak (cfu/bitki)         |
| 5. | Üçüncü gerçek yaprak (cfu/bitki)         |

Bitki ve tohum örnekleri 2 kez steril sudan geçirilerek kurutma kağıtları arasında kurutulmuş ve steril polietilen torbalara konularak stomaker yardımıyla ezilmiştir (Şekil 3.20a), (Şekil 3.20e).



Şekil 3.20. Bitki içerisinde kolonizasyonunu belirlemek için kullanılan yöntemin aşamalarından bir görünüm; a) tohum uygulama aşaması, b) çalkalayıcıda karıştırılma aşaması, c) köklere içirme uygulaması sonrasındaki aşama, d-e) yeşil aksama püskürtme uygulamasından sonraki aşama, f-g) bitki ekstraksiyonundan seyreltme serileri hazırlanma aşaması.

Bitki kesitlerinin ağırlıklarınının 10 katı steril saf su bu torbalara konularak 30 dakika 120 rpm de çalkalayıcıda karıştırılmıştır (Şekil 3.20b). Elde edilen bu süspansiyondan seyreltme basamakları oluşturularak Rifampicine (200 ppm) içeren TSA ortamına 20  $\mu$ l damlatılarak ekimler yapılmıştır (Şekil 3.20f).

Denemeler Tesadüf Parselleri deneme desenine göre, her örnekleme döneminde örnekler 3 tekerrürlü olarak alınacak şekilde kurularak ve biyoformulasyondaki bakterilerin zamana bağlı olarak kolonizasyonu ve popülasyon değişimi (cfu/g bitki, cfu/g tohum) değerlendirilmiştir.

### 3.2.3 İstatistiksel analizler

Tez çalışması kapsamında analizlerin sonucunda elde edilen veriler, SPSS (SPSS Inc. PASW Statistics versiyon 25.0) istatistik paket programı ile tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Gruplar arasındaki önemli farklılıklar %5 hata olasılığı ile yapılan Duncan testi ile belirlenmiştir.



## 4. BULGULAR

### 4.1 Biyoformulasyonlarla *In vivo* Bitki Büyüme Odası Koşullarında Saksı Denemeleri Sonuçları

Tez çalışmasında, bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, daha önce canlılık ve raf ömrü testlerinden geçen liyofilize ıslanabilir toz (WP) bakteriyel formulasyonların biyopestisit ve biyostimulant özellikleri testlenmiştir. Testlenen ve üretimi yapılan bu bakteriyel formulasyonların (6 adet), test patojeni olarak kullanılarak (*PsI*) 'ye karşı etkinliği *in vivo* koşullar altında değerlendirilmiştir. Bu *in vivo* denemeleri sonucunda elde edilen bulgular bu kısımda açıklanmıştır.

#### 4.1.1 Bakteriyel formulasyonların *PsI*'a etki testi sonuçları

Bakteriyel formulasyonlar öncelikle teksel olarak bakteriyel hastalık etmeni olan *PsI*'a karşı bitki büyüme odası koşullarında *in vivo*'da biyokontrol etkisi en yüksek 2 doz serisi ( $10^8$  ve  $10^9$  cfu/ml) dikkate alınarak testlenmiştir (Şekil 4.1). Deneme sonunda bu bitkiler değerlendirilerek hastalık şiddetine etkileri belirlenmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Bitki büyüme odası *in vivo* deneme görünümü.

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi, testlenen tüm bakteriyel formulasyonlar her iki doz serisinde de istatistiksel olarak pozitif kontrolden farklı grupta yer alarak

etkili bulunmuştur. Her iki doz serisinde *Psl*'a karşı de en başarılı biyoformulasyon uygulaması 83 olurken (Şekil 4.3), bunu 99 (Şekil 4.4), 103 (Şekil 4.6), 112 (Şekil 4.7) ve 41 (Şekil 4.2) nolu izolatlar izlemiştir.

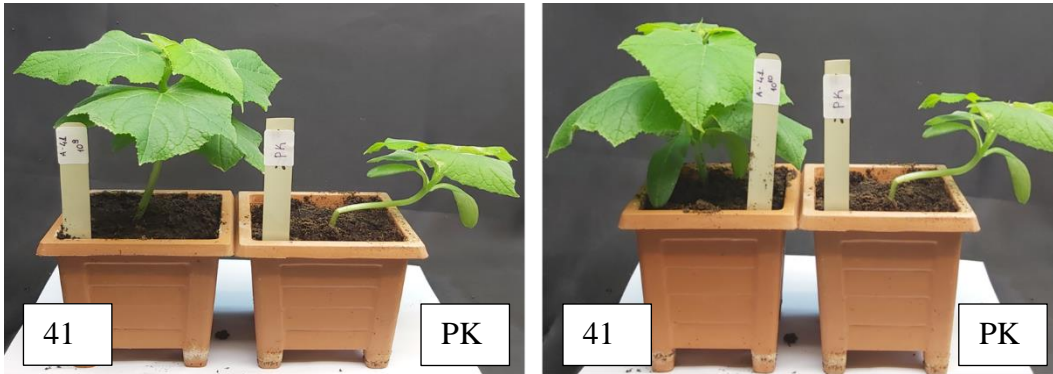
Çizelge 4.1. Formulasyonu yapılan yararlı bakterilerin farklı doz serilerinin, teksele uygulanmaları durumunda, hıyarda bakteriyel köşeli yaprak lekesi etmeni *Psl*'a karşı bitki büyüme odası koşullarında *in vivo*'da biyokontrol etkisi

Biyofarmulasyon no	Farklı doz serilerinde saptanan ortalama hastalık şiddeti (%)		Pozitif Kontrole göre etki (%)***	
	10 <sup>8</sup> cfu/ml*	10 <sup>9</sup> cfu/ml*	10 <sup>8</sup> cfu/ml	10 <sup>9</sup> cfu/ml
41	10.28 a**	5.20 ab**	71.45	85.56
83	3.33 a	1.00 a	90.75	97.23
99	7.16 a	7.52 ab	80.12	79.12
101	19.50 b	14.58 b	45.84	59.50
103	6.00 a	2.66 a	83.34	92.62
112	7.16 a	4.33 a	80.12	87.98
Pozitif Kontrol	36.00 c	36.00 c		
Negatif Kontrol	0.00	0.00		

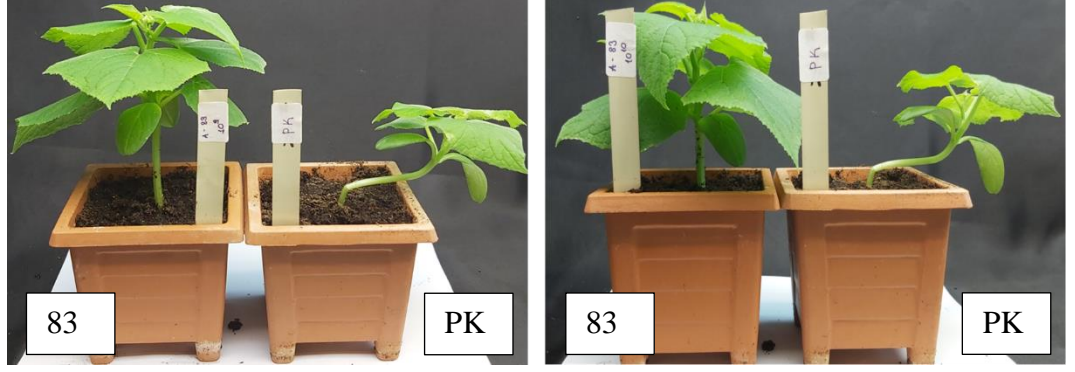
\*değerler 5 tekerrür ortalamasıdır

\*\*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

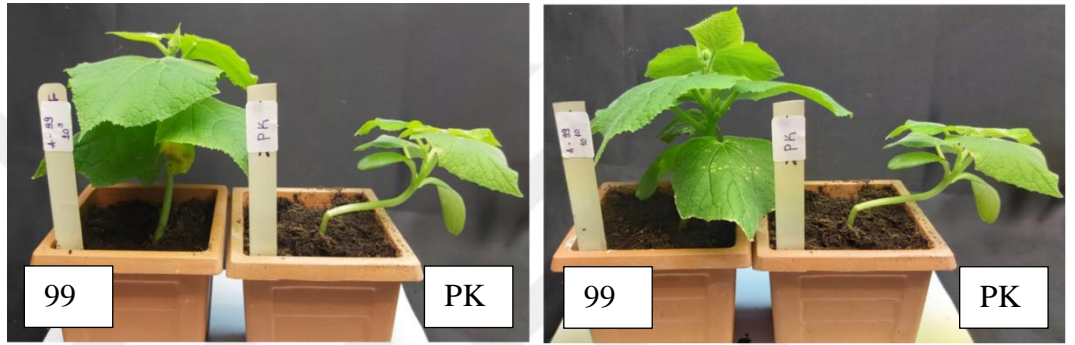
\*\*\*değerler Abbott'a göre uygulamaların Pozitif kontrolden farkını göstermektedir.



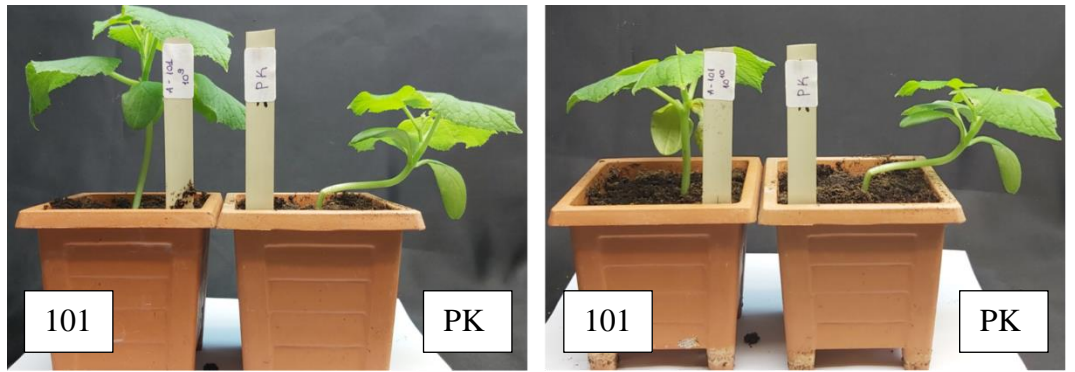
Şekil 4.2. 41 no'lu izolatın *in vivo*'da *Psl*'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması.



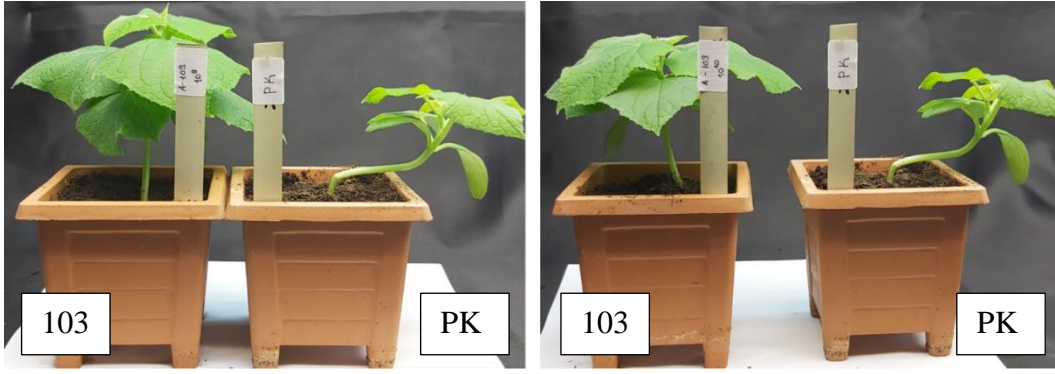
Şekil 4.3. 83 no'lu izolatin *in vivo*'da *Psl*'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması.



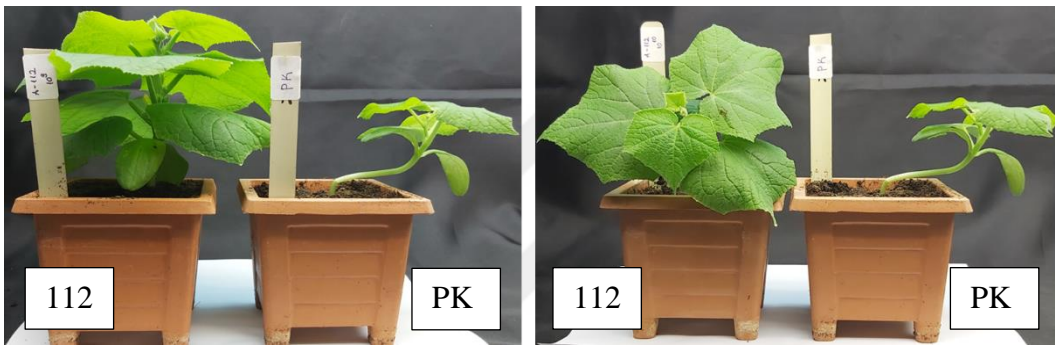
Şekil 4.4. 99 no'lu izolatin *in vivo*'da *Psl*'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması.



Şekil 4.5. 101 no'lu izolatin *in vivo*'da *Psl*'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması.



Şekil 4.6. 103 no'lu izolatin *in vivo*'da *Psl*'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması.



Şekil 4.7. 112 no'lu izolatin *in vivo*'da *Psl*'a etkisinin pozitif kontrol uygulamasıyla karşılaştırılması.

Bu sonuçlar doğrultusunda, farklı genustan olma özellikleri de dikkate alınarak *Psl* için 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis* formülasyonlarının kombinasyon halinde denenmesine karar verilmiştir.

#### 4.1.2 Bakteriye formülasyonların bitki gelişimine etki testi sonuçları

Formülasyonların hastalık baskısı olmaksızın bitki gelişimine etkisi; elde edilen 6 farklı bakteri biyofarmülasyonlarının iki farklı dozunun ( $10^9$  ve  $10^8$  cfu/ml) tohum kaplama ve kök içirme uygulaması yapılarak bitki gelişiminin bitki büyüme odasında izlenmesi ve fide şaşırtma aşamasından sonraki 27-30 günlük bitkilerde yeşil aksam ve kök yaş/kuru biyomas tartımlarının yapılması şeklinde değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler herhangi bir uygulama görmemiş negatif kontrol bitkilerinden elde edilen yaş ve kuru ağırlık değerleriyle karşılaştırıldığında elde edilen veriler Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'de toplu olarak görülmektedir.

Çizelge 4.2'deki bitki yaş ağırlık verilerinden, genel olarak, biyoformulasyon uygulamalarının kök yaş ağırlığı üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı istatistiksel olarak anlaşılmaktadır. Ancak, biyoformulasyon uygulamaları arasında 41, 83, 99 ve 112 nolu bakterilerin yeşil aksam yaş ağırlığını negatif kontrol değerleriyle karşılaştırıldığında, uygulama dozu dikkate alınmaz ise, %12 -53 oranında artırdığı, genel olarak  $10^8$  cfu/ml uygulama dozunun, 41, 83, 99 ve 112 nolu bakterilerin yeşil aksam yaş ağırlığını artırdığı istatistiksel olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.2. Formülasyonu yapılan yararlı bakterilerin, teksel olarak, farklı doz serilerinin hiyarda bitki büyüme odası koşullarında bitki (kök ve yeşil aksam) yaş ağırlığına (biyomasa) etkisi

Uygulama no	Farklı doz serilerinde bitki yaş ağırlığı (g/bitki)*				Negatif Kontrole göre etki (%)***			
	Kök yaş ağırlığı (g/bitki)		Yeşil aksam yaş ağırlığı (g/bitki)		Kök yaş ağırlığına etki (%)		Yeşil aksam yaş ağırlığına etki (%)	
	$10^8$ cfu/ml	$10^9$ cfu/ml	$10^8$ cfu/ml	$10^9$ cfu/ml	$10^8$ cfu/ml	$10^9$ cfu/ml	$10^8$ cfu/ml	$10^9$ cfu/ml
41	0.3 ab**	0.31 a**	8.41cd**	9.36cd**	--	--	20	34
83	0.16 ab	0.38 a	7.82 cd	9.51 cd	--	--	12	36
99	0.36 bc	1.06 b	9.74 de	9.86 d	--	--	39	41
101	0.21 ab	0.17 a	4.93 ab	3.44 a	--	--	--	--
103	0.18 ab	0.25 a	5.01 ab	5.86 ab	--	--	--	--
112	0.55 c	0.47 a	10.70 e	6.95 bc	--	--	53	--
<b>K (-)</b>	<b>2.64 d</b>	<b>2.64 c</b>	<b>6.99 bc</b>	<b>6.99 bc</b>	--	--	--	--

\*değerler 5 tekerrür ortalamasıdır

\*\*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $P < 0.05$ 'e göre önemsizdir.

\*\*\*değerler Abbott'a göre uygulamaların Negatif kontrolden farkını göstermektedir.

Çizelge 4.3'deki bitki kuru ağırlık verilerinden, genel olarak, biyoformulasyon uygulamalarının kök kuru ağırlığı üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı istatistiksel olarak anlaşılmaktadır. Ancak, biyoformulasyon uygulamaları arasında 41, 83, 99 ve 112 nolu bakterilerin yeşil aksam kuru ağırlığını, negatif kontrol değerleriyle karşılaştırıldığında, uygulama dozu dikkate alınmaz ise, %9-43 oranında artırdığı, genel olarak  $10^8$  cfu/ml uygulama dozunun, 99 ve 112 nolu bakterilerin yeşil aksam kuru ağırlığını artırdığı istatistiksel olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.3. Formülasyonu yapılan yararlı bakterilerin, teksel olarak, farklı doz serilerinin hıyarda bitki büyüme odası koşullarında bitki (kök ve yeşil aksam) kuru ağırlığına (biyomasa) etkisi

Uygulama no	Farklı doz serilerinde bitki kuru ağırlığı (g/bitki)*				Negatif Kontrole göre etki (%)***			
	Kök kuru ağırlığı (g/bitki)		Yeşil aksam kuru ağırlığı (g/bitki)		Kök kuru ağırlığına etki (%)		Yeşil aksam kuru ağırlığına etki (%)	
	10 <sup>8</sup> cfu/ml	10 <sup>9</sup> cfu/ml	10 <sup>8</sup> cfu/ml	10 <sup>9</sup> cfu/ml	10 <sup>8</sup> cfu/ml	10 <sup>9</sup> cfu/ml	10 <sup>8</sup> cfu/ml	10 <sup>9</sup> cfu/ml
41	0.07 c**	0.06 abc**	0.53 b**	0.63 c**	--	--	--	13
83	0.06 bc	0.11 cde	0.50 b	0.61 c	--	--	--	9
99	0.08 c	0.16 e	0.67 c	0.68 c	--	--	20	21
101	0.02 a	0.02 a	0.29 a	0.20 a	--	--	--	--
103	0.04 ab	0.04 ab	0.32 a	0.37 ab	--	--	--	--
112	0.12 d	0.08 bcd	0.80 d	0.50 bc	--	--	43	--
<b>K (-)</b>	<b>0.13 d</b>	<b>0.13 de</b>	<b>0.56 bc</b>	<b>0.56 c</b>	--	--		

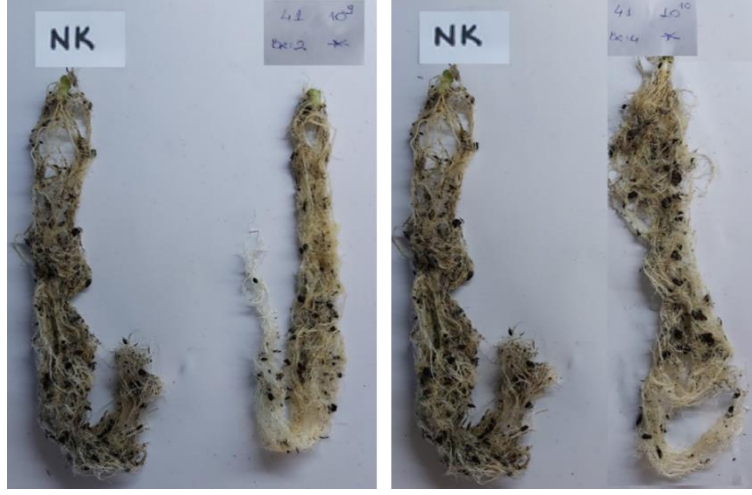
\*değerler 5 tekerrür ortalamasıdır

\*\*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark P< 0.05'e göre önemsizdir.

\*\*\*değerler Abbott'a göre uygulamaların Negatif kontrolden farkını göstermektedir.



Şekil 4.8. 41 no'lu izolatın yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.9. 41 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi.



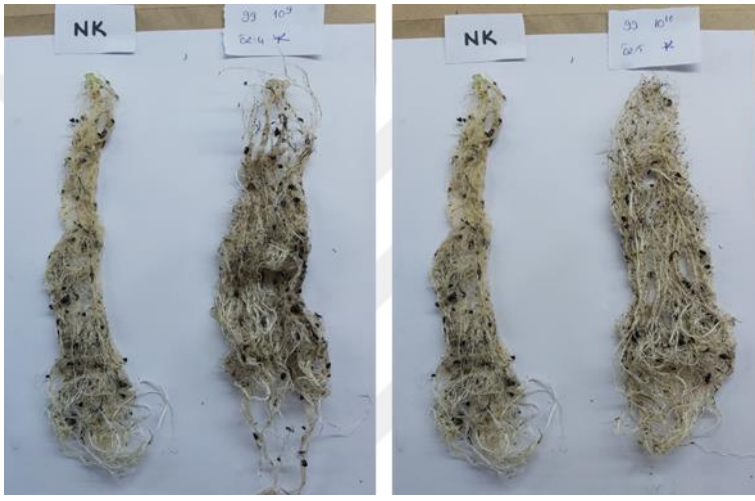
Şekil 4.10. 83 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.11. 83 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi.



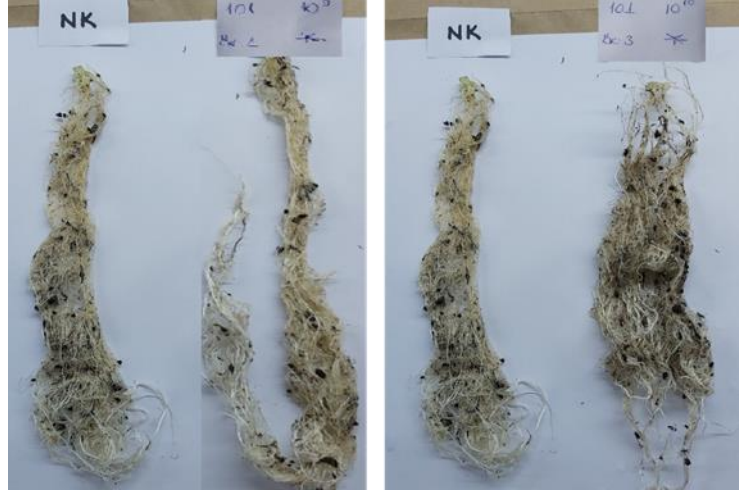
Şekil 4.12. 99 no'lu izolatın yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.13. 99 no'lu izolatın kök bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.14. 101 no'lu izolatın yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.15. 101 no'lu izolatın kök bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.16. 103 no'lu izolatın yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.17. 103 no'lu izolatın kök bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.18. 112 no'lu izolatin yeşil aksam bitki gelişimine etkisi.



Şekil 4.19. 112 no'lu izolatin kök bitki gelişimine etkisi.

#### 4.1.3 Seçilen formülasyonların teksel ve kombinasyon olarak *Psl*'ye etki denemesi sonuçları

4.1.1 bölümünde yürütülen denemelerden elde edilen veriler doğrultusunda *Psl* denemesi için 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis* formülasyonlarının üç farklı dozunun ( $10^7$ ,  $10^8$  ve  $10^9$  cfu/ml) teksel ve kombinasyon halinde denenmesine karar verilmiştir.

Çizelge 4.4'de 83 ve 99 nolu formülasyonların teksel ve karışım halinde 3 farklı dozunun *Psl*' a karşı etkisi ile ilgili elde edilen veriler görülmektedir.

Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi tüm uygulamalar ve denendiği dozları teksele ve kombinasyon halinde Pozitif Kontrolde istatistiksel olarak farklı grupta yer almıştır. Genelde biyoformulasyon uygulamalarının  $10^9$ ,  $10^8$  ve  $10^7$  cfu/ml dozunda da başarılı oldukları dikkati çekmektedir. 83 nolu *P. agglomerans* preparatı hem tek başına hem de *B. thuringiensis* preparatı ile birlikte kullanıldığında, *Psl*’ın yaprak belirtilerini ortalama %54-76 oranında engelleyen en başarılı uygulamalar olmuştur.

Çizelge 4.4. Seçilen yararlı bakterilerin farklı doz serilerinin, teksele ve kombinasyon şeklinde uygulanmaları durumunda, hıyarda bakteriyel köşeli yaprak lekesi etmeni *Psl*’a karşı bitki büyüme odası koşullarında *in vivo*’da biyokontrol etkisi

Uygulamalar	Uygulama dozu (cfu/ml)	Ortalama hastalık şiddeti (%)*	K (+)’e göre etki (%)***
83	$10^7$	11.42 bcd**	52
	$10^8$	9.08 bc	58
	$10^9$	5.64 b	76
99	$10^7$	18.22 d	23
	$10^8$	13.47 cd	43
	$10^9$	11.85 cd	50
83 + 99	$10^7$	16.90 d	28
	$10^8$	10.92 bc	54
	$10^9$	8.98 bc	62
<b>Pozitif Kontrol</b>		<b>23.63 e</b>	--
Negatif kontrol		0.00 a	--

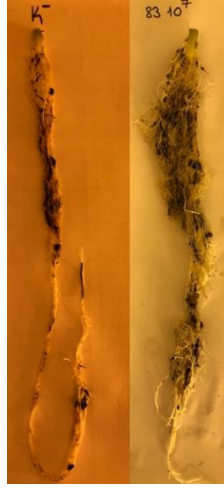
\*değerler 5 tekerrür ortalamasıdır

\*\*Duncan çoklu karşılaştırma testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $P < 0.05$ ’e göre önemsizdir.

\*\*\*değerler Abbott’a göre uygulamaların Pozitif kontrolden farkını göstermektedir.



Şekil 4.20. 83 nolu *Pantoea agglomerans*’ın  $10^7$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.21. 83 nolu *Pantoea agglomerans*'ın  $10^7$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



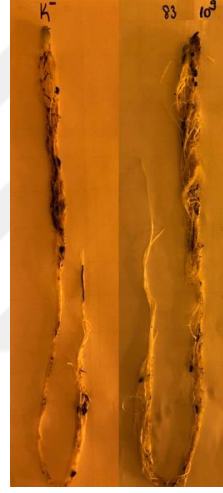
Şekil 4.22. 83 nolu *Pantoea agglomerans*'ın  $10^8$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.23. 83 nolu *Pantoea agglomerans*'ın  $10^8$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



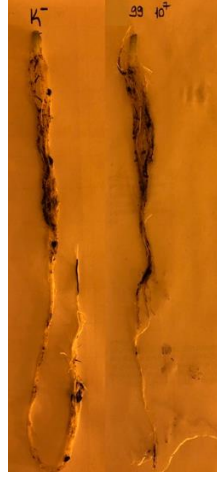
Şekil 4.24. 83 nolu *Pantoea agglomerans*'ın  $10^9$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.25. 83 nolu *Pantoea agglomerans*'ın  $10^9$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



Şekil 4.26. 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^7$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.27. 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^7$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



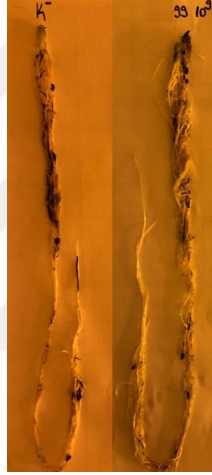
Şekil 4.28. 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^8$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.29. 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^8$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



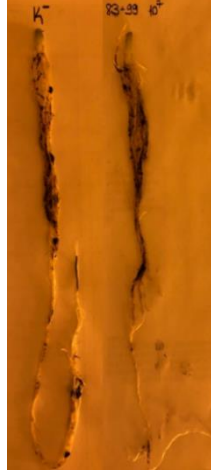
Şekil 4.30. 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^9$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.31. 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^9$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



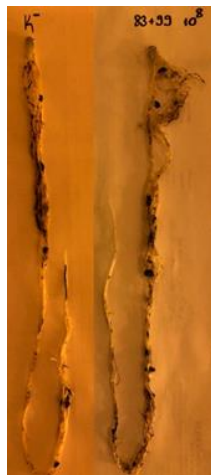
Şekil 4.32. 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^7$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.33. 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^7$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



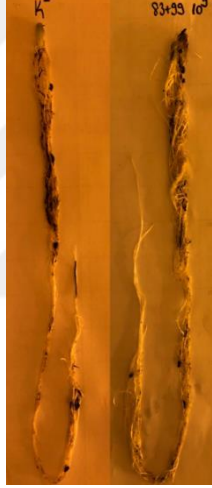
Şekil 4.34. 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^8$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.35. 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^8$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.



Şekil 4.36. 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^9$  uygulama dozunun yeşil aksamda *Psl* gelişimine etkisi.



Şekil 4.37. 83 nolu *Pantoea agglomerans* ve 99 nolu *Bacillus thuringiensis*  $10^9$  uygulama dozunun *Psl* varlığında kök gelişimine etkisi.

#### 4.2 *In vivo* Testlerden Başarıyla Geçen Bakteriyel Formülasyonların Bitki İçinde Kolonizasyonunun İzlenmesi

Rifampicine (200 ppm) ile etiketlenen 83, 99 ve 112 nolu yararlı bakteri izolatları için *Psl*'nin zamana bağlı olarak, hıyar bitkilerinin farklı dönemlerinde sistemik olarak taşınabilmesi ve kolonizasyonundaki değişimler araştırılmıştır.

Çizelge 4.5. Bakteriyeel formuasyonların bitki içince kolonizasyonunun izlenmesi

Uygulamalar	Örnekleme dönemlerinde saptanan bakteri popüasyonu*				
	Tohum bakterizasyonu sonrası (cfu/tohum)	Kotiledon dönemi (cfu/bitki)	İlk gerçek yaprak (cfu/bitki)	İkinci gerçek yaprak (cfu/bitki)	3. gerçek yaprak (cfu/bitki)
83	$1 \times 10^6$	$2 \times 10^5$	$1 \times 10^6$	$1 \times 10^5$	$1.6 \times 10^6$
99	$1 \times 10^6$	$5 \times 10^4$	$5 \times 10^5$	$1 \times 10^4$	$1 \times 10^4$
112	$2 \times 10^6$	$1 \times 10^5$	$2.5 \times 10^6$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^5$
Negatif kontrol	--	--	$1 \times 10^{2**}$	--	

\*Değerler 3 tekerrür ortalamasıdır

\*\*maya benzeri koloniler görülmüştür



Şekil 4.38. 83, 99 ve 112 nolu bakteriyeel preparatların kolonizasyonunun izlenmesi.

*In vivo* saksı denemeleri sonucunda *Ps1*'a başarılı bulunan 83, 99 ve 112 nolu bakteri izolatlarının bakteriyeel formuasyonların tohumlara uygulanmasından 24 h sonra ortalama  $4 \times 10^5$ - $2 \times 10^6$  cfu/tohum düzeyinde bir bakteri popüasyonu ile bakterilerin tohum içine girdiği saptanmıştır. Kotiledon döneminde de bitki içsel dokularında  $5 \times 10^4$ - $5 \times 10^6$  cfu/bitki düzeyinde bir bakteri popüasyonunun saptanması, bu bakteri izolatlarının tohumdan yeni gelişen bitkiye doğru kolonize olduğunu göstermiştir. İlk gerçek yaprak aşamasında bakterilerin hıyar bitkisinde popüasyonu  $1 \times 10^6$ - $5 \times 10^6$  cfu/g bitki düzeyini korumuştur (Çizelge 4.5). İkinci gerçek yaprak aşamasında da bakterilerin popüasyonu  $1 \times 10^4$ - $1 \times 10^5$  cfu/bitki düzeyini korumuştur. Genel anlamda formuasyonu yapılan bakteri izolatları hıyar bitkisinde başarıyla kolonize olduğu gözlenmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Ülkemizde hem örtü altı hemde açıkta yetiştiriciliği yapılan sebze türlerinden biri olan hıyarın ekonomik ürün kayıplarına neden olan hastalıklarının başında *Psl* gelmektedir (Zitter et al., 2010). Bölgemizde bakteriyel köşeli yaprak lekeli hastalığı Cucurbitaceae'lerin önemli hastalıklarındandır (Akbaba ve Özaktan, 2018). Hastalığın sebep olduğu bu zararlar, hıyar yetiştiriciliği için hastalığın önemini ortaya çıkarmıştır.

Hastalığın mücadelesinde kullanılan kimyasalların başta insan sağlığına sonra da çevreye olumsuz etkilerinden dolayı alternatif mücadele yöntemleri arayışına girilmiştir. Biyolojik mücadelenin çevre dostu ve önemli alternatif mücadele yöntemi olması, bitki hastalıklarına karşı yararlı bakterilerin kullanımı yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir (Lilley et al., 1996). Biyolojik mücadele kapsamında, birçok bitki türü ile ilişkili olan yaygın olarak bitkilerin yetiştirildiği ortamlarda bulunan bitki gelişimini destekleyen bakteriler (PGPB) dikkat çekmiştir (Bashan and Holguin, 1998). Hastalık etmeni bakteriler biyolojik mücadeleye etkili bir alternatif olabileceği kabul edilmektedir. Bu YB'lerin patojenlerin biyolojik kontrolünün yanı sıra, aynı zamanda büyümeyi de artırma gibi konukçu bitkiler üzerinde olumlu etkilere sahip olabileceği bildirilmiştir (Ryu vd., 2003; Sturz vd., 1999).

EB'lerin biyolojik savaş elemanı ve bitki büyümesini artırıcı olarak kullanılacak ideal adaylar olabileceği bilinmektedir. Özaktan ve ark., (2015) tarafından yürütülen çalışma kapsamında; açık ve örtü altında yetiştirilen hıyar bitkilerinden izole edilen EB'ler *Psl*'a karşı biyokontrol aktiviteleri ve hıyar bitkisinde verim artırıcı etkileri açısından başarılı olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada EB'ler açısından dikkati çeken bir diğer durum, hıyar bitkilerinin içsel dokularının EB popülasyonu açısından varlığı olmuştur. Bu çalışmada; daha önce yürütülen çalışmalarda hıyar bitkilerinden izole edilen YB'ler *Psl*'a karşı biyolojik mücadele aktiviteleri ve hıyar bitkisinde verim artırıcı etkileri *in vitro* ve *in vivo* (saksı ve sera) denemelerle saptanmış ve başarılı bulunduğu bildirilmiştir. Bu YB'lerden 83 nolu *P. agglomerans* ve 99 nolu *B. thuringiensis*'in mevcut çalışma kapsamında uygun biyofarmulasyonları elde edilerek, deneysel olarak bitki

büyüme odası ile sera koşullarında denenerek biyolojik mücadele ve biyogübre olarak bir potansiyelleri olduğu gözlenmiştir (Özaktan ve ark., 2015).

Endofitler birçok yollarla bitki büyümesini teşvik edebilmektedirler. Bu yollar arasında fosfatı parçalama (Verma vd., 2001; Wakelin vd., 2004), indol asetik asit, sitokinin üretimi (Lee vd., 2004) ve siderofor üretimi bulunmaktadır. Ayrıca EB'ler bitkiler için gerekli vitaminleri sağlamak (Pirttilä vd., 2004), stomaların açılmasının düzenlenmek, kök morfolojisini değiştirmek, minerallerin alımı ile birlikte azot birikimi (Compant vd., 2005a) sağlamak gibi aktivitelere de sahiptir. Ayrıca, hastalık baskısı altında EB izolatlarının PGPR özelliklerinin devreye girdiği ve hastalığın verime olan olumsuz etkisini azalttığı öne sürülmüştür (Bashan ve Holguin, 1997; Gupta vd., 2015). EB strainlerinin ürettiği etilen, oksin ve sitokinin gibi bitki büyüme düzenleyicileri, bitki büyüme ve gelişmesinin değişimine sebep olan faktörler olarak değerlendirilmektedir (Arshad ve Frankenberger, 1991; Leifert vd., 1994). Bu çalışmada hıyar bitkisinde bitki gelişimi ve *Psl*'a biyolojik mücadele aktivitesi açısından testlenen 83 no.lu *P. agglomerans* izolatının Özaktan ve ark., (2015) tarafından gerçekleştirilen 2 farklı dönemdeki sera denemesinde negatif kontrole oranla biyokütle ve verimde artış sağlaması ve *Psl*'a da etkili bulunması dikkati çekmiştir. Bu izolatın en belirgin özelliği *in vitro*'da yüksek düzeyde IAA (45 ug/ml) üretmesi ve güçlü siderofor salgılama yeteneği göstermesi, bitki büyüme parametresi kanıtları olarak kabul edilmiştir.

Biyolojik kontrolde bakteriyel metabolitlerin, uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) olarak adlandırılan bir süreç ile bitkilerin patojenlere karşı dayanıklılığını arttırarak, bitkileri etkilemesi de önemli rol oynamaktadır. SAR, sinyal molekülü olarak bilinen salisik asit'e bağımlıdır. Ayrıca PR-1, PR-2 and PR-5 gibi bir dizi patogenesisiz ile ilişkili proteinin sistemik uyarımı ve salisilik asit seviyelerindeki artışa bağlı olarak ortaya çıkmaktadır (Hammerschmidt, 2009). ISR ise jasmonik asit ve etilen ile bağlantılıdır. Ayrıca PR-3, PR-4, PDF1.2 gibi proteinler, kitinazlar, kitini bağlayan proteinler ve defencin'lerin sistemik olarak düzenlenmesinin sonucunda ortaya çıkmaktadır (Edrawa, 2005; Ellis and Turner, 2001). Araştırmacılar PR1'i SAR belirteci olarak kullanmaktadırlar. PR'lerden PR3 ve PR 8 (Cucumber chitinase type III)'in, kitinazın fungal miselyal yapısını bozduğu bilinmektedir.

PR8'in PR3 ten farklı olarak SA değil de JA pathway'i ile tetiklendiği bildirilmektedir (Edrawa, 2005, Shores, 2005; Van Loon 2007).

PAL (phenylalanine ammonia-lyase), phenylpropanoid biosentez yolunun ilk enzimidir. Phenylpropanoid yolu lignin ve fenollerin öncüllerini oluşturur. PAL enzimi enfeksiyon sonrasında ekspresyonu hızla artan anahtar bir enzimdir. PAL geninin ekspresyonu biotik ve abiotik faktörlerden yaralama, UV ışığı, patojenlerle enfeksiyon ve elisitörlerle inkübasyon ve ağır metal tuzlarıyla indüklenir (Levee ve Seguin, 2001). Özaktan vd (2015), PAL1 geninin EB izolatları (83, 99 nolu) ile birlikte *Psl* inokülasyonundan sonra en fazla ifade artışı gösterdiğini RealTime PCR ile kanıtlamıştır. SA ile regüle olan PAL1 geninin aktivasyonu bitkide ISR'yi tetiklediği düşünülmektedir. Bitki Lipoxygenases (LOX) genleri multigenik bir aileye sahip olup patojenlere ve yaralanmalara karşı bitki savunma mekanizmalarında önemli rol oynarlar (Marla ve Sing, 2012). Özaktan vd (2015), JA ile regüle olan LOX geninin ifadesinin 99 nolu EB izolatı ile birlikte *Psl* inokülasyonundan sonra en yüksek ifade profili gösterdiğini, 83 nolu EB izolatı ile *Psl* inokülasyonundan 2 saat sonra LOX geninin ifadesinin maksimum düzeye ulaştığını saptamıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar ışığında; LOX geninin aktivasyonunun ISR'in tetiklenmesinde etkili olduğunu öne sürebiliriz. Böylece; bir önceki çalışmada biyolojik mücadele ve bitki gelişimi açısından başarılı bulunan 83 ve 99 nolu bakteri izolatlarının ISR/SAR'ın determinantlarının moleküler kanıtlarını sağlaması bize bu bakterilerin etki mekanizmasını da açıklamada yardımcı olmaktadır (Özaktan vd., 2015).

EB'ler uygulandıkları noktalardan aşağı ve yukarı doğru taşınabilir, içsel dokularda kolonize olabilir ve vasküler silindir içerisine herhangi bir patojenin girişini engelleyebildiği bildirilmiştir. EB izolatlarının kolonizasyon ve popülasyon dinamiği sonuçlarına bakıldığında; bitki dokusu içinde farklı bakterilerin farklı popülasyon düzeylerine ulaşabileceği ve başarılı bir tohum bakterizasyonunun başarılı bir biyolojik mücadele ve kolonizasyon için yeterli olacağı izlenimini vermektedir. Tüm bu çalışmalar sonucunda biyolojik mücadelenin son hedefi ise, etkili mikroorganizmaların geniş ölçekte üretilerek canlılık ve raf ömürlerinin korunabildiği uygun formülasyonlara dönüştürülebilmesi biyopreparat üretimi için kaçınılmazdır.

Biyopreparat üretimi geliştirilebilmesi için hazır besiyeri olarak kullanılan sentetik besiyerlerinin büyük ölçekli ticari biyopreparat üretiminde ekonomik olarak kullanmak pek mümkün değildir. Bunun en büyük sebebi ise pahalı olmasıdır. Üretilen formülasyonların ticarileştirilebilmesi için YB'lerin geliştirileceği besiyerinin ucuz ve aynı zamanda ulaşılabilir olması en çok dikkat edilmesi gereken konulardan biridir. Özaktan ve ark. (1999)'nın Ateş Yanıklığı hastalığına karşı yürüttüğü, *Pantoea agglomerans* ve *Pseudomonas fluorescens*'in talk katkılı WP biyoformülasyonlarını ürettikleri çalışmada bakteriyel biyo-kütlenin elde edilmesi aşamasında ucuz ve ulaşılabilirlik ilkelerini sağlayan süt tozu, melas ve süt tozu+melas karışımı gibi substratlarla hazırladıkları sıvı besiyerleri kullanılmıştır. Aynı zamanda ürün performansı üzerindeki etkili formülasyonlar ise geliştirilmesi gereken en önemli alan haline geldiği bildirilmiştir. Ürün formülasyonu oldukça hedefe özeldir ve bu sebeple formülasyonların geliştirilmesi oldukça zordur. Bunun nedeni, formüle edilen ürünün gerekli iyi fiziksel özelliklerinin ve kullanım kolaylığının yanı sıra, aynı zamanda biyolojik mücadele etmeni depolama ve uygulama sırasındaki işlevsel özellikleri olduğu bildirilmiştir (Woods, 2003).

Daha önce yürütülen bir çalışmada, hıyar bitkilerinden izole edilen 83 ve 99 nolu EB'lerden elde edilen liyofilize WP formülasyonlar *Psl*'a karşı biyolojik mücadele aktiviteleri ve hıyar bitkisinde gelişmeyi artırıcı etkileri açısından başarılı bulunmuştur. Yapılan denemeler sonucunda *P. putida* ile uygulama görmüş hıyar bitkileri kontrolle karşılaştırıldığında, hastalık çıkışında %40 oranında bir azalış olmuş ve buradaki etkinin siderofor etkiden kaynaklandığı anlaşılmıştır (Scher ve Baker, 1982). 83 nolu *P. agglomerans* izolatından elde edilen liyofilize formülasyon ile uygulama gören hıyar tohumlarından gelişen sağlıklı bitkilerde bu bakterinin populasyon yoğunluğu  $10^5-10^6$  cfu/g bitki düzeyinde, 99 nolu *B. thuringiensis* izolatında ise  $10^4-10^5$  cfu/g bitki düzeyinde saptanmıştır. Bakteri izolatlarının ulaştığı bu değerler, Raaijmakers vd., (1995) tarafından öne sürülen eşik değer olan  $10^5$  cfu/g bitki değerine genel olarak ulaştıklarını göstermektedir. Bu eşik değer özellikle ISR açısından önem taşımaktadır. 83 nolu *P. agglomerans* izolatı liyofilize WP fomülasyon halinde tohum ve kök içirme uygulaması biçiminde *Psl*'a karşı en başarılı formülasyon olmuştur. Test edilen bakteriyel izolatların formülasyon haline

getirildikten sonra da bitki içinde kolonize olarak literatürde belirtilen ve istenen popülasyon yoğunluklarına ulaşabilmesi de tezin amacına ulaştığının göstergesidir.

Fisher vd., (1992) tarlada mısır bitkilerinde EB'lerin dağılımını incelemişler ve bitkilerin toprağa yakın olan bölümlerinde üst kısımlarına göre daha yoğun kolonize olduğunu bildirmişlerdir. Genel olarak, kökboğazı ve kök dokuları, endofit bakterilerin sayı ve biyoçeşitlilik açısından zengin olduğu alanlardır. Farklı bitki dokularında endofit bakterilerin popülasyonlarının  $10^3$ - $10^6$  cfu/g ve ender olarak  $10^7$  cfu/g ile sınırlı olduğu bildirilmiştir (Chanway, 1998). Endofit bakteriler arasındaki yüksek biyoçeşitliliği Mundt ve Hinkle (1976) ile Mc Inory ve Klopper (1995) belirtmiştir. Birçok bitki türü için bitki dokularında EB'lerin popülasyon yoğunluğu  $1 \times 10^3$ - $1 \times 10^5$  cfu/g arasında değişmiştir (Frommel vd., 1991; Dong vd., 1994; Lamb vd., 1996; Quadt-Hallmann ve Kloepper, 1996). Başlangıçtaki inokulum miktarından bağımsız olarak, endofitik popülasyonlar bitki dokularına bağlı olarak optimal büyüklüğe ulaşma eğilimlidir. Endofitik *Pseudomonas* sp. ile inokule edilmiş olan patateslerde, kök popülasyonunun final popülasyon yoğunluğu  $1 \times 10^6$  cfu/cm olup başlangıç popülasyonuna göre artış gösterirken, gövde final popülasyon yoğunluğu,  $3.3 \times 10^5$  cfu/cm başlangıç popülasyonundan,  $1.9 \times 10^3$  cfu/cm popülasyon yoğunluğuna doğru düşüş göstermiştir (Frommel vd., 1991).

Akpınar., (2020) Ege Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda 5 farklı YB preperatı olan biyoformülasyon çalışmalarının ilk basamağı olan NB'da yapılan üretim sonucunda elde edilen canlılık değerlerinin, ucuz substratlardan karbon kaynağı olarak melas ve mısır şurubu; azot kaynağı olarak maya ve soya unu kombinasyonları kullanılarak yapılan üretimden elde edilen canlılık değerleriyle karşılaştırıldığında, benzer değerlerde sonuçlar alınmış olması ve canlılık kaybının gözlemlenmemiş olması, üretilen biyopreparatın gelecekte ticarileştirilebilmesi açısından önemli bir sonuç olduğu kanıtlanmıştır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma da bazı bakteriyel formulasyonların, hıyar bitkisinde bakteriyel köşeli yaprak leke hastalığına (*P. syringae* pv. *lachrymans*) ve bitki gelişimine etkisi araştırılmış ve belirlenmiştir. Çalışmalarından elde edilen bulgular doğrultusunda aşağıda sonuç ve öneriler değerlendirilmiştir.

1. Ülkemizde örtü altı ve açıkta yetiştiriciliği yapılan hıyar'ın ekonomik ürün kayıplarına neden olan hastalıklarının başında *Psl* gelmektedir. *Psl* için *in vivo* saksı denemeleri sonucunda en başarılı bulunan uygulama 83 nolu *P. agglomerans* olmuştur, bunu 99 nolu *B. thuringiensis* izolatı izlemiştir.
2. Çalışmada biyolojik preparatların bitki gelişimine etkisi de araştırılmıştır. PGPR olarak nitelendirilen bu yararlı bakterilerden bitki gelişimine etkinliği en yüksek preparat 83 nolu *P. agglomerans* izolatı olarak belirlenmiştir.
3. 83 ve 99 gibi liyofilize WP biyoformulasyonlarla tohum uygulamaları, bitki patojeni bakteri *Psl*'a biyolojik mücadele preparatı olarak etkisinin yanısıra, bitki gelişim parametrelerini de uygulama görmemiş negatif kontrole kıyasla olumlu etkilemiştir.
4. Bu sonuçlara bakılarak bakteri formulasyonlarının hıyar seralarında biyogübre olarak kullanılabileceği ve verimi arttırabileceği ön görülmektedir.
5. Genel anlamda 83 nolu *P. agglomerans* formulasyonu hıyar bitkisinde başarıyla kolonize olarak popülasyonunu logaritmik anlamda arttırmış ve biyolojik mücadele elemanları için istenen eşik değer üzerinde bir popülasyon yoğunluğu elde edilmiştir. Böylece biyolojik savaş elemanları ve biyoformulasyonlar için bir kriter daha gerçekleşmiştir.
6. Bakteriyel formulasyonların, bitki dokuları içerisinde kolonize olabilmeleri, ekstrem çevre koşullarından korunmalarına da olanak sağlamaktadır. Bu bağlamda, kontrollü ortamlarda etkin bulunan bu mikroorganizmaların tarla koşullarına taşınması ve adapte edilebilmesi konusunda da çalışmaların arttırılması gerekmektedir.
7. Bu bakteri formulasyonlarının büyük ölçekte üretim ve formulasyonları konusunda endüstrinin yatırım yapması gerektiği ve bu konuda endüstriye

teknolojik ve bilimsel anlamda destek (know-how) sağlanması gerekmektedir.

8. Bitki korumaya yönelik daha güvenilir ürünlere duyulan gereksinim gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Bu sebeple iyi etkinlik ve stabiliteye sahip biyoformulasyonların pratikte kullanımı için bürokratik anlamda ticarileşme engelleri aşılmalıdır.



## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agios, G.**, 2005, *Plant Pathology*. Fifty Ed. ed. s.l.: Elsevier Acedemic Pres, 922p.
- Akbaba, M. and Ozaktan, H.**, 2018, Biocontrol of angular leaf spot disease and colonization of cucumber (*Cucumis sativus* L.) by endophytic bacteria, *Egypt J Biol Pest Control*, 28:14.
- Akbaba, M.**, 2014, Bitki gelişimini Artıran Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Bakteriyel Köşe Yaprak Leke Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) Önlenmesinde Kullanılma Olanakları. İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. YL tezi. 3 s.
- Akköprü, A.**, 2012, Hıyar Bakteriyel Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) Bazı Kök Bakterileriyle Biyolojik Savaşımı Üzerinde Araştırmalar. İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. Doktora tezi.136 s.
- Akpınar, J.**, 2020, Bitki Patojenlerinin Biyolojik Mücadelesinde Kullanılacak Yararlı Bakterilerin Geniş Ölçekte Üretilmesi ve Formülasyonu Üzerinde Araştırma. İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. YL tezi. 42 s.
- Aksoy, H. M.**, 2006, Occurance of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith and Bryan) Young, Dye and Wilkie) at Bafra province Geenhouses. *Plant Pathology Journal*, 5 (1); 80-82.
- Anonimus**, 2002, Bitki Koruma El Kitabı. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı İzmir İl Müdürlüğü. İzmir. S; 536.
- Anonymus**, 2008b, Zirai Mücadele Teknik Talimatları, GTHB basım yeri, Ankara.
- Antoun, H. and Prévost, D.**, 2006, Ecology Of Plant Gowth Promoting.1-39. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Netherlands: Springer, (eds) Z. A. Siddiqui. 318p.
- Arshad, M., Frankenberger, W.T.** 1991, "Microbial production of plant hormone". *The Rhizosphere and Plant Growth*." Editörler: Keister, P.B., Cregan, P.B., Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Barbieri, P., Zannelli, T., Galli, E., and Zanetti, G.** 1986, Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiol. Lett.*36:87–90.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bartelt, R.J., McGuire, M.R. and Black, D.A.,** 1990, Feeding Stimulants for the European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae): Additives to a Starch-Based Formulation for *Bacillus thuringiensis*. *Environmental Entomology*, 19(1):182– 189 pp.
- Bashan Y. and Holguin G.,** 1997,"Azospirillum-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996)." *Can. J. Microbiol.*, 43,103–121.
- Bashan, Y. and Holguin, G.,** 1998, Proposal for the division of plant growth promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (Plant growth-promoting bacteria) and PGPB. *Soil Biol. Biochem.* 30:1225–1228.
- Bora, T.,** 2001, Prokaryotik bitki hastalıkları. İzmir: Ders notu, 90. s.
- Boyetchko, S., E. Pedersen., Z. Punja and M. Reddy.** 1998, Formulation of biopesticides. In Hall, F. R. and Menn, J. J. (eds.), *Biopesticides: Used and Delivery Methods in Biotechnology* (p. 487-508). Humana Press in Biotechnology.
- Bradbury, J. F.** 1986, *Guide to Plant Pathogenic Bacteria*. CAB International Mycological Institute, p. 329.
- Bradbury, J. F.,** 1986, *Guide to Plant Pathogenic Bacteria*. Surrey, England: CAB International Mycological Institue. 586 s.
- Braun-Kiewnick, A. and Sands, D. C.** 2001, *Pseudomonas* pp. 84-120. In: *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria, third edition* (Eds. N. W. Schaad, J. B. Jones and W. Chun). *The American Phytopathological Society*, Minnesota, USA.
- Brien, R. and Lindow, S.,** 1989, Effect Pf Plant Species And Environmental Conditions on Epiphytic Population Sizes of *Pseudomonas Syringae* And Other Bacteria. *Phytopathology*, 79(5), pp. 619-627.
- Brisset, M.N., Luisetti, J., and Gaignard, J.L.** 1993, Firestop: a chemical against bacterial diseases of fuit trees recently available in Europe [slow release formulation of flumequinine]. *Agronomie* 11, 93-99.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Brown, M.** 1974, Seed and root bacterization. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12: 181–197.
- Carsner, E.,** 1918, Angular-Leafspot of cucumber: Dissemination, overwintering and control. *Journal of Agricultural Research*, XV (3); 201-220.
- Chand, J. N. and Walker, J. C.** 1964b, Inheritance of resistance to angular leaf spot of cucumber. *Phytopathology* 54: 51-53.
- Chanway, C. P.** 1998, Bacterial endophytes: ecological and practical implications. - *Sydowia* 50(2). 149-170.
- Compant, S., Clément, C. and Sessitsch, A.,** 2010, Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization, *Soil Biol. Biochem.* 42, 669-678pp.
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C. and Barka, E.A.** 2005a, "Use of plant growth-promoting bacteria for the control of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects". *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4951-4959.
- Conlin, K.C., and McCarter, S.M.** 1983, Effectiveness of selected chemicals in inhibiting *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* *in vitro* and in controlling bacterial speck. *Plant Dis.* 67,639-644
- Costa, J.M and Loper, J.E.,** 1994, Characterization of siderophore production by the biological-control agent *Enterobacter cloacae*. *Mol Plant Microbe Interact* 7: 440–448.
- David B. V., Chandrasehar G., and Selvam P. N.,** 2018, *Pseudomonas fluorescens*: A Plant-Growth-Promoting Rhizobacterium (PGPR) With Potential Role in Biocontrol of Pests of Crops. *Crop Improvement Through Microbial Biotechnology*, 221–243 pp.
- Davison, J.** 1988, Plant beneficial bacteria. *Bio-Technology* 6:282–286.
- Dessert, J., Baker, L. Fobes, J.,** 1982, Inheritance of reaction to *Pseudomonas lachrymans* in pickling cucumber. *Euphytica*, 31(847-855), p. 3.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dong, Z., Canny, M.J., Mc Cully, M.E., Roboredo, M.R., Cabadilla, C.F., Ortega, E., Rodés, R.** 1994, "A nitrogen fixing endophyte of sugarcane stems." *Plant Physiol.*, 105, 1139–1147.
- Dunkle, R. L., and Shasha, B. S.,** 1988, Starch-Encapsulated *Bacillus thuringiensis*: A Potential New Method for Increasing Environmental Stability of Entomopathogens1. *Environmental Entomology*, 17(1):120–126.
- Edreva, A.** 2005, "Pathogenesis-Related Proteins: Research Progress in the Last 15 Years." *Gen. Appl. Plant Physiology*, 31(1-2), 105-124.
- Ellis, C., Turner, J.G.** 2001, "The Arabidopsis mutant *cev1* has constitutively active jasmonate and ethylene signal pathways and enhanced resistance to pathogens." *Plant Cell*, 13, 1025-1033.
- EPPO/OEPP European and Mediterranean Plant Protection Organization,** 2004, Outdoor Cucurbits. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 34, 101–108.
- FAO,** 2017, Food And Agriculture Organization Of The United Nation <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Fatmi, M., Bougsiba, M. and Hosni, T.,** 2008, Angular Leaf Spot of Cucurbits: A Bacterial Disease in Expansion in Morocco. In: *Pseudomonas syringae Pathovars and Related Pathogens – Identification, Epidemiology and Genomics*, s.l.: Springer Science + Business Media, B.V, pp. 381-390.
- Fredrickson, J. K. and Elliott, L. F.** 1985, Effects on winter wheat seedling growth by toxin producing rhizobacteria. *Plant Soil*. 83: 399–409.
- Frommel, M. I., Nowak, J., Lazarovits, G.** 1991, "Growth enhancement and developmental modifications of in vitro grown potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) as affected by a nonfluorescent *Pseudomonas* sp." *Plant Physiol.*, 96, 928–936.
- Fuentes-Ramirez, L. and Caballero-Mellado, J.,** 2006, Bacterial Biofertilizers. pp. 145-172., *PGPR: Biocontrol andnBiofertilization*. (Eds): Z. A. Siddiqui., Springer, 318. p.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gagné, S., Richard, C., and Antoun, H.** 1989, Pouvoir pathogène des bactéries endoracinaires de la luzerne. *Can J. Plant Pathol.* 11: 22–27.
- Gašić, S. and Tanović, B.** 2013, Biopesticide Formulations, Possibility of Application and Future Trends. *Journal Pesticides and Phytomedicine (Belgrade)*, 2, 97-102.
- Gilbert, W. W. and Gardner, M. W.** 1918, Seed treatment control and overwintering of cucumber angular leaf spot. *Phytopathology* 8: 229-233.
- Glick, B.R.** 1995, The enhancement of plant growth by free living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41: 109–117.
- Gupta G., Parihar S.S., Ahirwar N.K., Snehi S.K. and Singh V.,** 2015, Journal of Microbial and Biochemical Technology, 7:2 p.
- Gül, A, Tüzel, İ.H., Okur, B., Tuncay, Ö., Aykut, N., Engindeniz, S** 2000, Serada Topraksız tarım tekniği ile Hıyar Yetiştiriciliği. Tübitak, TAPAR yayınları. İzmir. 51 p.
- Gül, A.** 2005, Bahçe Bitkileri Tarımında Çevre Dostu Üretim Teknikleri. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir.140 s.
- Gül, A., Özaktan, H., Tüzel, Y. and Öztan Kıdoğlu, F.,** 2008, Önemli sera sebze türlerinde bazı kök bakterilerinin bitki gelişimi, verim ve besin maddesi alınımına etkileri, İzmir: TÜBİTAK, 105 O 571 nolu proje kesin raporu.
- Haas, J. and Rotem, J.,** 1976, *Pseudomonas lachrymans* inoculum on infected cucumber leaves subjected to dew- and rain-type wetting. *Phytopathology*, 66, 1219-1223p.
- Hallman, J., A. Quadt-Hallman, W. F. Mahafee, and J. W. Kloepper.** 1997, Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43: 895–914.
- Hammerschmidt, R.,** 2009, "Systemic Acquired Resistance". *Advances in Botanical Research, Plant innate immunity.* Editör: van Loon, L.C. Elsevier.
- Hellmers, E.** 1950, Angular leaf spot of cucumbers *Pseudomonas lachrymans* (Smith and Bryan) Casner in Denmark. *Transactions of Denmark Academy of Technology and Sciences* No. 9, p. 28.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Holland, M. A.** 1997, Occam's razor applied to hormonology: are cytokinnins produced by plants? *Plant Physiol.* 115:865–868.
- Jacobson, C. B., Pasternak, J. J., and Glick, B. R.** 1994, Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Can. J. Microbiol.* 40:1019–1025.
- Jindal, K. K.** 1994, Occurrence of angular leaf spot bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* on cucumber plant. *Plant Disease Research* 9: 66-67.
- Jones K. A., and Burges H. D.,** 1998, Technology of formulation and application, pp. 7Đ30. In H. D. Burges (Ed.), *Formulation of microbial biopesticide*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Junker B.,** 2004, Scale-up methodologies for *Escherichia coli* and yeast fermentation processes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 97: 347-364 pp.
- Kado, C. I.,** 2010, *Plant Bacteriology*. Minesota, USA: APS Press.
- Kagiwata, T.** 1990, Bacteriological characters of cucumber angular leaf spot pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. *Journal of Agricultural Science* 35: 116-128.
- Karaca, İ. ve Demir G.,** 1988, Bazi kultur bitkilerinde tohumla tasinan bakteriyel etmenler uzerinde arastirmalar. *Doga, Turk Tarim ve Ormancilik Dergisi* 12 (2): 120-131.
- Keppler, L. D. and Novacky, A.** 1986, Involvement of membrane lipid peroxidation in the development of a bacterially induced hypersensitive reaction. *Phytopathology* 76: 104-108.
- Khlaif, H. and Abu-Blan, H.** 1994, Effectiveness of selected fungicides and bactericides in inhibiting *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in vitro and in controlling the pathogen in green house. *Dirasat Series-B, Pure and Applied Sciences* 21: 115-125.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kim, W.I.; Cho, W.K.; Kim, S.N.; Chu, H.; Ryu, K.Y.; Yun, J.C; Park, C.S.** 2011, Genetic Diversity of Cultivable Plant Growth-Promoting Rhizobacteria in Korea. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 21(8); 777-790p.
- Kloepper, J. W., and M. N. Schroth.** 1978, Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes, p. 879–882. In *Station de pathologie vegetale et phyto-bacteriologie* (ed.), *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, vol. II. Gilbert-Clarey, Tours, France.
- Kloepper, J. W., R. Rodriguez-Ubana, G. W. Zehnder, J. F. Murphy, E. Sikora, and C. Fernandez.** 1999, Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Austral. Plant Pathol.* 28:21–26.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, K. and Zablutowicz, R.M.,** 1989, Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnology*, 7(1): 39–43 pp.
- Kloepper, J. W.,** 2003, A review of Mechanisms for Plant Growth Promotion by PGPR. 6th International PGPR Workshop, 5-10 October, Calicut, India., 81-92p.
- Kloepper, J. W., and M. N. Schroth.** 1978, Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes, p. 879–882. In *Station de pathologie vegetale et phyto-bacteriologie* (ed.), *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, vol. II. Gilbert-Clarey, Tours, France 900 p.
- Klossowska E,** 1976, Studies on the inheritance and selection advance regarding resistance to angular leaf spot of cucumber (*Pseudomonas lachrymans*). *Genetica Polonica*, 17(2):181-190
- Knosel, D.** 1965, Leaf sprays with antibiotics on cucumber against *Pseudomonas lachrymans*, agent of angular leaf spot. *Zeitschrift für pflanzenkrankheiten - und Pflanzenpathologie - und-pflanzenschutz* 72: 577-584 (C.f: Review of Applied Mycology 45: 1981).

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kosanke J.W., Osburn R.M., Shuppe G.I. and Smith R.S.,** 1992, Slow rehydration improves the recovery of dried bacterial populations. *Canadian Journal of Microbiology*, 38(6):520–525 pp.
- Kritizman, G. and Zutra, D.,** 1983, Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in soil plant debris, and the rhizosphere of non-host plant. *Phytoparasitica*, Issue 11; 99-108.
- Krivchenko, V. I., and Medvedeva, N. I.** 1985, Intraspecific differentiation of the bacterial pathogen of cucumber *Pseudomonas lachrymans*. *Sbornik Nauchnykh Trudov po Prikladnoi Botanike, Genetike i Seleksii* 92:92-97.
- Kumar, S.** 2014, Plant disease management in India: Advances and challenges. *African Journal of Agricultural Research*, 9(53), 3838-3852 pp.
- Lamb, T. G., Tonkyn, D. W., Kluepfel, D. A.** 1996, "Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue." *Can. J. Microbiol.*, 42, 1112–1120.
- Lazarovits, G. and Nowak, J.** 1997, Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hortscience* 32: 188–192.
- Lee, S., Flores-Encarnacion, M., Contreras-Zentella, M., Garcia-Flores, L., Escamilla, J.E., and Kenned, C.,** 2004, Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome C biogenesis genes. *J Bacteriol* 186: 5384–5391.
- Leifert, C., Morris, C.E., Waites, W.M.** 1994, "Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants reasons for contamination problems in vitro." *Crit. Rev. Plant Sci.*, 13, 139–183.
- Lelliot, R. and Stead, D.,** 1987, *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants*. s.l.: Oxford: Blackwell Scientific Publications.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lilley A.K., Fry J.C., Bailey M.J., Day M.J.** 1996, "Comparison of aerobic heterotrophic taxa isolated from four root domains of mature sugar beet (*Beta vulgaris*)." *FEMS Microbiol. Ecol.*, 21, 231–242.
- Marla SS ve Singh VK** 2012, LOX genes in blast fungus (*Magnaporthe grisea*) resistance in rice. *Funct Integr Genomics* 12(2):265-75. doi: 10.1007/s10142-012-0268-1
- Mayak, S., T. Tirosh, and B. R. Glick.** 2004, Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol. Biochem.*42:565–572.
- McGuire M.R., and Shasha B.S.,** 1995, Starch Encapsulation of Microbial Pesticides, ACS Symposium Series, 229–237 pp.
- McInroy, J.A., Kloepper, J.W.** 1995, "Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn." *Plant Soil*, 173, 337–342.
- McKinley D.J., Moawad G., Jones K.A., Grzywacz D. and Turner C.,** 1989, The development of nuclear polyhedrosis virus for the control of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) in cotton. In: Green, M.B., de Lyon, B. (Eds.), *Pest Management in Cotton*, Ellis Horwood, New York, 93–100 pp.
- McManus, P. S., Stockwell, V. O., Sundin, G. W. and Jones, A. L.,** 2002, Antibiotic Use In Plant Agriculture. *Annual Review of Phytopathology*, Volume 40, pp. 443-465.
- Medvedev, A. V., Medvedeva, N. I.,** 1989, Promising cucumber varieties for breeding for resistance to angular leaf spot. *Sbornik Nauchnykh Trudov po Prikladnoĭ Botanike, Genetike i Seleksii* 123, 63-66.
- Monteiro S.M., Clemente J.J., Henriques A.O., Gomes R.J., Carrondo M.J., and Cunha A.E.,** 2005, A procedure for High-Yield Spore Production by *Bacillus subtilis*. *Bitechnology Progress*, 21:1026-1031 pp.
- Mukai, H., Kagiwata, T., Suyama, K. and Yano, H.** 1976, On chemical tolerance of *Pseudomonas lachrymans* I. Streptomycin tolerance. *Annals of the phytopathological society of Japan* 42: 61.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mundt J.O., Hinkle, N.F.** 1976, "Bacteria within ovules and seeds." Appl. Environ. Microbiol., 32, 694–698.
- Murty, M. G. and Ladha, J. K.** 1988, Influence of Azospirillum inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. Plant Soil 108:281–285.
- Nazir A. B., K. A. Bhat., M. Y. Zargar., M. A. Teli., Muslima N. and Sajad M. Z.,** 2010, Review Article Current Status Of Angular Leaf Spot (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) Of Cucumber: A Review. International Journal of Current Research. Vol. 8, pp.001-011.
- Nicot, P. C.; Bardin, M; Alabouvette, C; Köhl, J; Ruocco, M,** 2011, Potential of biological control based on published research; Protection against Plant pathogens of selected crops. 1-11p;(eds) Nicot, P., Classical and augmentative biological control against diseases and pests IOBC/WPRS, 194p.
- Nowak, J., and V. Shulaev.** 2003, Priming for transplant stress resistance in in vitro propagation. In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 39: 107–124.
- Olczak-Woltman, H; Masny, A; Bartoszewski, G; Plucienniczak, A; Niemirowicz-Szczytt, K.,** 2007, Genetic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* strains isolated from cucumber leaves collected in Poland. *Plant Pathology*, 56; 373-382.
- Özaktan H., Gül A., Yolageldi L., Çakır B., Aköprü A.,** 2015, Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Yetiştiriciliğinde Biyogübre ve Biyopestisit Olarak Kullanılma Olanakları. TÜBİTAK-COST 1110505 no.lu proje kesin raporu,152 s.
- Özaktan, H., Bora, T.,** 1994a, Investigations on the comparison of *İn vitro* and *In vivo* reaction tests for the Determination of suseptibility of some cucurbits to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. *J. Turk. Phytopath.* Vol:23, 3; 105-111.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Özgen, İ., A. Akkaya., Y., Bayram., M. H. Aydın., İ. Ekin.** 2005, Diyarbakır İlinde Örtüaltı Sebze Alanlarında Entege Mücadele Çalışmaları. GAP IV. Tarım Kongesi. Şanlıurfa.
- Paulitz, T. C. and Bélanger, R. R.,** 2001, Biological Control In Geenhouse Systems. *Annu. Rev. Phytopathol.*, Issue 39, pp. 103-133
- Pirttilä, A., Joensuu, P., Pospiech, H., Jalonen, J. and Hohtola, A.,** 2004, Bud endophytes of Scots pine produce adenine derivatives and other compounds that affect morphology and mitigate browning of callus cultures. *Physiol Plant.* 121,305–312.
- Pohronezny, K., Larsen, P. O., Emmatty, D. A. and Farley, J. D.** 1977, Field studies of yield losses in pickling cucumber due to angular leaf spot. *Plant Disease Reporter* 61: 386-390
- Quadt-Hallmann, A., Kloepper, J.W.** 1996, "Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species." *Can. J. Microbiol.*, 42, 1144–1154.
- Raaijmakers, J. M., van der Sluis, I., Koster, M., Bakker, P. A. H. M., Welsbeek, P. J., and Schippers, B.** 1995, Utilization of heterologous siderophores and rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Canadian Journal of Microbiology*, 41, 126-135.
- Robinson, R.W.** 1999, Cucurbits. CAB International, 221, New York, USA.
- Rouse, D. I., Nordheim, E., Hirano, S. and Upper, C.,** 1985, A model relating the probability of foliar disease incidence to the population frequencies frequencies. *Phytopatholog.*; 75; 505-509p.
- Rovira, A. D.** 1965, Interactions between plant roots and soil microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 19: 241–266
- Ryu C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Wei, H. X., Pare, P. W., Kloepper, J. W.** 2003, "Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*." *Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A.*, 100, 4927-4932.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ryu, C.M., Murphy, J.F., Mysore, K.S., and Kloepper, J.W.** 2004, Plant growthpromoting rhizobacteria systemically protect *Arabidopsis thaliana* against Cucumber mosaic virus by a salicylic acid and NPR1-independent and jasmonic acid-dependent signaling pathway. *Plant J.* 39:381-392.
- Saharan, B. and Nehra, V.,** 2011, Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, Issue 2011, 1-30.
- Saleh, Y. E. and Korobko, A. P.** 1981, Some biological aspects of bacterial diseases of melons and watermelons in Ukrainian SSR-I, *Pseudomonas lachrymans* (Smith and Bryan) Casner. *Egyptian Journal of Botany* 24: 219-229.
- Scheck, H., Pscheidt, J. and Moore, L.,** 1996, Copper and streptomycin resistance in strains of *Pseudomonas syringae* from Pacific Northwest nurseries. *Plant Disease*, 80(9), pp. 1034-1039.
- Scher, F.M., Baker, K.F.** 1982, "Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens". *Phytopathology*, 72, 1567- 1573.
- Schippers, B., Bakker, A. W., and Bakker, P. A. H. M.** 1990, Beneficial and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interactions. *Plant Soil* 129:75–83.
- Seaman, D.** 1990, Trends in the formulation of pesticides: An overview. *Pesticide Science*, 29(4), 437. doi:10.1002/ ps.2780290408
- Sevgican, A.,** 1999, Örtüaltı Sebzeçiliği. İzmir: E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Shoresh, M., Yedidia, I., Chet, I.** 2005, "Involvement of Jasmonic Acid/Ethylene Signaling Pathway in the Systemic Resistance Induced in Cucumber by *Trichoderma asperellum* T203." *Phytopathology*, 95(1), 76-84.
- Smith, E. F. and Bryan, M. K.** 1915, Angular leaf spot of cucumbers. *Journal of Agricultural Research* 5: 465-476.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Smith, M. A.**, 1946, Bacterial spot of honeydew melon. *Phytopathology* 36: 943-949.
- Stall, R.E., and Thayer, P.L.** 1962, Streptomycin resistance of the bacterial spot pathogen and control with streptomycin. *Plant Dis. Rprt.* 46,389-392.
- Stankiewicz, M., Zukowska, Z. and Pietr, S.J.**, 1989, Protection of the cucumber against *Pseudomonas syringae* pv. *lacrymans* by saprophytic microorganisms. In: Klement, Z., (eds.) *Plant Pathogenic Bacteria*, 7th. Int. Conf. Plant Path. Bact., Budapest, Hungary.
- Sturz, A. V., B. R. Christie, and J. Nowak.** 2000, Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Crit.Rev. Plant Sci.* 19:1–30.
- Sturz, A.V., Christie, B.R., Matheson, B.C., Arsenault, W.J., Buchanan, N.A.** 1999, "Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soilborne plant pathogens". *Plant Pathology*, 48, 360-369.
- Sundin, G. W. and Bender, C. L.**, 1993, Ecological and Genetic Analysis of Copper and Streptomycin Resistance in *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae*. *Applied And Environmental Microbiology*, 59(4), 1018-1024p.
- Tien, T. M., Gaskins, M. H., and Hubell, D. H.**, 1979, Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.) *Appl. Environ. Microbiol.* 37:1016-1024.
- TÜİK.** 2018, <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>
- Türküsay H. ve Saygılı H.**, 2008, Hıyar Köşeli Yaprak Lekesi Hastalığı, (Edt: Saygılı, H., Sahin, F. ve Aysan Y. In *Bitki Bakteri Hastalıkları*). Meta Basım Matbaacılık, İzmir, Türkiye, pp 97-99.
- Türküsay, H.**, 1998, Batı Anadolunun bazı illerinde hıyar köşeli leke hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith and Bryan) Young, Dye and Wilkie) oranı ve Hıyar çeşitlerinin hastalığa reaksiyonları üzerine araştırmalar., İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. Doktora tez çalışması. 101. s.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tüzel, Y., Gül, A., Daşgan, H.Y., Özgür, M., Özçelik, N., Boyacı, H.F., Ersoy, A.** 2005, Örtüaltı yetiştiriciliğinde gelişmeler. ZMO teknik kongesi.
- Van Gundy, S. D., Walker, J. C.,** 1957, Relation of temperature and host nutrition to angular leaf spot of cucumber. *Phytopathology* 77: 61 5-19
- Van Loon, L.C.** 2007, "Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria." *Eur. J. Plant. Patholo.*, 119, 243-254.
- Van Loon, L.C. and Bakker, P.A.H.M.,** 2006, Induced Systemic Resistance As A Mechanism of Disease Suppression By Rhizobacteria. Z. A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization.*, Springer. Printed in the Netherlands. 39–66.
- Verma, L. R. and Sharma, R. C.,** 1999, Diseases of Horticultural Crops-vegetables, ornamentals and mushrooms. *Indus Publishing Company*, New Delhi, p.731.
- Verma, S.C., Ladha, J.K and Tripathi, A.K.,** 2001, Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol* 91: 127–141.
- Vidaver, A. K.,** 2002, Uses of Antimicrobials in Plant Agriculture. *Plant Pathology*, Issue 34, pp. 107-110.
- Wakelin, S., Warren, R., Harvey, P. and Ryder, M.,** 2004, Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Bio Fert Soils* 40: 36–43.
- Watanabe, Y. and Ohuchi, A.** 1983, Angular leaf spot of cucumber in Japan. *Journal of Agricultural Research Quarterly* 17: 112-119.
- Welbaum, G., A. V. Sturz, Z. Dong, and J. Nowak.,** 2004, Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.* 23:175–193.
- Wiles, A. B. and Walker, J. C.** 1951, The relation of *Pseudomonas lachrymans* to cucumber fruits and seeds. *Phytopathology* 41: 1059-1064.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Wimalajeewa, D.L.S., Cahill, R., Hepworth, G., Schnieder, H.G. and Washboume, J.W.,** 1991, Chemical control of bacterial canker (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) of apricot and cherry in Victoria. Aust. J. Exp. Agric. 31, 705-708.
- Woods, T. S.** 2003, Pesticide Formulations. In AGR 185 in Encyclopedia of Agrochemicals. (pp. 1-11). New York: Wiley & Sons.
- Xu, H., Griffith, M., Patten, C. L., and Glick, B. R.** 1998, Isolation of an antifreeze protein with ice nucleation activity from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Can. J. Microbiol. 44:64–73.
- Yang, J., Kloepper, J.W., Ryu, C.,** 2009, Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress, Trends Plant Sci.,14(1): 1–4 pp.
- Yano, H., Fujii, H., Mukoo, H., Fukuyasu, T. And Sekizawa, Y.** 1978, Drug-resistance of cucumberangular leaf spot bacterium, *Pseudomonas lachrymans* (Smith and Bryan) Casner. *Annals of the phytopathological society of Japan* 44: 334-336.
- Yoneyama, K., Koike, M., Sekido, S., Ko, K. and Misato, T.,** 1978, Effect of myomycin on plant bacterial diseases. Journal of Pesticide Science 3: 359-364.
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L. and Thomas, C. E.,** 2010, Compendium of Cucurbit Diseases. Second Prnting ed. Minesota: APS Press. 87 p.

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisansa başladığım günden itibaren hoşgörülü yaklaşımıyla beni cesaretlendiren ve bana yön gösteren; bilgi ve tecrübeleri ile birlikte hiçbir zaman katkı ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN'a,

Çalışmalarımı yürüttüğüm sırada benden yardımlarını eksik etmeyen dönem arkadaşlarıma ve laboratuvar arkadaşlarıma,

Tez çalışmam sırasında verilerimin istatistiksel değerlendirmesinde desteğini aldığım Araştırma Görevlisi Utku ŞANVER'e

Birlikte bu yolda yürürken inancını, güvenini, sevgisini daima benimle paylaşan ve desteklerini esirgemeyen eşim Halil AKAR'a

Hayatım boyunca üzerimde emekleri olan aileme verdikleri fedakarlıklar için saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

07 / 01 / 2022

Aslı AKBIYIK

## ÖZGEÇMİŞ

İlköğretim ve lise öğrenimini Salihli’de tamamladı. 2012 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü lisans eğitimine hak kazandı. 2012-2013 yılı eğitim döneminde bir yıl boyunca İngilizce hazırlık eğitimi aldı. 2013-2014 yılı eğitim dönemini Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü dönem birincisi olarak tamamladı. 2013 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü’ne yatay geçiş yaptı. 2018 yılında bölüm üçüncüsü olarak lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Ana Bilim Dalı’nda tezli yüksek lisans çalışmalarına başladı. 2019 yılında Agrobest Grup Tarım İlaçları Toh. İml. İth. İhr. San. ve Tic. A.Ş.’de Yurt Dışı Ruhsatlandırma Asistanı olarak çalışmaya başlamış olup, görevine halen devam etmektedir.