



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**DOMATESTE BAKTERİYEL SOLGUNLUK VE
KANSER HASTALIĞI ETMENİ *Clavibacter
michiganensis* subsp. *michiganensis*'E KARŞI YARARLI
BAKTERİLERİN KULLANILMA OLANAKLARININ
BELİRLENMESİ**

Doktora Tezi

Utku ŞANVER

Bitki Koruma Anabilim Dalı

İzmir

2023

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**DOMATESTE BAKTERİYEL SOLGUNLUK VE
KANSER HASTALIĞI ETMENİ *Clavibacter
michiganensis* subsp. *michiganensis*'E KARŞI YARARLI
BAKTERİLERİN KULLANILMA OLANAKLARININ
BELİRLENMESİ**

Utku ŞANVER

Danışman: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Bitki Koruma Anabilim Dalı
Fitopatoloji Doktora Programı

İzmir
2023

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca ~~Yüksek Lisans Tezi~~ / Doktora Tezi olarak sunduğum ‘Domateste Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığı Etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e Karşı Yararlı Bakterilerin Kullanılma Olanaklarının Belirlenmesi’ başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, döküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmeyen bütün bilgi, 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.

04.09.2023

Utku ŞANVER

ÖZET

**DOMATESTE BAKTERİYEL SOLGUNLUK VE KANSER
HASTALIĞI ETMENİ *Clavibacter michiganensis* subsp.
michiganensis'E KARŞI YARARLI BAKTERİLERİN KULLANILMA
OLANAKLARININ BELİRLENMESİ**

ŞANVER, Utku

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Eylül 2023, 193 sayfa

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*, (Cmm) domateste önemli ekonomik kayıplara neden olan tohum kökenli ve epidemik karakterli bakteriyel hastalık etmenidir ve günümüzde etkili bir mücadelesi mevcut değildir. Bu tez çalışmasının birinci kısmında Cmm etmeninin moleküler ve biyokimyasal tanısı, genetik varyasyonun belirlemesi; ikinci kısmında Cmm etmenine karşı etkili bir biyolojik ajan belirlenmesi ve üçüncü aşamasında bu biyolojik ajanların *in vivo* üretim koşullarında etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Birinci aşamada EÜZFBK laboratuvarı kültür stoklarında bulunan Cmm izolatlarının, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler kesin tanısı yapılmıştır. Genetik varyasyonu belirlemek için REP-PCR yönteminden yararlanılmıştır. Daha sonra izolatların virulensliğini belirlemek için patojenisite testi yapılmıştır. Tohuma bakterizasyonu yöntemi belirlemek için vakum infiltrasyon ve carboxy methyl cellulose (CMC) yöntemleri test edilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasına yönelik olarak biyolojik mücadele etmenini belirlemek için 40 farklı lokasyondan endofitik ve epifitik karakterli 303 aday bakteri izole edilmiştir. Ön tanı ve eleme amaçlı olarak ön eleme testleri yapılmıştır. Bu testi başarıyla geçen izolatlara *in-vitro* bitki gelişimini artırma (PGPR) -biyokontrol testleri uygulanmıştır. *In-vitro* testlerinin sonuçlarından tartılı derecelenme ile seçilen bakteriler, tohumda vigorite testi ve *in-vivo* biyokontrol testlerine alınmıştır. Çalışmanın üçüncü aşamasına yönelik olarak topraksız tarım üretim koşulunda üç biyolojik tekrarlı olarak 12 haftalık denemeler kurulmuştur.

Testlenen biyokontrol organizmaları hastalık şiddeti ve meyve verimine olan etkisi yönünden değerlendirilmiştir. Seçilen iki izolat rifamiycin ve streptomycin ile barkodlanarak bitki içerisinde zamana bağlı kolonizasyon durumu incelenmiştir. Bu bakteri izolatlarının 16S DNA barkodlama bölgesinden sekansı yapılarak tam tanısı yapılmıştır. Çalışmanın birinci kısmında biyokimyasal ve moleküler tanılama yöntemleri ile çalışmada kullanılan izolatların Cmm olduğu ve en virulent olan izolatın 224 no'lu izolat olduğu belirlenmiştir. Genetik varyasyona yönelik yapılan REP-PCR sonucunda genetik varyasyonun virulenslik ile ilişkili olduğu görülmüştür. Tohum bakterizasyonu yönteminde 0.1×10^5 CFU/ml ile CMC kaplama yönteminin en başarılı yöntem olduğu görülmüştür. Çalışmanın ikinci kısmında toplanan 303 aday izolat ön eleme ile 274 izolata indirilerek *in-vitro* testleri yapılmıştır. Tartılı derecelendirme ile 16 aday bakteri seçilmiştir. Bu bakterilere iki biyolojik tekrarlı olarak tohumda vigorite testi ve *in-vivo* biyokontrol testleri uygulanmıştır. 16 bakteri içerisinde 247 (KD98/2) ve 208 no'lu (KD 80/1) izolatlar en başarılı bulunmuştur. Çalışmanın üçüncü kısmında topraksız tarım koşullarında yapılan denemelerde en yüksek başarıyı 247 no'lu (KD 98/2) izolat göstermiştir. Bu izolat Cmm'ye karşı sırasıyla, 3 kez tekrarlanan denemelerde, %57.14, %81.81 ve %93.75 düzeyinde etki göstermiştir. Meyveye olan etki yönünden meyve sayısı yönünden önemli bir farka neden olmamasına rağmen meyve ağırlığı bakımından %12.01 ile %98.44 arasındaki bir artış sağlamıştır. Meyve boyutu bakımından ise %11,55 ile %150.36 arasındaki bir büyüme artışı sağladığı görülmüştür. Kolonizasyon çalışması sonucunda iki bakterinin endofit karakterli olup bitki dokusu içerisinde başarı ile kolonize olabildiği gözlemlenmiştir. 16S bölgesinden yapılan sekans analizince 247 no'lu (KD 98/2) izolatın *Pseudomonas fluorescens*, 208 no'lu (KD80/1) izolatın *Pseudomonas putida* olduğu tespit etmiştir.

Anahtar sözcükler: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Genetik Varyasyon, Biyolojik Savaş, Bitki Gelişimini Artıran Kök Bakterileri

ABSTRACT**DETERMINATION OF THE BENEFICIAL BACTERIA AGAINST
Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* THE CAUSAL
AGENT OF BACTERIAL CANKER OF TOMATO**

ŞANVER, Utku

PhD Thesis, Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

September 2023, 193 Pages

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (Cmm) is a bacterial pathogen with seedborne and epidemic characteristics that causes significant economic losses in tomatoes, and effective control measures are currently unavailable. The first part of this thesis aims to molecularly and biochemically diagnose Cmm, determine genetic variations; the second part aims to identify an effective biological agent against Cmm; and the third stage aims to determine the effectiveness of these biological agents under *in-vivo* production conditions. In the first stage, the Cmm isolates from the EUFAPP laboratory culture stocks get a diagnosis via physical, biochemical, and molecular diagnostic tests. REP-PCR was used to determine genetic variation. Subsequently, pathogenicity tests were conducted to determine the virulence of the isolates. Vacuum infiltration and carboxymethyl cellulose (CMC) methods were tested to determine the seed inoculation method. For the second stage of the study, 303 candidate bacteria were isolated from 40 different locations, characterized as endophytic and epiphytic. Preliminary screening tests were conducted for pre-selection tests. Bacteria that passed this test were subjected to *in-vitro* plant growth promotion (PGPR) biocontrol tests. Bacteria selected based on the results of *in-vitro* tests were subjected to seed vigor tests and *in-vivo* biocontrol tests. In the third stage of the study, three biological replicates of 12-week trials were carried out under soilless agricultural production conditions. The tested biocontrol organisms were evaluated for their impact on disease severity and fruit yield. Selected isolates were barcoded

with rifamycin and streptomycin to study the time-dependent colonization status within the plant. The full diagnosis of these bacterial isolates was made by sequencing the 16S DNA barcode region. In the first part of the study, it was determined through biochemical and molecular diagnostic methods that the isolates used in the study were Cmm, and isolate 224 was identified as the most virulent. REP-PCR results showed that genetic variation was associated with virulence. In the seed bacterization method, it was observed that the CMC coating method with 0.1×10^5 CFU/ml was the most successful method. In the second part of the study, out of 303 candidate isolates, 274 isolates were selected through preliminary screening, and *in-vitro* tests were conducted. Sixteen candidate bacteria were selected through a weighted rating scales. These bacteria underwent seed vigor tests and *in-vivo* biocontrol tests, repeated twice. Among the 16 bacteria, isolates 247 (KD98/2) and 208 (KD 80/1) were found to be the most successful. In the third part of the study, under soilless farming conditions, isolate 247 (KD 98/2) showed the highest success. This isolate exhibited an effect of 57.14%, 81.81%, and 93.75% in three repeated trials against Cmm. While it did not cause a significant difference in fruit count, it led to an increase in fruit weight ranging from 12.01% to 98.44%. In terms of fruit size, it resulted in a growth increase ranging from 11.55% to 150.36%. Colonization studies revealed that two bacteria were endophytic and could successfully colonize plant tissues. The 16S region sequencing showed that isolate 247 (KD 98/2) was *Pseudomonas fluorescens* and isolate 208 (KD 80/1) was *Pseudomonas putida*.

Keywords: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Genetic Variation, Biological Control, Plant Growth Promoting Rhizobacteria

ÖNSÖZ

Ülkemizin bitkisel üretiminde en önemli ürünlerden biri domatestir. Domates gerek hastalık gerek zararlı yönünden birçok etmeni söz konusudur. Bu etmenlerden biri de domateste bakteriyel kanser ve solgunluk hastalık etmeni olan *Clavibacteri michiganensis* subsp. *michiganensis*'tir. Tohum kökenli bir hastalık olan bu etmen epidemi yapması halinde ürünün tamamen kaybına neden olmaktadır. Yıllardan beri domates üretim alanlarında ciddi sorunlara neden olmasına rağmen henüz ekonomik anlamda bu hastalığa karşı bir çözüm bulunamamıştır. Hastalık etmeni olan patojenin bitki içerisinde sistemik olarak ilerlemesi kimyasal mücadelesini imkânsız kılmaktadır. Dayanıklı çeşit konusunda bazı yabancı hatların hastalık etmenine karşı dayanıklı veya tolerant genotipleri olduğu bilinmesine rağmen ticari çeşitlerde bu dayanıklılık veya toleranlık söz konusu değildir. Şu anda en etkili mücadele yöntemi olarak önlemleri ve kültürel önlemler görülmektedir.

Ekolojik bir çözüm olan biyolojik mücadele bu hastalığın çözümü konusunda da bizlere umut vermektedir. Özellikle endofit karakterli yararlı bakterilerin sistemik olarak bitki içerisinde ilerlemesi, antagonizm, rekabet ve bitki savunmasını uyarma yoluyla patojeni durdurucu etkide bulunması, bitki gelişimini teşvik etmesi, kimyasal ilaçlar gibi kalıntıya neden olmaması nedeniyle pek çok avantaj sağlamaktadır. Bu tez, bu tür bakterilerin *Clavibacteri michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı kullanıma olanakları araştırılma ihtiyacına yönelik hazırlanmıştır

İZMİR

04.09.2023

Utku ŞANVER

İÇİNDEKİLERSayfa

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xviii
TABLolar DİZİNİ.....	xxv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	10
2.1 <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> ve Yaygınlığı Hakkında Bilgiler	10
2.2 <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 'in Tanısına Yönelik Çalışmalar	12
2.3 <i>Clavibacter michigensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 'in Mücadelesine Yönelik Çalışmalar	14
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	21

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.1 Gereçler.....	21
3.1.1 Çalışma sırasında kullanılan test bitkisi.....	21
3.1.2 Çalışma sırasında kullanılan test patojeni.....	21
3.1.3 Çalışma sırasında kullanılan yararlı bakteriler.....	22
3.1.4 Çalışma sırasında kullanılan besiyerleri	23
3.1.5 Çalışma sırasında kullanılan bitki yetiştirme/ gelişme koşulları	28
3.1.6 Çalışma sırasında kullanılan bitki yetiştirme materyali	29
3.1.7 Çalışma sırasında kullanılan bitki gelişim çözeltileri	29
3.1.8 Çalışma sırasında kullanılan moleküler çalışma materyali.....	30
3.2 Yöntemler.....	32
3.2.1 Çalışmada kullanılan patojen bakterilerin tanısı.....	32
3.2.2 Çalışmada kullanılan yararlı bakterilerin izolasyonu ve ön tanısı	39
3.2.3 <i>In-vitro</i> biyokontrol etkiye yönelik testler	40
3.2.4 <i>In-vivo</i> biyokontrol etkiye yönelik testler	46
3.2.5 Yararlı bakterilerin ve Cmm'nin kolonizasyonunun izlenmesi	47

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.2.6 Sera koşullarında yararlı bakterilerin biyokontrol ve verime olan etkisinin belirlenmesi.....	49
3.2.7 Çalışma sonunda elde edilen yararlı bakterilerin moleküler tanısı.....	52
3.2.8 Elde edilen verilerin analizi	53
4. BULGULAR.....	54
4.1 Çalışmada Kullanılan Patojen bakterilerin Tanısı ve Genetik Varyasyonuna İlişkin Bulgular	54
4.1.1 Koloni morfolojisine yönelik bulgular	54
4.1.2 Fizyolojik ve biyokimyasal testlere ait bulgular.....	54
4.1.3 Moleküler tanılama testine yönelik bulgular	61
4.1.4 Genetik varyasyonun belirlenmesine yönelik bulgular	61
4.1.5 Patojen izolatların patojenisite testine yönelik bulgular	66
4.2 Çalışmada Kullanılan Yararlı Bakterilerin İzolasyonu ve Ön Tanı Testlerine ait bulgular	71
4.3 Çalışmada Kullanılan Yararlı Bakterilerin <i>In vitro</i> Biyokontrol Özelliklerinin Belirlenmesine ait Bulgular	94
4.3.1 Indol 3 Asetik Asit (IAA) üretim aktivitesine ait bulgular.....	94
4.3.2 Siderefor üretiminin belirlenmesi ait bulgular.....	94

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.3.3 Fosfataz aktivitesinin belirlenmesine ait bulgular	95
4.3.4 ACC-deaminase aktivitesinin belirlenmesine ait bulgular.....	96
4.3.5 Hidrojen siyanid (HCN) üretiminin belirlenmesine ait bulgular	96
4.3.6 <i>In vitro</i> engelleme etkisinin belirlenmesi.....	97
4.3.7 <i>In-vitro</i> biyokontrol testleri sonuçlarına göre aday yararlı bakterilerin <i>in-vivo</i> deneme için seçimine ait bulgular.....	106
4.4 Çalışmada Kullanılan Aday Yararlı Bakterilerin <i>In vivo</i> Biyokontrol Testlerine ait Bulgular.....	108
4.4.1 Aday yararlı bakterilerin tohum çimlenmesine etkisine ait bulgular	108
4.4.2 Aday yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı <i>in vivo</i> biyokontrol etkilerine ait bulgular	113
4.4.3 Aday yararlı bakterilerin Cmm baskısı altında <i>in-vivo</i> bitki gelişimine etkisine yönelik bulgular	118
4.5 Yararlı Bakterilerin ve Cmm'nin Bitki İçerisinde Kolonizasyonuna Yönelik Bulgular.....	120
4.6 Sera Koşullarında Yararlı Bakterilerin Biyokontrol ve Verime Olan Etkisine Yönelik Bulgular.....	124
4.6.1 Sera koşullarında gerçekleştirilen birinci denemeye yönelik bulgular	124
4.6.2 Sera koşullarında gerçekleştirilen ikinci denemeye yönelik bulgular	132

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

4.6.3 Sera koşullarında gerçekleştirilen üçüncü denemeye yönelik bulgular.....	140
4.7 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Moleküler Tanısı.....	149
5.TARTIŞMA.....	151
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	167
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	170
TEŞEKKÜR	192
ÖZGEÇMİŞ.....	193

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Domates bitkisinin tarihi süreçte dünyadaki yayılışı .	2
1.2. Dünyada ülkelere göre 2020 yılı domates üretimi.	4
1.3. Dünyada'ki ülkelere göre 2021 yılı domates üretimi.	5
1.4. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> tarafından primer enfeksiyonlar sonucu domates bitkisinde oluşturulan belirtiler.	7
1.5. <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> 'in sekonder enfeksiyonuna dair görsel.	7
3.1.Çalışmada kullanılan yararlı bakterilerin toplandığı lokasyonlar	22
3.2. Çalışma sırasında kullanılan bitki büyütme kabini.	28
3.3. Çalışmada kullanılan a) plastik ve b) cam örtülü seralar.	29
3.4. Cmm izolatlarının patojenisitesini belirlemek için yapılan test: a) Bakteriyel süspansiyonun yoğunluğunun UV-spektrofotometrede ayarlanması b) köklerin yaralanması c) yoğunluğu ayarlanan süspansiyona kökleri yaralanmış domates fidesinin daldırılması.	35
3.5. Cmm'nin oluşturduğu hastalık şiddetinin belirlenmesi için kullanılan 0-4 skalasındaki bitkilerin görünüşleri.	36
3.6. Tohum bakterizasyonu için kullanılan yöntemler a) CMC ile kaplama b) Tohum infiltrasyonu	36

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.7 YB'lerin IAA üretimi testinin aşamaları a) Petride yararlı bakterinin görünümü, b) YB'lerin süpernatantlarının filtreden geçirilmesi, c) Süpernatantın salkowski ayırıcı eklendikten sonra görünümü.....	41
3.8. Yararlı bakterilerin siderefor üretiminin değerlendirilmesi.....	42
3.9. Yararlı bakterilerin fosfataz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi.....	42
3.10. <i>In-vitro</i> engelleme etkisinin değerlendirilmesi	44
3.11. Serada gerçekleştirilen denemelerin planı.	50
3.12. Topraksız tarım sistemlerinin genel görünümleri a)1. deneme b) 2. Deneme c) 3. Deneme.....	51
3.13. SC2121 çeşidi domates bitkisine ait meyvelerin hasat sonrası değerlendirilmesi.	52
4.1. İzolatlarının kolonisine ait genel bir görüntü a)KingB ait görüntü b) SCM'ye ait görüntü	54
4.2. SNA ortamında izolatların oluşturduğu görüntü	56
4.3. 366 nm dalga boyuna sahip uv ışık altında izolatların görünümü	57
4.4. SNA ortamında izolatların oluşturduğu görüntü	57
4.5. Oksidaz testi sonucunda izolatların verdikleri reaksiyon.	57
4.6. Pektolitik aktivite testinde izolatların patatestte oluşturduğu görünüm.....	58

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.7. Arjinine dehidrolaz testinde izolatların oluşturdukları görüntü.	58
4.8. Tütünde HR testinde, izolatların tütün bitkisinde oluşturdukları görünüm.	58
4.9. Gelatin hidrolizi testinde izolatların verdikleri reaksiyon a) Pozitif sonuç veren 15 no'lu izolat b) negatif veren izolatlara temsilen 224 no'lu izolat.....	59
4.10. Aesculin hidrolizi testinde izolatların verdikleri reaksiyon a) Pozitif sonuç veren 15 no'lu izolat b) negatif veren izolatlara temsilen 224 no'lu izolat.....	59
4.11. Nişasta hidrolizi testinde izolatların verdikleri reaksiyona ait görünüm.	59
4.12. Çalışmada kullanulan izolatların karbon kaynaklarından yararlanma testine ait görüntüler.....	60
4.13. Çalışmada kullanılan Cmm izolatlarının tanılanması için Cmm- 5/Cmm-6 primer çifti kullanılarak yapılan klasik PCR'a ait jel görüntüsü.....	61
4.14. REP PCR'ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının jel görüntüsü (M: 100bp marker DNA, 15: Cmi, diğer izolatlar Cmm).	62
4.15. REP PCR'ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının hierarchical cluster sonuçları.....	63

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.16. REP PCR'ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının heatmap analizi sonuçları.....	63
4.17. REP PCR'ın BOX elementine ait Cmm izolatlarının jel görüntüsü (M: 100bp marker DNA, 15: Cmi, diğer izolatlar Cmm).....	64
4.18. REP PCR'ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının hierarchical cluster sonuçları.	65
4.19. REP PCR'ın BOX elementine ait iCmm zolatlarının Heatmap analizi sonuçları.....	66
4.20. Cmm izolatlarının patojenisite testine yönelik yapılan çoklu aralık testine ait sonuçlar.	68
4.21. Cmm ile yapılan patojenisite testi sonucunda bitkilerde ortaya çıkan hastalık belirtilerinin görüntülerini.	69
4.22. Cmm'in tohum bakterizasyon yöntemini belirleme için yapılan tohum bakterizasyonunun <i>in vitro</i> sonuçlarına ait görüntü	70
4.23. IAA üretim aktivitesi testinde Negatif Kontrol (en sağda) ile aday yararlı bakterilere ait görüntü.	94
4.24. Siderefor üretimi testinde Blue-CAS agarda en yüksek aktivite gösteren izolata ait görüntü.....	95
4.25. Fosfataz enzimi aktivitesi testinde NBRIP agarda en yüksek aktivitesi gösteren izolata ait görüntü.	95

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.26. ACC-deaminase aktivitesi testinde ACC katkılı DF minimal tuz ortamında pozitif veren izolatlara ait bir görüntü.....	96
4.27. HCN üretim testinde izolatlara a) pozitif b) negatif sonuçlara ait görüntü.	97
4.28. Cmm'ye karşı aday antagonist bakteri izolatlarının oluşturduğu <i>in-vitro</i> engelleme zonu.	97
4.29. 1 ve 2. denemelerin ortalmasına ait değerlendirme parametrelerine ait grafikler a) hipokotil ve radisil uzunluklar b) çimlenme %'si c) vigor indeksi.....	112
4.30. 1 ve 2. denemelerin değerlendirme parametreleri sonucunda en başarılı çıkan a) 121 no'lu (KD 40/3) izolat ve b) Negatif kontrol ile karşılaştırılması	113
4.31. <i>In-vitro</i> biyokontrol 1. deneme, 2. deneme ve 1. ve 2. denemenin ortalamasının ait hastalık şiddetlerine yönelik grafik.	116
4.32. 1. ve 2. denemenin ortalaması sonucunda en başarılı olan a) 247 no'lu izolat b) 208 no'lu izolat c)negatif kontrol ve d)pozitif kontrol'e ait görüntüler.....	117
4.33. İzolatların Cmm baskısı altında bitki biyomassına olan etkisi.....	120
4.34. Yararlı bakterilerin kolonizasyon durumuna ait grafik.	121
4.35. Cmm'nin kolonizasyonu.	122

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.36. Sera koşullarında 1. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı % hastalık şiddetine etkisine ait grafik.....	127
4.37. Sera denemesinde a) en başarılı olan 247 (KD 98/2) no'lu izolat b) Pozitif Kontrol c)Negatif Kontrol uygulamalarına ait bitkiler.	128
4.38. 1. Denemenin meyve sayısına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.....	130
4.39. 1. Denemenin meyve ağırlığına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.....	130
4.40. 1. Denemenin meyve en ve boy uzunluğuna göre değerlendirmesine yönelik grafik.....	131
4.41. 1.Denemenin en başarılı uygulamanın meyve en ve boy uzunluğuna yönelik görsel.....	131
4.42. Sera koşullarında 2. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı % hastalık şiddetine etkisine ait grafik.....	135
4.43. Sera koşullarında yapılan 2. denemeye ait görseller a) en başarılı olan 247 (KD 98/2) no'lu izolat b) Pozitif Kontrol c) Negatif Kontrol.....	136
4.44. 2. Denemenin meyve sayısına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.....	138
4.45. 2. Denemenin meyve ağırlığına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.....	139

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.46. 2. Denemenin meyve en ve boy uzunluğuna göre değerlendirilmesine yönelik grafik.....	140
4.47. 2. Denemenin en başarılı uygulamanın meyve en ve boy uzunluğuna yönelik görsel.	140
4.48. Sera koşullarında 3. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı % hastalık şiddetine etkisine ait grafik.	144
4.49. Sera koşullarında yapılan 3. denemeye ait görseller a) en başarılı olan 247 (KD 98/2) no'lu izolat b) Pozitif Kontrol c) Negatif Kontrol.	145
4.50. 3.Denemenin meyve sayısına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.	147
4.51. 3. Denemenin meyve ağırlığına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.	148
4.52. 3. Denemenin meyve en ve boy uzunluğuna göre değerlendirilmesine yönelik grafik.....	149
4.53. 3. Denemenin en başarılı uygulamanın meyve en ve boy uzunluğuna yönelik görsel	149
4.54. 27F/1492R primer çiftleri ile yapılan amplifikasyon sonucu 1460 bp'deki jel görüntüsü.....	150

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Domates meyvesinin içeriği.....	3
1.2. Dünyada ve ülkemizde görülen domates hastalıkları	5
3.1. Çalışmada kullanılan patojen izolatlar.....	21
3.2. Patojen ve yararlı bakterilerin geliştirmek için kullanılan King B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	23
3.3. Patojen ve yararlı bakterilerin geliştirmek için kullanılan TSA ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları	24
3.4. Bakterilerin uzun süreli olarak saklanması için kullanılan NGA besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarlar.....	24
3.5. Levan oluşumu testi için Sucrose Nutrient Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarlar	24
3.6. Arginin dehidrolaz testi için Thorney's medium 2A ortamı besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarlar	24
3.7. Jelatini hidrolize edebilme yeteneklerinin saptamak için kullanılan ortamın hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarlar.	25
3.8. Aesculin hidrolizi için aesculin agar ortamı hazırlanmak için gerekli kimyasallar ve miktarları	25
3.9. Nişasta hidrolizi testi için Nişastalı NA besiyerinin yapılması için gerekli kimyasallar ve miktarları	25

TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.10. Karbon kaynaklar yararlanma testi için Ayer's mineral tuz ortamının hazırlamak için gerekli olan kimyasallar ve miktarları.	25
3.11. Yararlı bakterilerin siderefor oluşturma yeteneklerinin belirlenmesinde kullanılan Blue-CAS Agar besiyeri hazırlama protokolü	26
3.12. Yararlı bakterilerin ACC deamiraz enzimi aktivitesini saptamak için kullanılan DF minimal tuz ortamını hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	27
3.13. Yararlı bakterilerin fosfatı çözme aktivitelerini belirlemek amacıyla kullanılan NBRIP Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları.	27
3.14. Cmm yarı seçici ortamı olan Semiselective Clavibacter Medium besiyerinin yapmak için kullanılan kimyasallar ve miktarları	28
3.15. Topraksız tarım serasında kullanılan çözeltiliyi yapmak için kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	30
3.16. Cmm spesifik primer çifti olan Cmm5/Cmm6 primer çiftinin oligonükleotit dizilimleri.....	31
3.17. Sekans analizinde kullanılan 16 rRNA primer çiftlerinin oligonükleotit dizilimi.	31
3.18. REP PCR'a ait eric elementinin primerine ait oligonükleotit dizilimi.....	31

TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.19. REP PCR'a ait BOX elementinin primerine ait oligonükleotit dizilimi.	31
3.20. Cmm'nin fizyolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu için kullanılan testler ve uygulama yöntemi	33
3.21. Hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-4 skası.	35
3.22. Cmm5/Cmm6 primer çifti için kullanılan PCR şartları.....	38
3.23. REP-PCR ERIC elementine ait primer çifti için kullanılan PCR şartları	38
3.24. REP-PCR BOX elementine ait primerine için kullanılan PCR şartları	39
3.25. Tez çalışmasında kullanılan tartılı derecelendirme yöntemi ve puanlama sistemi.....	45
3.26. Yararlı bakteriler (YB) ve Cmm'nin kolonizasyon takibi için yapılan uygulamalar	48
3.27. Yararlı bakterilerin ve Cmm'nin kolonizasyonunu takip etmek için uygulanan bitki örnek alındıkları dönemler	48
3.28. Sera koşullarında yürütülen çalışmalardaki uygulamalar	49
3.29. Çalışmada kullanılan 27F/1492R primer çiftinin PCR şartları.....	52
4.1. Çalışmada kullanılan patojen izolatların fizyolojik ve biyokimyasal testlerinin sonuçları.	55

TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.2. Patojenisite testine yönelik yapılan tek yönlü varyans analizi tablosu	67
4.3. Cmm izolatlarının patojenisite testine yönelik yapılan çoklu aralık testine ait sonuçlar.	68
4.4. Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler.	72
4.5. Aday yararlı bakterilerin <i>in-vitro</i> biyokontrol testlerinin sonuçları.	98
4.6. <i>In-vitro</i> biyokontrol testleri sonucuna göre <i>in-vivo</i> testler için seçilen aday yararlı bakteriler ve tartılı derecelendirme puanlamaları.	107
4.7. Çimlendirme testi için yapılan denemelerin parametrelerine ait varyans analiz tablosu.	109
4.8. Çimlendirme testiparametrelerinin karşılaştırılmasına ait çoklu aralık testi sonuçları.	111
4.9. Cmm'ye karşı yapılan <i>in-vivo</i> biyokontrol denemelerine ait varyans analiz tabloları.	114
4.10. Cmm'ye karşı yapılan <i>in-vivo</i> biyokontrol denemelerine ait duncan çoklu aralık testi ve abbott % etki sonuçları.	115
4.11. Cmm'ye karşı yapılan <i>in-vivo</i> biyokontrol denemesinin bitki gelişimine etkisine ait varyans analiz tabloları.	118
4.12. Cmm'ye karşı yapılan <i>in-vivo</i> biyokontrol denemesinin bitki gelişimine etkisine ait duncan çoklu aralık testi ve abbott % etki sonuçları.	119

TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.13. Yararlı bakterilerin bitki içerisindeki kolonizasyonuna dair sonuçlar.	123
4.14. Cmm'in bitki içerisindeki kolonizasyonuna dair sonuçlar	123
4.15. Serada yapılan birinci denemenin biyokontrol etkisinde elde edilen % hastalık şiddetlerine yönelik yapılan varyans analiz tablosu.	125
4.16. Sera koşullarında 1. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm 'ye karşı % hastalık şiddeti ve pozitif kontrole göre % etki sonuçlarının değerlendirilmesi.	126
4.17. Verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait varyans analiz tablosu.....	128
4.18. 1.Denemenin verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait çoklu aralık testi sonuçları.	129
4.19. Sera koşullarında yapılan ikinci denemenin biyokontrol etkisinde elde edilen % hastalık şiddetlerine yönelik yapılan varyans analiz tablosu. ...	133
4.20. Sera koşullarında 2. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm 'ye karşı % hastalık şiddeti ve pozitif kontrole göre % etki sonuçlarının değerlendirilmesi.	134
4.21. Verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait varyans analiz tablosu.....	136
4.22. 2. Denemenin verime etkisine yönelik incelenen parametrelere ait çoklu aralık testi sonuçları.	137

TABLOLAR DİZİNİ (devam)

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.23. Sera koşullarında yapılan üçüncü denemenin biyokontrol etkisinde elde edilen % hastalık şiddetlerine yönelik yapılan varyans analiz tablosu.	142
4.24. Sera koşullarında 3. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm 'ye karşı % hastalık şiddeti ve pozitif kontrole göre % etki sonuçlarının değerlendirilmesi.	143
4.25. Verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait varyans analiz tablosu	145
4.26. 3. Denemenin verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait çoklu aralık testi sonuçları.....	146
4.27. Başarılı bulunan yararlı bakteri izolatlarının tanı ve NCBI referans numaraları.....	150

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
cfu	Koloni Oluşturan Bakteri
cm	Santimetre
cm ²	Santimetrekare
g	gram
m ²	Metrekare
mM	Milimolar
mm	Milimetre
ng	Nanogram
OD	Optik Geçirgenlik
pH	Hidrojen Kuvveti
U	Birim

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACC	1-Aminosiklopropan-1-Karboksilat
ALFP	Amplifiye Fragman Uzunluğu Polimorfizmi
ASM	Acibezolar –S- Methyl
BABA	β -Aminobütirik asit,
BOX	Dayalı Tekrarlayan Ekstragenik Palindromik
Cm	Clavibacter michiganensis
CMC	Karboksimetilselüloz
Cmm	Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis
CNS	Corynebacterium nebraskense yarı seçici ortamı
DAPG	2,4-diasetilfloroglusinol
DNA	Deoksiriboz Nükleik Asit
ELISA	Enzime bağlı Immünosorbent Taraması
EPPO	Avrupa Bitki Koruma Organizasyonu
EPS	Eksoselüler Polisakkarit
ERIC	Enterik Tekrarlayan İntergenik Konsensüs

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

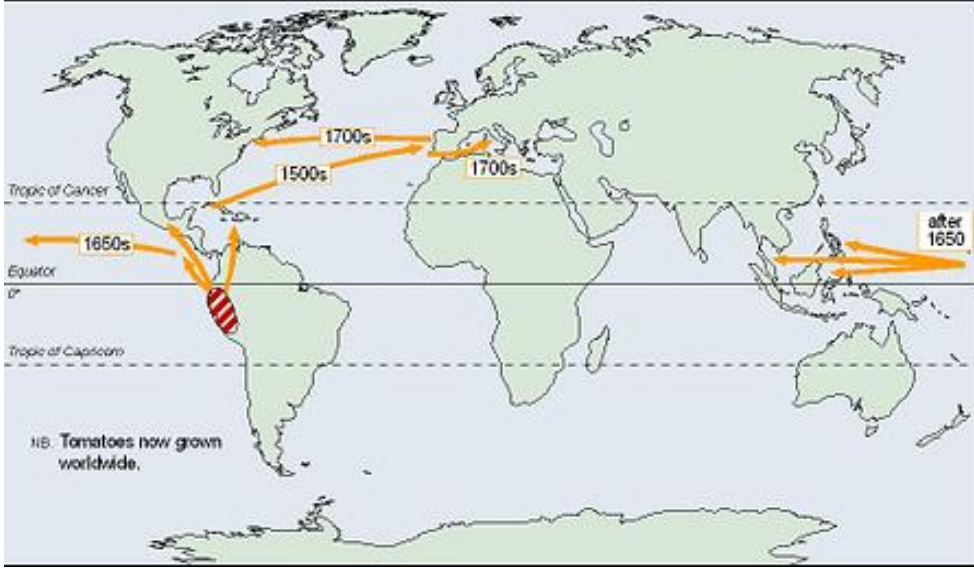
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
FAO	Dünya Tarım Örgütü
HR	Hipersensitif Reaksiyon
HRS1	Hiper Yinelenen Diziler
IAA	Indol Asetik Asit
IF	Immno Florasan
ISR	Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık
JA	Jasmonik Asit
MES	Mikro Element Solüsyonu
NA	Nurtient Agar
NGA	Nutrient Gliserol Agar
PCR	Çoklu Zincir Reaksiyonu
PGPR	Bitki Gelişimini Artıran Kök Bakterileri
REP	Tekrarlayan Ekstragenik Palindromik
RLEP	Mycobacterium leprae'in tekrarlayan elementi
RNA	Riboz Nükleik Asit
SA	Salisilik Asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
SCM	Selektif Clavibacter Ortamı
SNA	Sukroz Nutrient Agar
TSA	Tiriptik Soy Agar
YB	Yararlı Bakteri
YDC	Maya Özü-Dekstroz-Kalsiyum Karbonat Ortamı

1. GİRİŞ

Domates, (*Lycopersicon esculentum* L.) dünyada ticari bakımdan meyvesi tüketilen en önemli sebzelerden birisidir. Domates bitkisi, taksonomik açıdan Solanaceae familyasının, Solanum cinsinin, Lycopersicon bölümünde yer almaktadır (Heuvelink, 2018). Domates bitkisinin yer aldığı Solanum cinsinin, ilk olarak Ekvator ile 30° güney enleminde kadar olan bölgede yer alan Güney Amerika kıyı şeridinde ortaya çıktığı düşünülmektedir. Solanum cinsine ait türlerin Güney Amerika’da özellikle Peru ve Galapagoos Adalarında özgü yabani bir bitki olarak (Jones, 2007) Şili’nin kuzeyi Kolombiya’nın güneyi ve Andes Dağlarının doğu kısmında 3000 metre üzerinde rakıma sahip olan kesimlerinde bulunmaktadır. Domates bitkisine ait kültür çeşitlerinin atası olarak varsayılan yabani formu *Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* bu bölgede yer almaktadır. Daha sonra Meksika’da kültüre alındığı tahmin edilmektedir. Domates isminin Meksika’nın yerlisi olan Nahua halkının dilinde domatese karşılık gelen “tomatl” veya “xi-tomatl” sözcüğünden gelmektedir (Rick, 1976). Ancak İtalya’ya ilk gelen domates çeşitlerinin meyvesi sarı renkli olduğundan altın elma (pomod’oro) olarak adlandırılmış daha sonra adı aşk elması (poumod’amor) olarak değişmiştir. İtalyancada domatese karşılık gelen “pomodoro” kelimesinin buradan gelmektedir (Heiser, 1973). 16. Yüzyılın başlarında Amerika kıtasının keşfi ile Avrupa’ya gelen domates bitkisi ilk zamanlarda şifalı bitki olarak tedavi amaçlı kullanılmıştır. Aynı zamanda meyvesinin güzelliği nedeniyle süs bitkisi olarakta yetiştirilmiştir. Ancak domates bitkisinin meyvesinin, akrabası olan it üzümü (*Solanum nigra*) gibi zehirli olduğu düşüncesinden dolayı beslenme amaçlı kullanılmamaktaydı (Jones, 2007). Domates, gıda olarak tüketilmeye ve yetiştirilmeye ilk kez 17. ve 18. yüzyılda Avrupa’nın kuzey kesimlerinde başlanmıştır (Denham, 2014). 18. yüzyılın ilk yarısında Fransa’nın güney kesminde sebze olarak tüketilmeye ve yetiştirilmeye başlandığı ve Fransız ihtilalinden sonra Paris ve çevresindeki kuzey bölgelerine doğru yayılmaya başladığı bilinmektedir (Bloch-Dano 2008; Abak, 2016) (Şekil 1.1). Domatesin, Anadolu’ya 1770 yıllarında geldiği düşünülmektedir. İlk kez Suriye üzerinden Akdeniz bölgesinde Adana’ya girmiştir. Daha sonra İstanbul üzerinden Marmara bölgesine gelerek daha bütün ülkeye yayılmıştır (Abak, 2016).



Şekil 1.1. Domates bitkisinin tarihi süreçte dünyadaki yayılışı (Lecko, 2015).

Domatesin botanik sınıflandırılması bakımından ilk olarak patates ile birlikte kültüre aldığı için *Solanum* cinsine yerleştirilmiştir ve Linneus tarafından *Solanum lycopersicon* olarak tanımlanmıştır. Ancak bu tanım “yenilebilir” anlamına gelen *Lycopersicon esculentum* ile değiştirilmiştir. Patates (*Solanum tuberosum*) ile domates bitkileri arasındaki benzer özellikler olmasına rağmen, bu iki bitki çiçek renkleri (domates için sarı, patates için çoğunlukla beyaz veya mor) ve polen taşıyan yapılarının şekli bakımından birbirlerinden ayrılmaktadır (Jones, 2007). Bu iki tür dışında solanaceae familyası içerisinde biber (*Capsicum* spp.), patlıcan (*Solanum melongena*), altın çilek (*Physalis ixocarpa*) ve tütün (*Nicotiana tabacum*) gibi kültür bitkileri de yetmektedir (Heuvelink, 2018).

Domates meyvesi besin içeriği bakımından; lipitler, karotenoidler, organik asitler, %93-95 su, alkolde çözülmeyen maddeler (Polisakkaritler, pektin, selüloz, proteinler), %5-7 inorganik birleşikten oluşmaktadır (Petro-Turza, 1986; Minoia et al., 2010). Domatesin meyvesi zengin bir vitamin, mineral, esaslı aminoasit, organik asit, ve lif kaynağıdır (Kabelka et al., 2004; Durmuş ve ark., 2018). Ayrıca A ve C vitamini, potasyum mineral kaynağı bakımından zengin bir içeriğe sahip olup, fosfor ve demir gibi mineral maddelerini içermektedir. Domates meyvesi, likopen, beta karoten, flavanoidler gibi kendisine has olan besin değerleri sayesinde sağlık açısından koruyucu bir besin

olarak görülmektedir. Özellikle son yıllardaki likopenin anti-oksidan özellikli faaliyetleri ve kansere karşı gösterdiği etkiler nedeniyle ciddi bir popülerite kazanmıştır (Raiola et al., 2014; Seçgin et al., 2018). Bu özelliklerinden dolayı üretimi ve tüketimi sürekli artmaktadır. Glikoz ve fruktoz miktarı bakımından yüksek olan olgun domates meyvesindeki en önemli polisakkaritler; pektinler, arabinoksilanlar, selüloz ve ksilanlardır. Domatesin suyu içerisinde yer alan serbest aminoasitlerin %45'ini glutamik asit oluşturmaktadır. Daha sonra bunu aspartik asit izlemektedir. Organik asit bakımından sitrik asit en fazla şekilde bulunurken belirli bir miktar malik asit bulunmaktadır (Durmuş, 2018; Yılmaz ve ark., 2018) (Tablo 1.1).

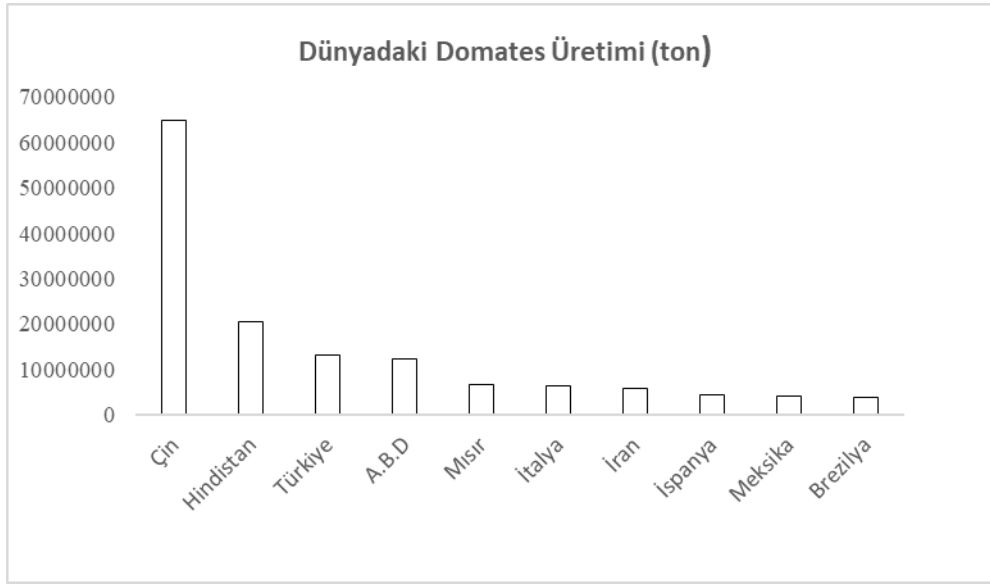
Tablo 1.1. Domates meyvesinin içeriği (Sönmez ve Ellialtıoğlu, 2014)

Meyve İçeriği	Miktar (%)
Fruktoz	25
Glikoz	22
Sitrik asit	9
Protein	8
Mineraller	8
Pektinler	7
Selüloz	6
Malik asit	4
Hemiselüloz	4
Dikarboksilik amino asit	2
Yağlar	2
Sakkaroz	1
Askorbik asit	0.5
Renk maddeleri	0.4
Uçucu birleşikler	0.1
Diğer birleşikler (Aminoasit, Vitamin, Polifenol)	1

Domatesin aroması ve tadı üzerinde etkili yaklaşık olarak 400 üzerinde madde tespit edilmiştir. Bunların 30'unun aroma oluşumundan sorumlu olduğu belirlenmiştir. Aromadan sorumlu uçucu ve değişken maddeler ve de organik asitlerin yanında aminoasitler, şekerler ve mineral tuzları da domates meyvesinin tadının oluşumunda rol oynamaktadırlar. Domates meyvesinin kırmızı rengini veren metabolitler, başta likopen olan üzeri karotenoid grubu kimyasallardır. Bu metabolitler miktarı; domatesin çeşidi, olgunluk aşaması, iklim şartları, ışık, sıcaklık, toprak yapısı, gübreleme, sulama ve yetiştiricilik teknikleri, hasat ve

depolama koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Sönmez ve Ellialtıoğlu, 2014).

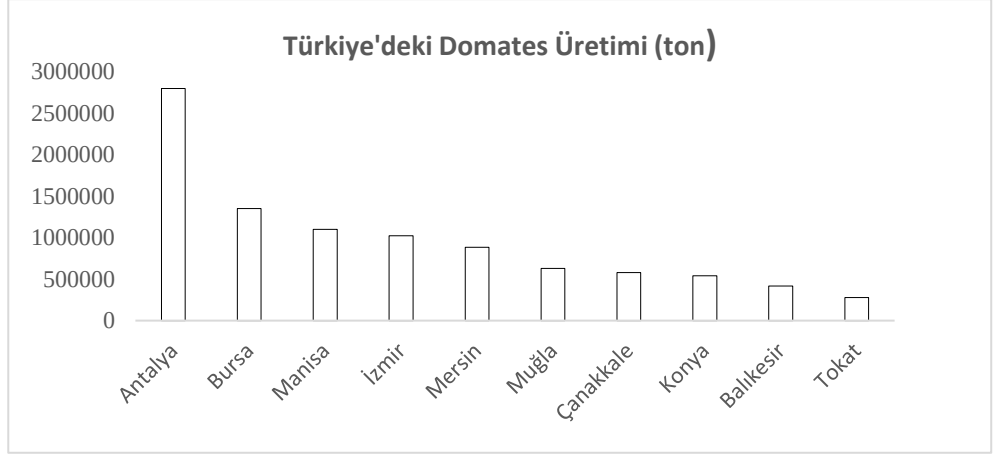
Domates üretimi başta ülkemiz olmak üzere dünyadaki bütün coğrafyalarda yapılabilmektedir. Yıllar ve iklim şartlarına bağlı olarak Şekil 1.2’de görüldüğü gibi 2020 yılına ait verilere göre 13,204,015 ton üretim ile Çin ve Hindistan’dan sonra Türkiye üçüncü sırada yer almaktadır. Daha sonra sıra ile A.B.D, Mısır, İtalya, İran, İspanya, Meksika ve Brezilya gelmektedir (FAO, 2022).



Şekil 1.2. Dünyada ülkelere göre 2020 yılı domates üretimi (FAO, 2022).

Türkiye sanayi domatesi ve işlenmiş sanayi domatesi ürünleri olan salça, ketçap, sos, domates konservesi, kuru domates ve domates suyu üretimi ve ihracatı bakımından diğer dünya ülkeleri ile rekabet halindedir. Ancak Çin gibi en büyük üretici olan ülkelerin girdi maliyetlerinin daha düşük olması, işlenmiş domates ürünlerinin ihracatı konusunda Türkiye gibi ülkelerin şansını önemli oranda azaltmaktadır. Ancak ülkemiz kuru domates gibi işlenmiş ürünlerde kalite özelliği bakımından diğer ülkelere göre daha ön plandadır (Duman, 2016)

Dünyada domates üretiminde söz sahibi olan ülkemizde domates üretimi bakımından 2021 yılında en fazla üretim 2,800,392 ton ile Antalya’da gerçekleşmiştir. Daha sonra sıra ile Bursa, Manisa, İzmir, Mersin, Muğla, Çanakkale, Konya, Balıkesir ve Tokat illeri gelmektedir (TUIK, 2022)



Şekil 1.3. Dünyada'ki ülkelere göre 2021 yılı domates üretimi (TUİK, 2022).

Dünyada ve Türkiye’de yoğun olarak domates yetiştiriciliği yapılan yerlerde bitki hastalıklarına sebep olan etmenlerden (Bakteriyel, Fungal, Viral vd.) dolayı domates kalitesinde ve veriminde düşüşler görülmektedir. Ülkemizde görülen domates hastalıkları tablo 1.2’de gibi rapor edilmiştir (Anonim, 2021).

Tablo 1.2. Dünyada ve ülkemizde görülen domates hastalıkları (Anonim,2021)

Hastalığın Türkçe İsmi	Etmenin Bilimsel İsmi
Domates Fidelerinde Kök Çökerten Hastalığı	<i>Sclerotinia</i> spp., <i>Rhizoctonia</i> spp., <i>Phythium</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Alternaria</i> spp., <i>Ralstonia solanacearum</i>
Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı	<i>Tomato Spotted Wilt Tospovirus</i>
Domates Lekeli Solgunluk Virüsü Hastalığı	<i>Phytophthora infestans</i>
Domates Mildiyözü Hastalığı	<i>Tomato Mosaic Tobamovirus</i>
Domates Mozayik Virüsü Hastalığı	<i>Pseudomonas corrugata</i> , <i>P. viridiflava</i> , <i>P. cichorii</i> , <i>P. mediterranea</i> , <i>Pectobacterium carotovora</i> subsp. <i>Carotovora Pectobacterium. c. subsp. atroseptica</i> , <i>Pectobacterium. chrysanthemi</i>
Domates Öz Nekrozu Hastalığı	<i>Cladosporium fulvum</i>
Domates Yaprak Küfü Hastalığı	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>
Domatesde Bakteriyel Leke Hastalığı	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>
Domateste Bakteriyel Benek Hastalığı	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
Domateste Bakteriyel Kanser ve Solgunluk Hastalığı	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
Domateste Beyaz Çürüklük Hastalığı	<i>Alternaria solani</i>
Domateste Erken Yanıklık Hastalığı	<i>Botrytis cinerea</i>
Domateste Kurşuni Küf Hastalığı	<i>Septoria apiicola</i> , <i>S. lycopersici</i>
Domateste Septoria Leke Hastalığı	<i>Candidatus Phytoplasma solani</i>
Domateste Stolbur Hastalığı	<i>Cucumber Mosaic Cucumovirus</i>
Hıyar Mozayik Virüsü Hastalığı	<i>Leveillula taurica</i>
Patlıcangillerde Külleme Hastalığı	

Bu hastalıklar arasında son yıllarda en fazla önem kazanmış olan etmenlerden birisi *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm)'dir. Cmm, domates bitkisinde bakteriyel solgunluğa ve kansere neden olan bir bakteriyel etmendir. Hastalık ilk kez 1910 yılında ABD'de rapor edilmiş ve 1950'lerin ortalarına kadar dünya çapında yayılmıştır. Cmm etmeni, özellikle enfekteli tohumlar ve fideler üzerinden yayılmaktadır. (Elphinstone and O'Neill, 2010)

Ana konukçusu domates bitkisi olup, bazı duyarlı patlıcangiller yabancı otlar (*Solanum nigrum* vd.) patojenin ara konukçusu olabilmektedir. Enfekte tohumlardan bulaşma genellikle %1'den daha düşük bile gerçekleşebilmektedir. (Elphinstone and O'Neill, 2010). Ürün kaybı, yıl, lokasyon, yetiştirme şekli ve konukçunun fenolojik dönemi göre farklılık göstermektedir. Örnek olarak Kanada'daki Ontaria şehrinde Cmm, ticari üretim alanlarında %84'lük bir ürün kaybına sebep olmuştur. Ayrıca Michigan'da bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı, sanayi domatesi üreticisi başına 300.000 \$ değerinde maddi zarara neden olmuştur. Ciddi ürün ve ekonomik kayba neden olmasından dolayı Cmm, Avrupa Birliği ve birçok ülkede karantina etmeni olarak değerlendirilmektedir (Sen et al., 2015).

Hastalık simptom olarak primer enfeksiyon ve sekonder enfeksiyon yönünden belirtileri değişmektedir. Primer enfeksiyonlar tohum veya fide kaynaklı olarak sistemik belirtiler şeklinde görülmektedir. Patojen bakteri ksilem iletim demetlerinin tıkanmasına neden olarak bitkide sadece tek taraflı solgunluğa yol açmaktadır. Yapraklar beyaz ve ardından kahverengi ara damar nekrotik dokunun olduğu bölgeler gelişebilmektedir. Genç saplar veya yapraklar eğri veya şekil bozukluğu gösterebilmektedir. Şiddetli vasküler enfeksiyonlar, sapın iç kısmından epidermis ve dış kortikal dokunun çatlamasına neden olabilmektedir. Çatlama sonucu açığa çıkan dokular, patojen tarafından bol miktarda salgılanan kaygan bir madde ortaya çıkmaktadır. Sonunda bitkilerde ölüm gerçekleşmektedir (EPPO, 2016) (Şekil 1.3)



Şekil 1.4. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* tarafından primer enfeksiyonlar sonucu domates bitkisinde oluşturulan simptomlar.

Sekonder enfeksiyonlar topraktan veya kültürel işlemler sırasında bulaşan yüzeysel şekilde görülen belirtilerdir. Bakterilerin bitki yüzeyinde veya yüzey yaralarında çoğalmasıyla oluşmaktadır. Yapraklar, saplar ve kalkalar un benzeri bir görünüm alabilmektedir. Yakından incelendiğinde genellikle beyazdan sol turuncu renge kadar değişen kabartmalı veya çökük kabarcıklar oluşmaktadır. Saplar üzerindeki un benzeri lekeler yapraklardakilere kıyasla genellikle daha belirgin görülmektedir. Bu enfeksiyon tipinde özellikle, meyvelerde yüzeysel enfeksiyonlar "kuş gözü" lezyonlarına neden olmaktadır: yükselmiş, soluk yeşil veya beyaz kabarcıklar, genç meyve büyüdükçe açık kahverengi bir merkez ve klorotik bir hale geliştirebilmektedir (EPPO, 2016) (Şekil 1.4)



Şekil 1.5. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in sekonder enfeksiyonuna dair görsel.

Cmm'de, tip III salgı sistemi yoktur ve birçok virölans faktöründen sadece birkaç virölans faktörü deneysel olarak belirlenmiştir. Cmm'nin hastalık mekanizması tam olarak bilinmediği için, araştırmacılar bu organizma ile yoğun olarak çalışmalarını önermektedir. Cmm direnç kazandıran genetik bitki mekanizmaları karmaşıktır ve yetiştiriciler henüz hastalıklara dirençli çeşitler geliştirememiştir (Sen et al., 2015).

Hastalığın kontrolü konusunda kültürel önlemler ve fiziksel mücadele önerilmektedir. Antimikrobiyal özellikte olan Bakırsülfat, Bakır hidroksit, Bakır hidroksit/Mancozeb, Streptomycin ve Streptomycin/bakır hidroksit gibi kimyasal birleşiklerin hastalığın şiddetini azalttığı bilinmesine rağmen mücadelesinde ekonomik anlamda etkili değildir (de Leon et al., 2006). Ayrıca bakırlı birleşikler etkisiz olması yanısıra bitkide fitotoksik etkiye neden olabilmektedir (Yang et al., 2002). Cmm etmenine karşı mücadelesinde kullanılan başka bir yöntem ise konukçu bitkinin savunma mekanizmasının uyarılmasıdır. Yapısal savunmanın uyarılması ile patojen istilasına karşı fiziksel ve kimyasal bariyerlerin oluşturması hastalık mücadelesinde etkili olabilmektedir. Bitki savunmasını uyarmak için Salisilik asit (SA), Jasmonic asit (JA), DL- β -aminobutyric asit (BABA), Potasyum tuzları, 2,6-dichloroisonicotinic asit (INA), Acibenzolar-S-methyl (ASM) ve Nitric oksit ve Etilen gibi uçucu birleşikler kullanılmaktadır (Baysal et al., 2003).

Dayanıklı çeşit olarak; *Solanum pimpinellifolium*-Utah20, *S. arcanum*-LA2157, *S. chilense*, *S. lycopersium*-Bulgaria 12, *S. habrochaites*-LA407 gibi domates genotip dayanıklı olarak kabul edilse de ticari anlamda başarılı değildir. Dayanıklılık mekanizmasının karmaşık olması nedeniyle başka çeşitlere genetik aktarım yapılamamaktadır (Sen et al, 2015).

Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR), toprak bakterileri olarak bilinmektedir ve bitki kök yüzeyi veya rizosferi gibi yaşam alanlarını kullanmaktadırlar. Bu mikroorganizmalar, bitki gelişimini doğrudan ve dolaylı etkileyen mekanizmalarla teşvik edebilmektedirler. PGPR'lerin bitki gelişimini olumlu yönde etkileyen doğrudan etkileri arasında atmosferdeki serbest azotu bağlama yeteneği, fosfor kullanılabilirliğini artırması, enzim ve fitohormon

retimi gibi faktörler bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, PGPR'ler bitkilerde sistemik direnci artırarak (ISR), yer ve besin rekabetiyle patojen gelişimini bastırarak, ürettiği bazı ikincil metabolitlerle patojenlerin gelişimini inhibe ederek dolaylı etkilerle bitki büyümesini destekleyebilmektedirler. PGPR'ların genel olarak bitki büyümesini desteklemek amacıyla kullanılırken daha sonraki çalışmalar PGPR'lerin biyolojik kontrol ajanı olarak da kullanılabileceğini göstermiştir (Bora ve zaktan, 1998).

Cmm etmeninin ülkemizdeki domates yetiştiriciliği alanlarında ekonomik anlamda sorun oluşturması ve mücadele yöntemlerinin yeterince etkili olmaması nedeniyle soruna etkili bir alternatif çözüm bulak için bu tez çalışması planlanmıştır. Bu çalışmada daha önceden izole edilmiş Cmm izolatlarının klasik yöntemler, patojenisite ve moleküler yöntemler ile türün tanısı ve genetik varyasyonunun belirlenmesi; Domates retim alanlarında izole edilen yararlı bakteriyel izolatların *in-vivo* koşullarda etkilerinin belirlenmesi; en başarılı olan izolatların *in vivo* koşullarda kullanımının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* ve Yaygınlığı Hakkında Bilgiler

İlk kez 1910 yılında Birleşik Devletler'in Michigan eyaletinde saptanan Cmm etmeni ilk olarak *Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen, *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* (Smith) Dye and Kemp olarak isimlendirilmiştir. *Clavibacter* cinsi, Prokaryot üst aleminin, Bacteria aleminin, Actinobacteria şubesinin, Actinomycetales takımının, Microbacteriaceae familyasında yer almaktadır. Bu bakteri cinsi, endospor üretmeyen Gram (+) bir mikroorganizma olup, bitki patojeni coryneform bakteriler içinde yer almaktadır. Hücre duvarının peptidoglikan içeriğinde dibasic aminoasit olarak 2,4-diaminobutyric asit yer almaktadır (EPPO. 2016). Cmm, genellikle düz ve sarı pigmentli koloniye sahiptir. Ancak bazı durumlarda pembe veya beyaz pigment de olabilmektedir. Diğer *Clavibacter michiganensis* alt türleri ile karşılaştırıldığında Cmm hem CNS hem de TTC seçici ortamlarında gelişebilmektedir. Etmen, Ribose, Sorbitol ve Inulin'den asit üretimi meydana getirmemektedir. Ayrıca Acetate ve Formate'dan yararlanamamaktadır. Casein hidrolize edememesine rağmen Esculin hidrolize edebilmektedir (Schaad et al., 2001).

Clavibacter cinsine bağlı bakteriler 20 °C ile 30 °C sıcaklıkta gelişebilmektedir. Bakteri, 0°C sıcaklıkta hayatta kalabilmekte ve optimum gelişme sıcaklığı 25 °C'dir. *Clavibacter* yapay ortamda gelişim gösterebilmektedir ancak kolonilerin görülebilmesi için 3 ile 7 gün süreye ihtiyaç duymaktadır. Bu bakteri cinsine ait türlerin gelişmesi için gerekli optimum pH 7 ile 8'dir. Ancak *Clavibacter* yine de pH 5 olan xylemde de gelişim gösterebilmektedir (Sen et al., 2015).

Cmm'de, tip III salgı sistemi yoktur ve hatta tip II sekresyon sistemi olduğu düşünülmektedir (Hwang et al., 2022). Birçok virülans faktöründen sadece birkaçı deneysel olarak belirlenmiştir (Sen et al., 2015). Cmm'nin hastalık yapma yeteneğinin, pat-1 geninde yoğunlaştığı belirtilmektedir (Jahr et al., 1999). Cmm izolatlarının virulent olanları, pat-1 genine sahipken avirulent olanlarında bu genler mevcut değildir. NCPPB382 Cmm izolatları ise pCM1 ve pCM2 plazmidlerini

taşımaktadır ve bu izolatlar virulent olarak kabul edilmektedirler (Gartemann et al., 2008). Her iki plazmid de selüloz ile ilişkili genleri içermektedir. pCM1 plazmidinde CelA geni bulunurken, pCM2 plazmidinde ise pat-1 proteazı virulans faktörü yer almaktadır. Yapılan çalışmalar, pCM1 ve pCM2 plazmidlerini taşımayan Cmm100 ve chp/tomA PAI bölgesini içermeyen Cmm27 izolatlarının inokülasyon bölgesinde yayılmanın sınırlı olduğunu göstermiştir. Bu bulgular, chp/tomA bölgesinde yer alan virulans faktörlerinin ve plazmidlerin, Cmm'in domates bitkisinde yayılma ve kolonizasyonunda önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Belgüzar, 2014).

Bu hastalık etkeni, o zamandan beri dünya genelinde farklı domates üretim bölgelerinde bulunduğu belirlenmiştir (Gleason et al., 1993). Sherf and Macnab (1986) tarafından yapılan çalışmada, Cmm, Ontario, Kenya ve Carolina gibi bölgelerde %60-80 oranında zarara yol açan bir hastalık etmeni olarak bildirmişlerdir.

Chang et al. (1992) ise; patojen bakterinin fideler tarlaya ekilirken %31-83 enfeksiyon oranıyla meyvelerde %13 yetiştirme alanındaki ürünlerde ise %46 oranında bir kayıpa neden olduğunu belirtmiştir.

Ricker and Riedel (1993) tarafından yapılan çalışmada ise fidelerin tarlaya ekilmesi sırasında patojenin bulaşması durumunda, çevresel koşullara bağlı olarak zararın %61-93 arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

Kawaguchi et al. (2010), Japonya'da 1958 yılında ilk kez tespit edilen Cmm etmeninin Okayama bölgesinde yeniden görüldüğünü ve 2005-2008 yıllarında yapılan epidemiyolojik çalışmalarda hastalık etmeninin moleküler yöntemlerle tanımlandığını bildirmiştir.

Türkiye'de hastalık ilk kez 1950 yılında İç Anadolu bölgesinde tespit edilmiştir (Tokgönül, 1998). Öktem (1984) tarafından yapılan bir çalışmada, Ankara'da hastalık etkeninin %0,5 ila %23 oranında yaygın olduğu, bazı ilçelerde ise bulaşık oranının %100 olduğu bildirilmiştir.

Öktem ve Benlioğlu (1993), İç Anadolu bölgesinde yapılan domates üretimi arazilerinden 354 noktada örnekleme yapmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda, Afyon dışındaki 13 ilde toplam 97 örnekte Cmm varlığı tespit edilmiştir. Hastalık etmeninin Isparta'da %5,25, Yozgat'ta %4,67, Ankara'da %3,71, Çankırı'da %1,8 ve Niğde'de %1,4 oranında olduğu görülmüş, diğer İç Anadolu illerinde ise %0,07 ile %0,71 arasında yaygın olduğu bildirilmiştir.

Kahveci ve Gürcan (2003), Antalya ve ilçelerinde yaptıkları çalışmada, üretim alanlarından elde edilen 72 patojen izolatının Cmm olduğunu tespit etmişlerdir.

Basım et al. (2004) ise Isparta'nın Çandır, Keçiborlu ve Şeyhler ilçeleri ile Antalya'nın Aksu, Demre, Kınık, Kumluca ve Serik ilçelerindeki serada yapılan domates yetiştiriciliği alanlarında %26 ila %65 arasında Cmm ile bulaşıklık gösterdiğini belirlemiştir.

Yıldız (2007) tarafından yapılan çalışmada Antalya, Adana, Bursa, İzmir, Mersin ve Artvin'de hastalığın yoğun miktarda olduğu ve bir önceki üretim sezonunda ise %70-80 oranında daha yaygın olduğu bildirilmiştir.

Belgüzar (2014) ise Tokat ve ilçelerinde 2011 ve 2012 yıllarında Cmm'nin yaygınlığını belirlemek için yapılan bir çalışmada, 2011 yılında Tokat merkezdeki üretim alanlarının %88,88'inin, 2012 yılında ise %52,85'inin hastalığa bulaşık olduğunu tespit etmiştir. İlçeler bazında yapılan değerlendirmede ise 2011 yılında yaygınlık oranının %9,64, 2012 yılında ise %4,98 olduğu bildirilmiştir.

2.2 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in Tanısına Yönelik Çalışmalar

Cmm'nin tanınmasında kullanılan çeşitli tanı testleri vardır. Bu yöntemler ile yapılan çalışmalara değinecek olursak;

Gitatis and Beaver (1990) tarafından yapılan çalışmada, Cmm izolatlarının yağ asit metil ester profilleri analiz edilmiştir. Bu analizde, izolatların yağ asit

zincirleri incelenmiş ve C12-C17 zincirlerinin varlığıyla karakterize edilen benzer profiller gözlenmiştir.

ELISA yönteminde Cmm 'in düşük düzeylerde bile (10^3 - 10^4 hücre/ml) tespit edilebilmesini sağlanabilmektedir. Bu yöntemde, poliklonal antikorlar ve alkalın fosfatazla etiketlenmiş konjugat kullanılarak yapılan DAS-ELISA testinde tespit sınırı 10^7 cfu/ml olarak belirlenmiştir (Çetinkaya-Yıldız, 2007).

Cmm tanısında moleküler yöntem olarak Santos et al. (1997) tarafından kullanılan spesifik primerlerle CM3-5 ve CM4-5 patojen tespit edilmiştir. Ayrıca Louws et al. (1998) rep-PCR kullanarak CMM-5 ve CMM-6 primerlerini kullanmıştır.

Hadas et al. (2005) tarafından yapılan çalışmada, Cmm'nin tespitinde üç farklı besiyeri (CNS, mSCM) ve tohumdan doğrudan PCR ve BIO-PCR yöntemleri kullanılmıştır. Çalışmada, 10.000 adet tohum içinde Cmm ile enfekte olan 1 tohum, BIO-PCR yöntemiyle tespit edilmiştir.

Leon et al. (2006) tarafından yapılan çalışmada, immünomanyetik ayırma (IMBs) yöntemi kullanılmışlardır. Çalışmada, farklı IMBs konsantrasyonları ve iki antiserum kullanılarak yapılan çalışmada, 1/3200 oranında seyreltilen 10^6 IMBs/ml poliklonal antiserum ile kaplama yapılmıştır. Bu yöntemle 10^3 cfu/ml yoğunluğuna sahip bakteriler, %50'den daha yüksek bir oranda tespit edilmiştir.

Zhao et al. (2007) tarafından simptomsuz domates tohumları üzerinde yapılan bir çalışmada, TagMan çalışması kullanılarak DNA ekstraksiyonu ile Cmm tespit edilmişlerdir. Çalışma, Cmm'in simptom göstermeyen tohumlarda dahi var olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar, tohum kaynaklı enfeksiyonların hastalığın yayılmasında önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir

Mraz et al. (2011) tarafından gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada, 10 farklı domates tohumunda ELISA, IF ve PCR yöntemleri kullanılmıştır. Cmm'in tohum çeşitlerinde belirlenmesinde en etkili yöntemin PCR olduğu tespit edilmiştir. Kök,

gövde ve yapraklardan alınan örneklerin tamamında PCR yöntemiyle patojen saptanırken, IF ve ELISA yöntemleri sadece yaprak örneklerinde belirlenmiştir.

2.3 *Clavibacter michigensis* subsp. *michiganensis*'in Mücadelesine

Yönelik Çalışmalar

Cmm'nin mücadelesinde kullanılan farklı yöntemler mevcuttur. Ancak çoğu ekonomik anlamda etkili etkinlik gösterememektedir. Bu yöntemlere değinecek olursak;

Fatmi et al, (1991) tarafından yapılan çalışmada, Cmm'nin doğal olarak enfekte tohumlardan etkili bir şekilde yok edilmesi için çeşitli mücadele yöntemleri incelenmiştir. Bu yöntemler arasında 0,6 M hidroklorik asit (HCl), %0,25 ve %0,50 asitli bakır asetat (ACA) çözeltilerinde bekletme, 52 °C'de 20 dakika ve 56 °C'de 30 dakika süresince suya bekletme gibi uygulamalar yer almaktadır. Çalışma sonuçlarına göre, HCl ve %0,25 ACA uygulamalarının saprofitik bakteri florasını tamamen yok ettiği gözlemlenmiştir. Diğer uygulamalar ise tohumlar üzerindeki saprofitik bakteri florasını azaltmıştır. Ancak, bu uygulamaların çoğunun çimlenmeyi önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Sadece 56°C'de suya bekletme uygulamasının çimlenmeyi etkilemediği görülmüştür.

Özaktan (1991) tarafından yapılan çalışmada, Cmm'e karşı mücadele yöntemleri incelenmiştir. Çalışma, testlenen tohum uygulamaları arasında Cmm'e karşı en etkili ve sorunsuz uygulamanın sıcak su uygulaması olduğunu göstermiştir. Bu uygulama, tohumların 54-56 °C'de 25 dakika süreyle sıcak suya tutulmasıyla gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, meyve eti içeren domates tohumlarının 72 saat süreyle fermentasyonunun da Cmm'i etkili bir şekilde elimine ettiği belirlenmiştir. Bu fermentasyon süreci, tohumların hastalığa neden olan bakteriden arındırılmasına yardımcı olmuştur. Fide uygulamalarında ise yapay enfekteli fidelerin köklerinin streptomisin çözeltisine daldırılmasının hastalık çıkışı ve gelişimini başarıyla engellediği gözlenmiştir. Streptomisin, bir antibiyotik olduğundan Cmm'in inhibe ederek hastalığın kontrol altına alınmasını sağlamıştır.

Hausbeck et al. (2000) tarafından yapılan çalışmada, bakterisitlerin Cmm'ye olan etkileri araştırılmıştır. Arazi ve sera koşullarında gerçekleştirilen denemelerde, çeşitli bakterisit uygulamalarının etkisi incelenmiştir. Sera koşullarında, bakır hidroksit, bakır hidroksit/mancozeb, bakır hidroksit/mancozeb streptomisin ve streptomisin/bakır hidroksit uygulamalarının, pozitif kontrol grubuyla benzer sonuçlar verdiği ancak kontrol grubuna kıyasla bitkilerin daha uzun süre canlı kalmasını sağladığı gözlenmiştir. Yani bu uygulamalar, hastalığın bitkiler üzerindeki hastalığın etkilerini geciktirmiş veya azaltmıştır.

Soylu ve ark. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, bitki aktivatörü olan acibenzolar-S-methyl (ASM)'in Cmm'ye etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada, ASM'nin bakteri gelişimini baskıladığı ve hastalık gelişimini %75 oranında azalttığı gözlenmiştir. ASM uygulanan bitkilerde, peroksidaz (POX) ve glutathione peroxidase (GPX) gibi enzimlerin varlığının hastalığa dayanıklılığı artırdığı belirlenmiştir. İnokulasyon yapılan bölgelerde bu enzimlerde görülen artış, bitkilerin hastalığa karşı direncinin geliştiğini ve hastalık gelişiminin baskılandığını göstermiştir.

Baysal ve ark. (2005) tarafından yapılan bir çalışmada, deniz kaplumbağası (*Caretta caretta*) yağı Cmm'e karşı kullanılmıştır. Bu çalışmada, yağın Petri kabında etkili olmadığı ancak sera koşullarında denendiği ve inokulasyondan 7 gün sonra bakteri gelişimini %50,7'den daha yüksek oranda azalttığı ve hastalık gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Gaz kromatografisi analizi ile yapılan çalışmada, yağın eikosapentaenoik asit ve dokosaheksaenoik asit gibi bileşenlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bileşenlerin enzim aktivitesini artırdığı ve bitkide dayanıklılığı artırdığı düşünülmektedir.

Tanović et al. (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, Cmm dahil olmak üzere çeşitli patojenlere karşı 17 adet uçucu yağın etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışma, *in-vitro* test şeklinde gerçekleştirilmiş olup, patojenlere 7 gün boyunca uçucu yağlarla muamele edilmiştir. Uçucu yağların 0.65 µl/ml konsantrasyonunda patojenlerin gelişimi kısmen veya tamamen engellenmiştir. Tarçın, kekik, rezene ve reyhan gibi uçucu yağların ise 0.16 µl/ml konsantrasyonunda antifungal ve antibakteriyel etkiler sergilediği belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda, test edilen

bazı uçucu yağların toprak kökenli patojenlerle mücadelede kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Almeida et al. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, patlıcan yapraklarından elde edilen peptit ekstraktlarının *Ralstonia solanacearum* ve Cmm'in gelişimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada, yaprak yüzeyindeki (ES) ve hücre duvarındaki (EP) peptitlerin patojenlerin gelişimini %60'tan daha yüksek oranda engellediği gözlenmiştir.

Milijasevic et al. (2009) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Cmm'e karşı farklı bakırlı preparatlar, antibiyotikler ve bir bitki aktivatörünün etkileri araştırılmıştır. Sera koşullarında yürütülen bu çalışmada, patojen popülasyonunun azalmasında en etkili uygulama Streptomycin antibiyotiği olmuştur. Streptomycin'in Cmm'in bitkiye yayılmasını tamamen durdurduğu gözlemlenmiştir. Bakırlı bileşikler, ASM ve kasugamycin tek başına uygulandığında yeterince etkili olamamıştır. Ancak bakırlı bileşikler arasında en etkili olanı bakır hidroksit olmuştur. Ayrıca, bakır hidroksit ile streptomycin kombinasyonunun patojen popülasyonunun düşmesinde büyük bir etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir. ASM'nin ise inokulasyondan 3 gün önce uygulanmasının patojen gelişimi üzerinde daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Yogev et al. (2009) tarafından tamamlanmış bir çalışmada, sığır veya tavuk gübresi kombinasyonlarıyla oluşturulan kompostların domates veya biber kalıntılarına göre bakteriyel solgunluk hastalığını %79 ile %100 arasında azalttığı tespit edilmiştir. Cmm bakterisinin kompost içindeki popülasyonunun 15-20 gün içinde azaldığı ancak torf ortamında 35 ila 40 gün boyunca yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, kompost ile yetiştirilen domates bitkilerinde, bitki dokularında Cmm tarafından kolonizasyonun azaldığı (%0-20), ancak torf (%53-90) veya perlit (%30-90) ortamlarında kolonizasyonun kompost ortamına kıyasla daha yüksek olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar, bitki kalıntılarından oluşan kompostların Cmm popülasyonunu bastırabilmesi nedeniyle entegre yönetim programlarında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Soykan (2010), tarafından yürütülen bir çalışmada, Cmm etmenine karşı yedi farklı bitki savunmasını uyaran aktivatör ve organik/sentetik gübrelerin etkinliği araştırılmıştır. Seradaki saksı deneylerinde, Auxigro, Herbagreen, ISR-2000, Messenger, ve Regalia gibi beş preparat hastalığa karşı etkili bulunmuştur. Ancak tarla deneyleri ise sadece ISR-2000'nin etkili olduğunu göstermiştir.

Talibi et al. (2011), tarafından yürütülmüş olan bir çalışmada, Fas'tan toplanan tıbbi ve aromatik bitkilerin Cmm'e karşı antibakteriyal etkileri incelenmiştir. Çalışma, *in-vitro* testler kullanılarak gerçekleştirilmiştir ve 15 farklı familyaya ait 40 bitkinin etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, test edilen 40 bitkinin tamamının Cmm'in gelişimini inhibe ettiği gözlemlenmiştir. Bu inhibisyon bölgeleri, 5 ila 50 mm arasında değişen çaplarla oluşmuştur. En etkili bitkilerin Rubus, Anvillea ve Pistacia cinslerine ait olduğu belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasında olduğu gibi Cmm etmenine karşı en önemli mücadele yöntemlerin başında yararlı mikroorganizmalar kullanarak yapılan biyolojik mücadele çalışmalarıdır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda sunulmuştur;

El-Abyad et al. (1992), tarafından yapılmış olan bir çalışmada, *Streptomyces pulcher* ve *S. citrefluorescens* adlı antagonist bakterilerin, Cmm dahil olmak üzere birçok hastalık etmenine karşı etkinlikleri araştırılmıştır. *In-vitro* testler kullanılarak gerçekleştirilen bu çalışmada, farklı dozlarda antagonist bakteriler hastalık etmenlerine uygulanmış ve 19 etmende etkin oldukları belirlenmiştir. *Streptomyces pulcher*'in tohum kaplama, tohum daldırma ve toprak inokulasyonu yöntemleriyle Cmm ile bulaşık bitkilere uygulanması sonucunda hastalık şiddetinin toprağa inokulasyon ve tohum kaplama uygulamalarında %100 oranında engellendiği tespit edilmiştir. Ayrıca, tohum çimlenmesi %95-96 oranında gerçekleşmiştir. Sadece tohum daldırma uygulamasında hastalık şiddeti %57,1 oranında azalırken tohum çimlenmesi %96 oranında gerçekleşmiştir.

Slusarski (2004), tarafından yapılan bir çalışmada, farklı antagonist bakterilerin Cmm'ye etkinliği araştırılmıştır. Bakteriler, kaya yünü aracılığıyla damla sulama sistemiyle uygulanmış ve bu uygulama sonucunda hastalık şiddetinde düşüş ve verimde %7 ile 17 oranında artış gözlemlenmiştir.

Utkhede and Koch (2004), tarafından yapılan çalışmada, sera koşullarında domates bitkilerinde Cmm'ye karşı farklı biyolojik uygulamaların etkinliği araştırılmıştır. Bu çalışmada *Trichoderma harzianum* (RootShield), *Bacillus subtilis* (Quadra 136), lizozim, vermikompost, *Rhodosporidium diobovatum* (S33) ve *B. subtilis* (Quadra 137) adlı biyolojik maddelerin kullanımı incelenmiştir. Çalışma sonucunda, *Bacillus subtilis* (Quadra 136), *Trichoderma harzianum* (RootShield), lizozim, vermikompost, *Rhodosporidium diobovatum* (S33) ve *B. subtilis* (Quadra 137) maddelerinin farklı konsantrasyonlarda (sırasıyla 0,3 g/l, 0,6 g/l, 10 g/l, 1×10^8 hücre/ml ve 0,5 g/l) bakteriyel solgunluk hastalığına karşı etkili olduğu gözlenmiştir. Bu biyolojik maddelerin kullanımıyla hastalık şiddetinde azalma sağlanmıştır.

Girish and Umesha (2005), tarafından yapılmış olan çalışmada, *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a, *Bacillus pumilus* INR7, *Bacillus pumilus* SE34, *Bacillus pumilus* T4, *Bacillus subtilis* GBO3 ve *Brevibacillus brevis* TPC11 gibi PGPR (Bitki büyüme düzenleyici rizobakteri) izolatlarının kullanıldığı bir deney gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, test edilen PGPR izolatlarının sadece üçü (IN937a, GBO3 ve IPC11) tohum çimlenmesini ve bitki gelişimini artırdığı gözlenmiştir. Sera koşullarında yapılan deneylerde bu üç izolatın hastalık gelişimini azalttığı da belirlenmiştir.

Çetinkaya-Yıldız (2007), tarafından gerçekleştirilen çalışmada, domates bakteriyel solgunluk hastalığıyla mücadelede kimyasal mücadeleye alternatif olarak PGPR kullanılma olanakları araştırılmıştır. Çalışmada 39 farklı örnekten 499 adet potansiyel PGPR bakteri izolatı elde edilmiştir. Bu izolatlar arasından fosforu çözme ve azot bağlama yetenekleri en yüksek olan 30 izolat, aday PGPR olarak seçilmiştir. Bu seçilen aday bakteriler arasında en fazla etkili olan 8 adayın, Cmm tarafından neden olan hastalık belirtilerini baskılayabilme potansiyelleri *in-vivo* çalışmalarıyla belirlenmiştir. Saksı çalışmalarının sonuçlarına göre, PGPR izolatlarıyla muamele edilen domates bitkilerinde Cmm tarafından neden olunan hastalık belirtilerinin açık arazi koşullarında ortalama %43 oranında azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, bu izolatlarla yapılan tohum ve tarla denemelerinde elde edilen sonuçlar da hastalık kontrolünde olumlu etkiler göstermiştir.

Zang et al. (2010), tarafından yapılan bir çalışmada, domates bitkisinde Cmm etmenine karşı etkili olan 170 aday bakteri izole edilmiştir. Bu aday bakterilerin antibiyotik özellikleri çift katmanlı agar üzerinde test edilmiştir. Test sonucunda, antibiyotik aktivitesi gösteren 63 aday bakteri belirlenmiştir. En güçlü antibiyotik etkisi, Streptomyces cinsine ait olan 15 bakteri tarafından gösterilmiştir. Bu bakterilerin inhibisyon zonu ortalaması 4,0 cm üzerindedir ve en güçlü etkiye sahip olan ırk 6,5 cm'lik bir inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Akat ve Özaktan (2011), tarafından yapılan bir çalışmada, Ege Bölgesi'nde bitkilerden elde edilen 49 adet endofit ve epifit karakterli antagonist aday bakteri izolatının Cmm patojenine karşı kullanıldığı belirtilmiştir. *In-vitro* testlerde, test edilen bakteriyel antagonistlerin %40'ının 2-37 mm arasında engelleme zonları oluşturarak Cmm'yi engellediği bulunmuştur. En etkili antagonistlerin fluoresan *Pseudomonas* türleri olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada, 11 aday bakteri (11/1, 19a, 2/9, 30, 35EN, 51, P.f. Bo, S5/4, S6/2EP, S6/3EP, Serratia) *in-vivo* denemelerinde kullanılmak üzere seçilmiştir. İlk denemede, bu 11 aday bakterinin domates tohumlarına uygulandığında bakteriyel solgunluğu %54-86 oranında engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca, bu bakteriler tohum kaplama uygulamasını takiben kök bölgesine uygulandığında hastalık çıkışını %80-97 oranında engelleyerek, tek başına tohum bakterizasyonundan daha etkili oldukları gözlenmiştir. İkinci denemede ise, tek başına tohum bakterizasyonu uygulamasıyla hastalığın %50-60 oranında engellendiği, ancak şaşırtmadan önce tohum bakterizasyonu + kök içirme şeklindeki uygulamada Cmm'ye karşı %59-74 oranında engelleme sağlandığı belirlenmiştir.

Lanteigne et al. (2012), tarafından yapılan çalışmada, Cmm'e karşı biyolojik mücadele ajanları araştırılmıştır. *In-vitro* ve *in-vivo* çalışmalar sonucunda *Pseudomonas* sp. LBUM223 ve *Pseudomonas* sp. LBUM300 adlı bakterilerin diğer adaylara göre hastalık etmenini baskıladığı belirlenmiştir. Bu bakterilerin PCA, HCN ve DAPG gibi bileşikler ürettiği tespit edilmiştir ve DAPG/HCN üreten bakterilerin daha etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Roy et al. (2012), tarafından yapılan çalışmada, domates bitkisinde Cmm'in gelişimini durdurmaya yönelik olarak Bacillus cinsine ait bakterilerden

yararlanılmıştır. *Bacillus subtilis* IMV B-70 ve *Bacillus pumilus* 3 adlı bakterilerin ekim öncesi tohum uygulamasıyla önemli düzeyde başarı sağladığı belirlenmiştir. Bu başarının, bakterilerin antimikrobiyal bileşikler sentezlemesi ve bitkinin dayanıklılığını uyardığına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sun et al. (2012), tarafından yapılmış olan bir çalışmada, deniz tortusundan izole edilen *Actinomyces* PH33 bakterisinin Cmm'e karşı inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. Bu bakterinin inhibitör etkisinin yüksek sıcaklık, geniş pH aralığı ve UV radyasyonu altında kaybolmadığı gözlemlenmiştir.

Jung et al. (2014), tarafından yürütülmüş bir çalışmada, Cmm ATCC 7429'a karşı etkili olan biyolojik mücadele ajanları tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada topraktan izole edilen *Bacillus subtilis* DJM-51 ırkının *in-vitro* koşullarda önemli düzeyde inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür

Novinscak et al. (2016), tarafından yapılan çalışmada, çilek bitkisinin (*Fragaria ananassa*) rizosferinden izole edilen *Pseudomonas brassicacearum* LBUM300 bakterisinin Cmm dahil olmak üzere oomyecetes şubesine ait hastalık etmenlerine karşı antagonistik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu etkinin 2,4-diacetylphloroglucinol ve hidrojen siyanid üretimine bağlı olduğu tespit edilmiştir.

Aksoy ve ark. (2017), tarafından yapılan bir çalışmada, domates bitkisinde Cmm'ye karşı *Pseudomonas putida*'nın etkinliği ve bitki gelişim parametrelerine olan etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, *P. putida* uygulamasının bitkide biyokimyasal bir bariyer oluşturmaya teşvik ettiğini ve bitkideki bazı bileşiklerin miktarında önemli artışlara neden olduğunu göstermiştir

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1 Gereçler

3.1.1 Çalışma sırasında kullanılan test bitkisi

Çalışma sırasında dayanıklı ve tolerant bir ticari çeşit olmadığı için ülkemizde yaygın olarak kullanılan Cmm'e karşı çok hassas yerel bir çeşit olan *Solanum lycopersicum* cv. SC2121 kullanılmıştır. SC2121 olarak anılan bu çeşit, sofralık olarak pazar değeri yüksek bir çeşit olup orta erkeci olgunlaşma özelliğine sahip, bitki örtüsü oturak olan meyve genel olarak basık yuvarlak, gelişme süresi ortalama üç ay olan tarla yetiştiriciliğine uygun standart domates çeşididir. (Gültekin, 2018)

3.1.2 Çalışma sırasında kullanılan test patojeni

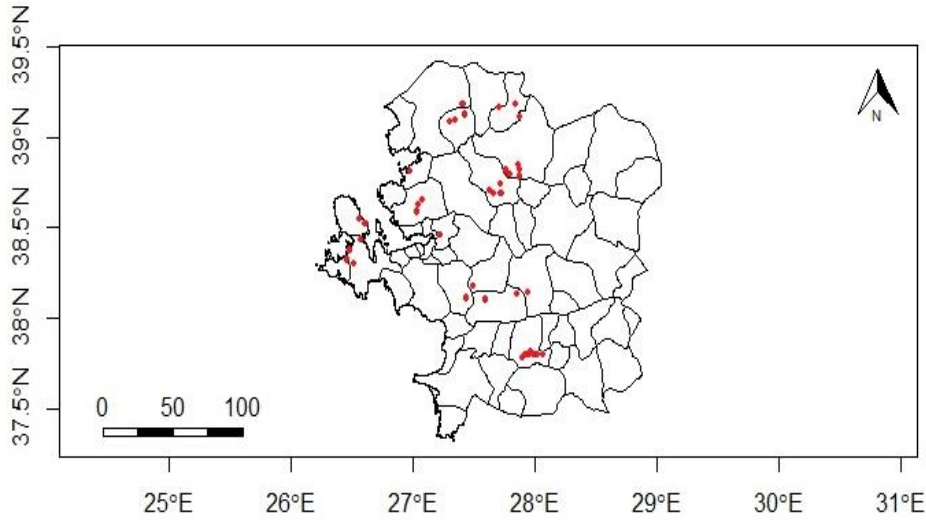
Çalışmada test patojeni olarak ön tanısı yapılmış E.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür stoklarında yer alan Cmm izolatları kullanılmıştır. Tanı ve karakterizasyon sırasında referans olarak *Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus* kullanılmıştır (Tablo.3.1)

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan patojen izolatlar

İzolat Numarası	Patojen Bakteriler	İzolasyon yeri ve yılı
15	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>insidiosus</i>	Karantina /İzmir 2012
16	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	TOTEM /İzmir 2013
22	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	Karantina /İzmir 2012
23	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	Cıcık / Mersin 2007
166	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	Bzmae/İzmir 2013
181	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	Mersin 2008
210	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	EUZF/İzmir 2013
224	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	EUZF/İzmir 2015
227	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	TOTEM/İzmir 2015
360	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp.	TOTEM/İzmir 2016

3.1.3 Çalışma sırasında kullanılan yararlı bakteriler

Domateste bakteriyel solgunluk etmeni olan Cmm'e karşı yararlı bakteri izolatlarının elde edilmesi Aydın, İzmir ve Manisa illeri çevresinde 40 farklı farklı lokasyonda bitki materyali toplanmıştır (Şekil 3.1). Bu lokasyonlar sırasıyla;



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan yararlı bakterilerin toplandığı lokasyonlar

AYDIN - Efeler: Armutlu, Baltaköy, Dalama, Gölhisar, Karahayıt, Kozalaklı, Şahnalı, Tepeköy, Yeniköy.

İZMİR - Bayındır: Çırpı; **Bergama:** Bölcek; **Bornova:** E.Ü. Kampüs; **Çeşme:** Ildırı, Germiyan; **Karaburun:** Eğlenhoca, Mordoğan; **Kınık:** Kınık Ovası, Poyracık, Yayakent; **Menemen:** E.Ü.Z.F. Menemen Çifliği, UTAEM, Yanıkköy; **Ödemiş:** Balabanlı; **Tire:** Gökçen, Alacalı; **Torbalı:** Subaşı; **Urla:** Balıklıova, Nohutalan.

MANİSA - Akhisar: Akselendi, Beyoba, Pınarcık, Sarıcalı, Sazoba; **Kırkağaç:** Gelenbe, Karakum, Musahoca; **Saruhanlı:** Alibeyli, Çamlıyurt, Dereli, Lütfiye.

3.1.4 Çalışma sırasında kullanılan besiyerleri

Çalışma sırasında patojen geliştirilmesi, yararlı bakterilerin izolasyonu ve geliştirilmesi ve genel bakteriyolojik işlemler için King B (KB) (Tablo 3.2) ve Tryptic Soya Agar (TSA) (Tablo 3.3) ortamlarından yararlanılmıştır. Patojen bakteriler ve yararlı bakterilerin uzun süreli stoklanabilmesi için Nutrient Glycerol Agar (NGA) (Tablo 3.4) kullanılmıştır. Biyokimyasal testler amacıyla yapılan; Levan üretimi tespiti için Sucrose Nutrient Agar (SNA) (Tablo 3.5), Arginine dehidrolaz üretimi için Thorleyn's medium 2A (Tablo 3.6), Gelatin hidrolizi (Tablo 3.7), Aesculium hidrolizi (Tablo 3.8), Nişasta hidrolizi (Tablo 3.9) için gerekli besiyerleri ve Arabinose, Cellobiose, Eritritol, Glycine, Inositol, Mannitol, Mannose, Trehasole gibi karbon kaynaklarından yararlanma testi için Ayer's minimal tuz ortamı (Tablo 3.10) kullanılmıştır. Yararlı bakterilerin; siderofor üretme kapasitelerinin belirlemek için Blue-CAS agar (Tablo 3.11), 1-Aminocyclopropane-1- carboxylate (ACC) deaminaz aktivitesini saptamak için ACC eklenmiş, DF minimal tuz ortamı (Tablo 3.12), Fosfataz aktivitesinin belirlemek için NBRIP ortamından (Tablo 3.13) yararlanılmıştır. Kolonizasyon takibi sırasında Cmm'in kolonizasyonunu belirlemek için patojenin yarı seçici ortamı olan Semiselective Clavibacter Medium (SCM) (Tablo 3.14) kullanılmıştır.

Tablo 3.2. Patojen ve yararlı bakterilerin geliştirmek için kullanılan King B ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları (King et al., 1954)

King B (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Pepton	20 g
	Gliserol	10 ml
	MgSO ₄ .7H ₂ O	1,5 g
	K ₂ HPO ₄	1,5 g
	Agar	20 g
	121 °C'de 20 dakika otoklavlanır	

Tablo 3.3. Patojen ve yararlı bakterilerin geliştirmek için kullanılan TSA ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları (Schaad et al., 2001)

TSA (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Tryptic Soya Broth	30 g
	Agar	20 g
	121 °C’de 20 dakika otoklavlanır	

Tablo 3.4. Bakterilerin uzun süreli olarak saklanması için kullanılan NGA besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarlar (Lelliot and Stead, 1987)

NGA (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Nutrient Broth	8 g
	Gliserol	20 ml
	Agar	16 g
	121 °C’de 20 dakika otoklavlanır	

Tablo 3.5. Levan oluşumu testi için Sucrose Nutrient Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarlar (Lelliot and Stead, 1987)

SNA (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Nutrient Broth	13g
	Sucrose	50g
	Agar	20 g
	121 °C’de 20 dakika otoklavlanır	

Tablo 3.6. Arginin dehidrolaz testi için Thorney’s medium 2A ortamı besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarlar (Klement et al., 1990)

Thorney’s medium 2A (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Peptone	1 g
	NaCl	5 g
	K ₂ HPO ₄	0.3 g
	Agar	3 g
	Phenol red	1 mg
	Arginin HCl	10 g
	Hazırlanan çözeltinin Ph’sı 7.2’e ayarlanır ve çözelti 5’er ml olarak deney tüplerine aktarılır. 121 °C’de 20 dakika otokavlanır	

Tablo 3.7. Jelatini hidrolize edebilme yeteneklerinin saptamak için kullanılan ortamın hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarlar (Zimbro et al., 2009).

Nutrient Gelatin (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Pepton	5 g
	Beef extract	3 g
	Jelatin	120 g
	Ortam jelatinin eriyebilmesi nedeniyle 50°C sıcaklıkta hazırlanır. Hazırlanan çözelti 5'er ml olarak deney tüplerine aktarılır. 121 °C'de 20 dakika otokavlanır.	

Tablo 3.8. Aesculin hidrolizi için aesculin agar ortamı hazırlanmak için gerekli kimyasallar ve miktarları (Schaad et al., 2001).

Aesculin Agar Medium (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Aesculin	1 g
	FeCl ₂ *6H ₂ O	0.5 g
	NaCl	5 g
	MgSO ₄ *7H ₂ O	0.2 g
	K ₂ HPO ₄	1 mg
	Agar	15 g
	Hazırlanan çözeltinin Ph'sı 6.8'e ayarlanır ve 121 °C'de 20 dakika otokavlanır	

Tablo 3.9. Nişasta hidrolizi testi için Nişastalı NA besiyerinin yapılması için gerekli kimyasallar ve miktarları (Lue et al., 2010).

Nişastalı NA besiyeri ortamı (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	Eriyebilir patates nişasta	10g
	Nutrient Broth	8g
	Agar	15g
	121 °C'de 20 dakika otoklavlanır	

Tablo 3.10. Karbon kaynaklar yararlanma testi için Ayer's mineral tuz ortamının hazırlamak için gerekli olan kimyasallar ve miktarları (Schaad et al., 2001).

Ayer's Mineral Tuz Ortamı (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	NH ₄ H ₂ PO ₄	1 g
	KCl	0.2 g
	MgSO ₄ *7H ₂ O	0.2 g
	Bromthyl blue (%1.6 v/v %95 Ethanol)	1.0 ml
	Agar	12 g
	pH'sı 7.1'e ayarlanır. Daha istenilen karbon kaynakları bakteri filitresi yardımı ile aktarılır.	

Tablo 3.11. Yararlı bakterilerin siderefor oluşturma yeteneklerinin belirlenmesinde kullanılan Blue-CAS Agar besiyeri hazırlama protokolü (Klement et al., 1990).

Blue-CAS Agar (1000 ml)	Chrome azurol S 26ölüşyonu	1.) 60,5 mg 26ölüşy azurol S (CAS) (50ml saf su içinde çözülür)
		2.) 10 ml Demir (III) 26ölüşyonu ((1 mM FeCl ₃ .6H ₂ O(10 mM HCl içinde 0,027g/100ml), (10 mM HCl; 0,036g/100ml su içinde çözülür))
		3.) 72,9 mg HDTMA (40 ml su içinde çözülür, 1 ve 2 basamağa eklenir)
		Oluşan Koyu mavi süspansiyon otoklavda sterilize edilir (121°C / 15 dk.)
	Free asid solüşyonu (750 ml suda)	30.24 g Pipes (Free asit)
		12 g NaOH (50% (w/v)
	Tuz solüşyonu (toplam 100 ml)	3 g/L KH ₂ PO ₄ (0,3 g/100ml)
		5g/L NaCl (0,5 g/100ml)
		10 g/L NH ₄ Cl (1 g/100ml)
		20 mM MgSO ₄ (0,492 g/100ml)
		1 mM CaCl ₂ (0,110 g/100ml)
		15 g agar
		Free asit ve tuz solüşyonları karıştırılarak 121°C _de 15 dk. Otoklavda sterilize edilir.
	Filtre ile sterilizasyon	10 ml (% 20'lik Sukroz veya Gulukoz solüşyonu – 4 g/ 20ml su çözülür)
		Casamino acid 30ml (%10 w/v) 4g/40ml su
	Hazırlanan süspansiyonlar karıştırılarak petrilere dökülür.	

Tablo 3.12. Yararlı bakterilerin ACC deamilaz enzimi aktivitesini saptamak için kullanılan DF minimal tuz ortamını hazırlamak için gerekli kimyasallar ve miktarları (Saravanakumar and Samiyappan, 2007).

ACC-DF Minimal Tuz Ortamı (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	KH ₂ PO ₄	4 g
	Na ₂ HPO ₄	6 g
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 g
	Glucose	2 g
	Gluconic Asit	2 g
	Citric Asit	2 g
	FeSO ₄ .7H ₂ O	1 mg
	H ₃ BO ₃	10 µg
	MnSO ₄ .H ₂ O	11,19 µg
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	124,6 mg
	CuSO ₄ .5H ₂ O	78,22 mg
	MoO ₃	10 mg
	Agar	15 gr
	pH 7,2'ye ayarlanır 121°C 20 dk otoklavlanır	
	1-Aminocyclopropane-1-carboxylate	300 mg
100 ml suda 300 mg Acc çözülür ve filtreden geçirilerek, 40 °C soğutulmuş DF ortamına eklenir.		

Tablo 3.13. Yararlı bakterilerin fosfatı çözme aktivitelerini belirlemek amacıyla kullanılan NBRIP Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları (Nautiyal, 1999).

NBRIPAgar (1000 ml)	Kimyasal	Miktar (1 lt için)
	Glukoz	10 g
	Ca ₃ (PO ₄) ₂	5 g
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g
	KCl	0,2 g
	MgSO ₄ 7H ₂ O	0,25 g
	MgCl ₂ 6H ₂ O	5 g
	Agar	15 g
	7 Ph ayarların 121 °C de 20 dk. Otoklavlanır.	

Tablo 3.14. Cmm yarı seçici ortamı olan Semiselective Clavibacter Medium besiyerinin yapmak için kullanılan kimyasallar ve miktarları (Fatmi et al., 2017).

SCM besiyer (1000 ml)	Kimyasal	Miktar
	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	2,62 g
	KH ₂ PO ₄	0,50 g
	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,25 g
	Boric Asit	1,50 g
	Sucrose	10 g
	Yeast Extract	0,10 g
	Agar	12 g
	121°C'de 20 dk otoklavlansın	
	*Nicotinic acid	100 mg
	*Nalidixic acid	30 mg
	*Potassium tellurite	1 ml
	*Cycloheximide	200 mg
	* Filtreden geçirilerek, 40 °C soğutulmuş ortama eklenir	

3.1.5 Çalışma sırasında kullanılan bitki yetiştirmegeliştirme koşulları

Patojenisite çalışmaları, *in-vivo* biyokontrol testleri ve kolonizasyon çalışmalarında bitki yetiştirme 25 °C sıcaklık, %70 bağıl nem, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık periyot koşullandırılmalarına sahip led ışıklandırmalı bitki büyütme kabinlerinde yürütülmüştür (Şekil 3.2)



Şekil 3.2. Çalışma sırasında kullanılan bitki büyütme kabini.

Sera koşullarında yürütülen hastalık takibi ve hastalık baskısı altındaki verim denemesi çalışması ise plastik ve cam örtülü olan otomatik sulama sistemine serada topraksız tarım tekniğine uygun şekilde yürütülmüştür (Şekil 3.3)



A

B

Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan a) plastik ve b) cam örtülü seralar.

3.1.6 Çalışma sırasında kullanılan bitki yetiştirme materyali

İklim odasında yürütülen patojenisite, *in-vivo* biyokontrol ve kolonizasyon çalışmalarında yetiştirme ortamı olarak steril torf kullanılmıştır. Sera yapılan hastalık takibi ve hastalık baskısı altında verim denemesinde substrat olarak perlit kullanılmıştır.

3.1.7 Çalışma sırasında kullanılan bitki gelişim çözeltileri

Seradaki hastalık şiddetinin takibi ve hastalık baskısı altında verime etkisinin belirlemek için yapılan topraksız tarım denemelerinde Gül (2019)'ün belirlediği bitki besleme çözeltisi kullanılmıştır (Tablo 3.15)

Tablo 3.15. Topraksız tarım serasında kullanılan çözeltiliyi yapmak için kullanılan kimyasallar ve miktarları (Gül, 2019).

STOK A (5000 ml /1000 lt)	
Kullanılacak Kimyasal Madde	Kullanılan Miktar(g) (100 L için)
Amonyum Nitrat (%33 N)	406
Potasyum Nitrat (%13 N, %46 K ₂ O)	8000
Kalsiyum Nitrat (% 15.5 N, %19 Ca)	5263
Fe-EDDHA	320
STOK B (5000 ml /1000 lt)	
Kullanılacak Kimyasal Madde	Kullanılan Miktar (g) (100 L için)
Fosforik Asit	1740 ml
Potasyum Nitrat (%13 N, %46 K ₂ O)	5100
Magnezyum nitrat	10526
Mikroelement Stok (MES) çözeltisi (100 ml/ 1000 lt)	
Kullanılacak Kimyasal Madde	Kullanılan Miktar (g) (5 L için)
Mangan Sülfat	76.95
Borik asit	143.05
Bakır sülfat	3.95
Çinko sülfat	11
Amonyum molindat	0.9
1 ton suya 150 ml nitrik asit ilave edilmektedir.	

3.1.8 Çalışma sırasında kullanılan moleküler çalışma materyali

3.1.8.1 Çalışmada kullanılan primerler

Cmm'in tanılanması için Cmm'ye spesifik bir primer çifti olan Cmm5/Cmm6 primer çifti kullanılmıştır. Primerin özelliği tablo 3.16'da verilmiştir. Çalışma sonunda hem *in-vitro* hem *in-vivo* denemede başarılı olan yararlı bakterilerin tanılama amaçlı sekanslama analizi yapılabilmesi için 16S rRNA bölgesinden amplikasyon yapan F24/R1492 primer çifti kullanılmıştır (Tablo 3.17). Çalışmada kullanılan Cmm izolatlarının moleküler olarak genetik varyasyonunu belirlemek

için REP-PCR yapılmıştır. REP-PCR'a ait olan REP elementi *Clavibacter* cinsine ait bakterilerin DNA'ları çoğaltmadığı için ERIC ve BOX elementleri kullanılmıştır. ERIC elementi için ERIC F/ERIC R primer çifti (Tablo 3.18) ve BOX elementi için BOX-AIR primeri (Tablo 3.19) kullanılmıştır.

Tablo 3.16. Cmm spesifik primer çifti olan Cmm5/Cmm6 primer çiftinin oligonükleotit dizilimleri.

Cmm5/Cmm6 (Burokiene, 2006)	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')
	GCG AAT AAG CCC ATA TCA A	CGT CAG GAG GTT CGC TAA TA

Tablo 3.17. Sekans analizinde kullanılan 16 rRNA primer çiftlerinin oligonükleotit dizilimi.

16S rRNA 11 F /1492 R (Kane et al., 1993)	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')
	GTT TGA TCC TGG CTC AG	GGT TAC CTT GTT ACG ACT T

Tablo 3.18. REP PCR'a ait eric elementinin primerine ait oligonükleotit dizilimi.

ERIC-F/ERIC-R (Versalovic et al., 1991)	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')
	NNN NCG NCG NCA TCN GGC	NCG NCT TAT CNG GCC TAC

Tablo 3.19. REP PCR'a ait BOX elementinin primerine ait oligonükleotit dizilimi.

BOX-AIR (Versalovic et al., 1995)	Primer (5'-3')
	CTA CGG CAA GGC GAC GCTGAC G

3.1.8.2 Çalışma sırasında kullanılan master mix

Çalışma sırasında patojenin tanılanması, patojenler arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesi için REP-PCR yapılması ve sekans işlemi sırasında yapılan PCR işlemleri sırasında kullanılan master mix içeriğinde; $MgCl_2$, KCl buffer, dNTPs, BSA (Bovine Serum Albumine), DMSO (Dimethyl sulfoxide) Taq Polimeraz ve ddH₂O mevcuttur. Bunların yapılan PCR işlemine göre kullanılan miktarları değişiklik göstermekte olup yöntemler kısmında belirtilmiştir.

3.1.8.3 Çalışma sırasında kullanılan elektroforez işleminde kullanılan kimyasal

Çalışma sırasında yapılan moleküler işlemlerin sonuçlarını görüntülemek için gerekli jelin hazırlanması için Bio-Helix marka Agarose kullanılmıştır. Agarose jel içerisinde ve elektroforez tankının yürütülmesi sırasında Thermo marka 50x TAE (Tris Acetate Etta) 0,5x oranında seyrettilerek hem jel yapımında hem tank içerisinde yürütülme işleminde kullanılmıştır.

3.2 Yöntemler

3.2.1 Çalışmada kullanılan patojen bakterilerin tanısı

3.2.1.1 Çalışmada kullanılan Cmm izolatlarının tanısı ve genetik varyasyonun incelenmesi

Fizyolojik ve biyokimyasal testler: Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı bakteriyoloji laboratuvarları stoklarında yer alan Cmm ön tanıli izolatların fizyolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu için; Gram reaksiyon testi, Florasan testi, Levan oluşumu, Oksidaz testi, Pektolitik aktivite testi, Arjginin dehidrolaz testi, Tütünde hipersensivite testi, Gelatin, Esculin, Nişasta Hidrolizi testleri yapılmıştır. Karbon kaynakları yararlanma testi için Mannose, Trehasole, Inositol, Eritritol, Cellobiose, Mannitol, Glycine, Arabinose içeren ortam hazırlanmıştır (Tablo 3.20)

Tablo 3.20. Cmm'nin fizyolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu için kullanılan testler ve uygulama yöntemi

Test Adı	Uygulama Şekli	Kaynakça
Gram reaksiyon testi	Bir damla %3 Potasyum Hidroksit (KOH) solüsyonu lam üzerine damlatılmıştır ve sonra bakteri kültürleri alınarak dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. Öze çıkarıldığında, uzama gösteren izolatlar Gram Negatif (-) olarak; uzama meydana gelmeyen izolatlar ise Gram (+) olarak sınıflandırılmıştır	(Schaad et al., 2001)
Florasan testi	KingB ortamına ekilen bakteriler 48 saat geliştikten sonra 366 nm dalga boyundaki florasan ışık altına tutulmuştur. Işıma varsa test pozitif kabul edilmiştir.	(Schaad et al., 2001)
Levan oluşumu	Tablo 3.5' deki SNA ortamına ekilen bakteriler 24°C sıcaklıkta 24-48 saat inkubasyona bırakılmıştır. Kubbemsi yapıda koloniler oluşturan bakteriler pozitif olarak değerlendirilmiştir.	(Schaad et al., 2001)
Oksidaz testi	Bakteriler kolonileri %1 tetramethyl-pphenylenediamine dihydrochloride içerikli solüsyondan damlatılmış kurutma kâğıtlarına öze yardımıyla sürülmüştür. Mor renge dönüşen bakteriler pozitif kabul edilmiştir.	(Schaad et al., 2001)
Pektolitik aktivite	Yüzeyi dezenfekte edilen patates dilimlerine, bakteriler den bir öze dolusu alınarak patatesin yüzeyine sürülmüş tür. 25°C'de 3 gün inkubasyona bırakıldıktan sonra patates yüzeyinde yumuşama meydana gelmişse test pozitif kabul edilmiştir.	(Schaad et al., 2001)
Arjinin dehidrolaz testi	Tablo 3.6'daki Thorney 2A ortamına bakterilerden bir öze dolusu inokule edilerek sıvı vazelin ile hava ile teması kesilerek 24°C'de 7 gün inkubasyona bırakılmıştır. Pembe renkteki ortamda renk değişimi gözlenirse pozitif kabul edilmiştir.	(Klement et al., 1990)

Tablo 3.20. Cmm'nin fizyolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu için kullanılan testler ve uygulama yöntemi (devam).

Test Adı	Uygulama Şekli	Kaynakça
Tütünde HR testi	Tütün yaprağının damar arasında bakteri süspansiyonu enjektör yardımıyla infiltre edilmiştir. 48 saat sonunda infiltre edilen yerde parşömensi nektrotik alan meydana gelirse pozitif kabul edilmiştir.	(Klement et al., 1990)
Gelatin hidrolizi	Tablo 3.7'deki Nutrient gelatin ortamına bakteri oze yardımıyla inokule edilmiştir. 25°C'de 7 gün inkube edildikten sonra 30 dk buzdolabında donması için bekletilmiştir. Eğer donmazsa test pozitif kabul edilmiştir.	(Lelliott and Stead, 1987)
Aesculin hidrolizi	Tablo 3.8'deki Aesculin agar ortamına bakteriler ekilmiştir. 48 saat sonra ortamda kahverengi renge dönüşüm varsa testi pozitif kabul edilmiştir.	(Lelliott and Stead, 1987)
Nişasta hidrolizi	Tablo 3.9'daki Nişastalı NA besiyeri ortamı bakteriler inokule edilmiştir. 25°C'de 72 saat inkübasyonundan sonra gelişen bakterilerin üzerine lugol eriği (100 ml'de 1 gr İyot ve 2 gr KI) dökülmüştür. Eriğik döküldükten sonra koloniler etrafında boyanmış alan oluşuyorsa pozitif kabul edilmiştir.	(Lue et al., 2010)
Karbon kaynaklarından yararlanma testi	Tablo 3.10'daki Ayer's Mineral Tuz Ortamına otoklavdan çıktıktan istenilen hidrokarbon eklenerek besiyeri hazırlanmıştır. Daha sonra bakteriler ortama inokule edilmiştir. 7 gün sonra sonun eğer koloni oluşuyorsa pozitif kabul edilmiştir.	(Schaad et al., 2001)

Patojenisite testleri: Domateste solgunluk ve kanser hastalığı etmeni olan Cmm'ye ait laboratuvar stoklarındaki izolatların hem Koch postulatı gereği patojen olup olmadığını ispatlamak hem de hangi izolatın virulent olduğunu belirlemek için patojenisite testi yapılmıştır. Kullanılacak inokulasyon yönteminde bakterilerin ksileme giriş yapması gerekmektedir. Bundan dolayı patojenisite testi için kök daldırma yöntemi kullanılmıştır. Bunun için 10^8 CFU /ml ($OD_{600} = 0.1$) hazırlanan bakteri süspansiyonuna hazırlanmıştır. Daha sonra 3 gerçek yapraklı döneme ait SC2121 çeşidine ait domates bitkileri kökleri traşlanarak 20-30 dakika

hazırlanan süspansiyon içerisinde bekletilmiştir. Hastalık ile bulaştırılan fide saksıya şaşırtılmıştır ((Şekil 3. 4) (Akat ve Özaktan, 2011)



a



b



c

Şekil 3.4. Cmm izolatlarının patojenisitesini belirlemek için yapılan test: a) Bakteriyel süspansiyonun yoğunluğunun UV-spektrofotometrede ayarlanması b) köklerin yaralanması c) yoğunluğu ayarlanan süspansiyona kökleri yaralanmış domates fidesinin daldırılması.

Deneme her tekerrürde 1 bitki olacak şekilde 4 tekerrürlü olarak hastalık etmeni inokule edilenler pozitif hastalık etmeni inokule edilmeyenler negatif grup olacak şekilde tesadüf parseli deneme desenine göre kurulmuştur. Hastalık şiddeti, inokulasyonundan 6 hafta sonra tablo 3.21'de yer alan 0-4 skalası ile değerlendirilmiştir (Şekil 3.5) (Klement el al. 1990).

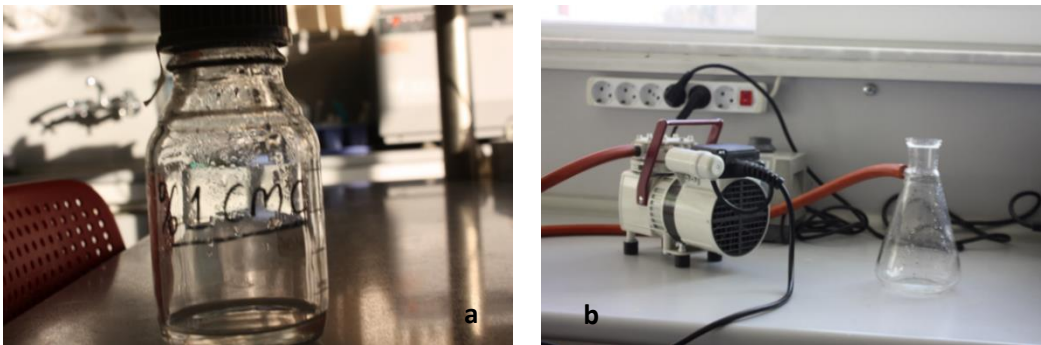
Tablo 3.21. Hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-4 skalası.

Skala	Hastalık Belirtisi
0	Hiç hastalık görülüyor
1	Aşağıdan yukarıya bitkinin 1/4' ü solmuş veya kurumuş
2	Aşağıdan yukarıya bitkinin 2/4' ü solmuş veya kurumuş
3	Aşağıdan yukarıya bitkinin 3/4' ü solmuş veya kurumuş
4	Tüm bitki solmuş veya kurumuş 4/4



Şekil 3.5. Cmm'nin oluşturduğu hastalık şiddetinin belirlenmesi için kullanılan 0-4 skalasındaki bitkilerin görünüşleri.

Tohum bakterizasyon yönteminin belirlenmesi: Cmm'nin tohum kökenli bir hastalık olması ve ayrıca çalışmada kullanılacak yararlı bakterilerin tohum bakterizasyonu konusunda en etkili yöntemi belirleyebilmek amacıyla patojenisite testinde en yüksek virulenslik göstermiş olan Cmm izolatu ile tohum bakterizasyon çalışması yapılmıştır. Bunun için CMC (Carboxymethylcellulose) ile kaplama yöntemi ve Vakum infiltrasyon yöntemi kullanılmıştır. CMC ile tohum bakterizasyonu yönteminde; %1 CMC içeren bir solüsyon ile Cmm süspansiyonu hazırlanmıştır. Daha sonra tohumlar 30 dakika 120 rpm hızdaki çalkalayıcıda bakterizasyona bırakılmıştır. Bakterizasyonu tamamlanan tohumlar daha sonra kurutması için steril kurutma kâğıtlarına alınmıştır. Vakum infiltrasyonun yönteminde; Tohumlar Cmm süspansiyonu içeren bir nuçe erleni içerisinde 2 mbar basınç altında 30 dakika bekletilerek bakterilerin tohum bakterizasyonu sağlanmaya çalışılmıştır. Daha sonra tohumlar kurutma kağıdına alınmıştır. (Şekil 3.6)



Şekil 3.6. Tohum bakterizasyonu için kullanılan yöntemler a) CMC ile kaplama b) Tohum infiltrasyonu

Bakterizasyonu yapılan tohumlardan daha sonra 10 adet tohumdan NaOCI ile yüzey sterilizasyonu yapılarak patojen izolasyonu yapılmıştır. Distilasyon serisi 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} 'den 100µl süspansiyon alınarak yayma ekim yapılmıştır. Gelişen Cmm kolonileri sayılarak ml başına düşen cfu miktarı hesaplanmıştır. *In-vivo* test olarak bulaştırılan tohumlar ile viyollerde ekim yapılmıştır. Hastalık çıkışları gözlemlenmiştir (Akbaba and Ozaktan, 2018).

Tanı ve genetik varyasyon belirlenmesi için yapılan moleküler testler:

Çalışmada kullanılan tablo 3.1'de yer alan Cmm ön tanılı izolatların moleküler olarak tanısı ve genetik varyasyonunu belirlemek için PCR yöntemi kullanılmıştır. Tanı için Cmm'ye spesifik bir primer olan Cmm-5 /Cmm-6 primer çifti kullanılarak klasik PCR yapılmıştır. İzolatlar arasındaki genetik varyasyonu belirlemek için REP-PCR yöntemi kullanılmıştır. REP-PCR'da ise ERIC ve BOX elementlerine ait primerler genetik varyasyonu belirlemek için kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin PCR şartları sırasıyla Tablo 3.22, Tablo 3.23, Tablo 3.24'de verilmiştir (Versalovic et al., 1991; Versalovic et al., 1995; Burokiene, 2006).

Tablo 3.22. Cmm5/Cmm6 primer çifti için kullanılan PCR şartları (Burokiene, 2006)

PCR Master Mix	Final Konsantrasyon	Miktar (1X)	PCR döngü koşulları		
Taq KCl Buffer	1 X	1,5 µl	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
MgCl ₂	25 mM	0,9 l	95 °C	3 dk	1
dNTP	2,5 mM	1,2 µl	94 °C	30 sn	33
Taq Polimeraz	1U	0,2 µl			
ddH ₂ O	-	7,2 µl	55 °C	30 sn	
Örnek DNA	50 ng	1,0 µl			
Cmm-5	1 mM	1,5 µl	72 °C	1 dk	
Cmm-6	1 mM	1,5 µl			
Toplam Hacim	-	15 µl	72 °C	5 dk	1

Tablo 3.23. REP-PCR ERIC elementine ait primer çifti için kullanılan PCR şartları (Versalovic et al., 1991)

PCR Master Mix	Final Konsantrasyon	Miktar (1X)	PCR döngü koşulları		
PCR Buffer	5X	5 µL	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
MgCl ₂	25 µM	6,7 µL	94 °C	7 dk	1
dNTP	25 µM	1,25 µL	90 °C	30 sn	33
BSA	10 mg/ml	0,4 µL			
DMSO	%100	2,5 µL	52 °C	1 dk	
Taq Polimeraz	5 U/ml	0,4 µL			
ddH ₂ O	-	4 µL			
Örnek DNA	50 ng	1 µL			
ERIC-F	20 µM	1,875 µL	65 °C	8 dk	
ERIC-R	20 µM	1,875 µL			
Toplam	-	25 µL	65 °C	16 dk	1

Tablo 3.24. REP-PCR BOX elementine ait primerine için kullanılan PCR şartları (Versalovic et al., 1995)

PCR Master Mix	Final Konsantrasyon	Miktar (1X)	PCR döngü koşulları		
PCR Buffer	5X	5µL	Sıcaklık	Zaman	Döngü sayısı
MgCl ₂	25 µM	6,7 µL	94 °C	7 dk	1
dNTP	25 µM	1,25 µL	94 °C	1 dk	30
BSA	10 mg/ml	0,4 µL			
DMSO	%100	2,5 µL			
Taq Polimeraz	5 U/ml	0,4 µL			
ddH ₂ O	-	4 µL	53 °C	1 dk	30
Örnek DNA	50 ng	1 µL			
BOXAIR	20 µM	3.75 µL			
Toplam	-	25 µL	65 °C	16 dk	1

3.2.2 Çalışmada kullanılan yararlı bakterilerin izolasyonu ve ön tanısı

Çalışmada kullanılacak yararlı bakterilerin izolasyonu için arazideki uygun özellikteki domates bitkilerinin kök, gövde, yaprak ve çiçeklerinden örnekler alınmıştır. Üretim sezonu boyunca toplanan kök, gövde, yaprak ve çiçeklerden endofit ve epifit özelliği gösteren antagonist aday bakteriler izole edilmiştir.

Epifit izolasyonu için uygun bitki kısımlarından kesitler alınan kök, gövde ve yaprak örnekleri steril fizyolojik su (%0.8 NaCl içeren steril su) eklenerek 30 dakika süre ile 120 rpm’de çalkalanmıştır. Daha sonra elde edilen fizyolojik sudan 10^{-1} ve 10^{-2} düzeyinde seyreltme yapılmış ve TSA ortamına ekilerek bakteriyel koloniler gelişinceye kadar 24 °C sıcaklıkta 24-48 saat arasında inkübasyona bırakılmıştır.

Endofit izolasyonu için önce katı bir düzey dezenfeksiyonu uygulanmıştır. Bunun için araziden toplanan bitkilerin uygun görülen kısımlarından kesilerek hazırlanan kök, gövde ve yaprak örnekleri, %10 oranında hazırlanmış NaOCl’de 5 dk bekletilmiştir, daha sonra %70’lik Ethanol’de 5 dk bekletilmiştir ve üç kez steril distile su ile durulanarak NaOCl ve Ethanol kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Hazırlanan örnekler steril kurutma kağıtlarında bekletirmiştir (Akbaba and Ozktan, 2018)

bekletilmiştir. Daha sonra tritürasyon ve impring yöntemleri kullanılmıştır (Hallmann et al., 1997). Tritürasyon yönetimi için; özellikle yaprak örnekleri steril fosfat buffer tuz solüsyonunda steril poşetler içerisinde stomaker ile ezilmiştir. Elde edilen süspansiyon 10^{-1} ve 10^{-2} düzeyinde seyreltilerek TSA ortamına ekilmiştir ve bakteriyel koloniler gelişene kadar 24 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İmpring yöntemi için; katı dezenfeksiyona uygulanan kök ve gövde kısımları kurutulduktan sonra steril bir bistüri ile kesitler alınıp TSA ortamına aktarılmıştır. Bir saat sonra parçalar alınarak bakteriyel koloniler gelişene kadar 24 °C’de inkübasyona bırakılmıştır (Özaktan et al., 2015).

Farklı lokasyonlardan toplanan örneklerden izole edilen aday bakteriler kolonileri saflaştırılmıştır. Daha sonra *in-vitro* ve *in-vivo* testlerde kullanılmak üzere -80 °C’de ve %20 gliserol içeren nutrient broth içerisinde saklanmaya alınmıştır (Nunes et al., 2001; Gerami et al., 2013).

Daha sonra stokta yer alan epifit ve endofit aday bakteriler King-B besi yerine ekimi yapmıştır. Besiyerinde geliştirilen bakterilerin koloni morfolojileri bakılmıştır. Ayrıca tablo 3.20’de geçen testlerden UV’de (366 nm) ışımaya pigmentasyonu, Gram reaksiyonları, tütünde hipersensitif reaksiyon, patatesta pektolitik aktivite testi, SNA’da levan oluşumu testlerine ve 37 °C’de gelişme durumlarına bakılarak değerlendirilmiştir. Tütünde hipersensitivite testi ve patatesta pektolitik aktivite testi sonucunda pozitif çıkan aday bakteriler elenmiştir. Kalan bakteriler ile *in-vitro* biyokontrol testlerine geçilmiştir.

3.2.3 *In-vitro* biyokontrol etkiye yönelik testler

3.2.3.1 Yararlı bakteri izolatlarının *in-vitro* biyokontrol etki testleri

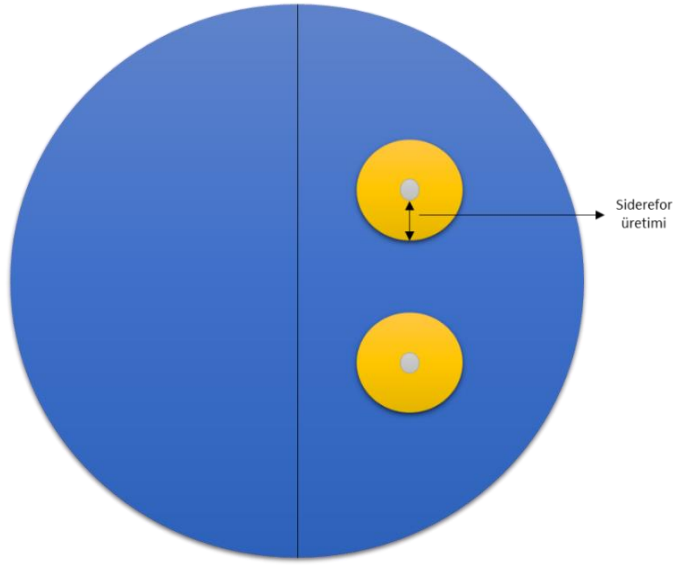
Indol 3 Asetil Asit (IAA) üretim aktivitesinin belirlenmesi: Yararlı bakterilerin IAA (indol-3-asetik asit) üretimi, L-triptofan varlığında kolorometrik olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla, 100 ml’lik erlenlerde Nutrient Broth (NB) besiyeri kullanılmıştır. NB besiyerine, bakteri filtresinden geçirilerek sterilize edilmiş %0,05 L-triptofan içeren bir çözelti eklenmiştir. Daha sonra, 10^8 cfu/ml yoğunluğa sahip yararlı bakterilerden 100 µl eklenerek, 24 °C sıcaklıkta ve 120 rpm

hızında 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında, elde edilen sıvı kültür 6000 rpm hızında 10 dakika süreyle santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatant Whatman (No:2) filtre kağıdından geçirilmiştir. Filtrelenmiş süpernatant daha sonra 10000 rpm hızında 5 dakika süreyle tekrar santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanttan 3 ml alınarak ayrı bir eppendorf tüpe aktarılmış ve üzerine 2 ml Salkowski ayırıcı (2 ml 0,5 M FeCl_3 + 98 ml %35'lik HClO_4) eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım, 30 dakika boyunca renk oluşumu için bekletilmiştir. Süre sonunda, spektrofotometrede ışık geçirgenliği OD 535 nm ölçülerek değerler belirlenmiştir. Elde edilen değerler $\mu\text{g/ml}$ birimine dönüştürmek için farklı ppm düzeylerinde IAA süspansiyonu hazırlanmış ve bu örnekler spektrometre ile ölçülerek hazırlanan standart eğrilerle karşılaştırılmıştır. Böylece, kantitatif olarak $\mu\text{g/ml}$ (ppm) bir eğri elde edilmiş. Elde edilen eğriye göre, yararlı bakterilerin IAA üretimi hesaplanmıştır (Şekil 3.7) (Bric et al.,1991).



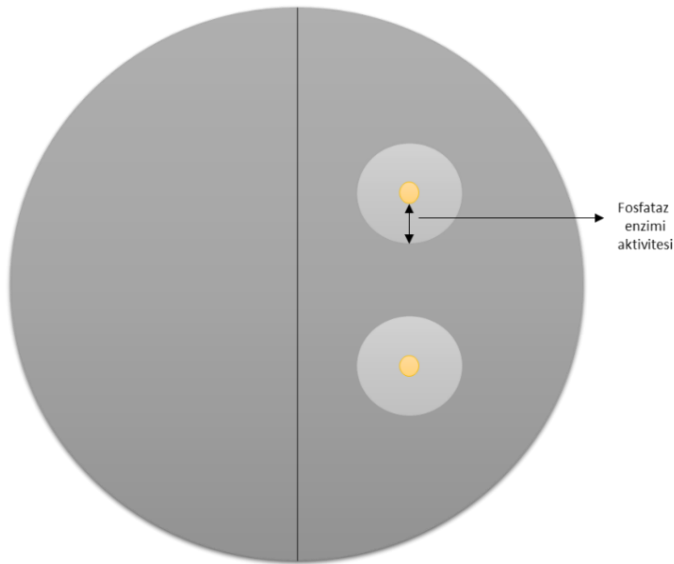
Şekil 3.7 YB'lerin IAA üretimi testinin aşamaları a) Petride yararlı bakterinin görünümü, b) YB'lerin süpernatantlarının filtreden geçirilmesi, c) Süpernatantın salkowski ayırıcı eklendikten sonra görünümü

Siderefor üretiminin belirlenmesi: Aday yararlı bakterilerin siderefor üretimini belirlemek için Tablo 3.11'deki bahsedilen Blue-CAS agar kullanılmıştır. Blue-CAS bulunan plastik petri kabına aday yararlı bakteri izolatları uzakları eşit olacak şekilde iki yere nokta ekim şeklinde inokulasyon yapılmıştır. Daha sonra 24°C 'de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Blue-CAS besiyerinde nokta ekim yapılan yerlerde turuncu-sarı renkte bir bölge oluşması halinde aday yararlı bakterinin siderefor ürettiği anlamına gelmektedir (Klement et al., 1990). Koloni çevresinde turuncu-sarı renkteki zon mm cinsinde ölçülerek değerlendirilmiştir. (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Yararlı bakterilerin siderofor üretiminin değerlendirilmesi.

Fosfataz aktivitesinin belirlenmesi: Aday yararlı bakteri fosfataz enziminin aktivitesinin belirlemek için tablo 3.11’de belirtilen NBRIP ortamı kullanılmıştır (Nautiyal, 1999). NBRIP ortamına aday yararlı bakterilere ait kültürden alınarak birbirine eşit uzakta iki noktaya ekim yapılmıştır. Daha sonra 24 °C sıcaklıkta 14 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Aday yararlı bakterilerin çevresindeki saydamlaşma şeklindeki zon mm cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir (Şekil 3.9)

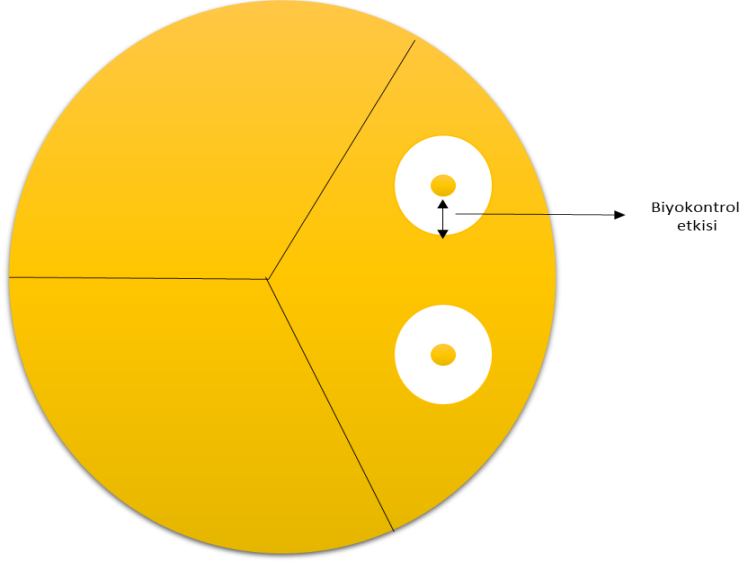


Şekil 3.9. Yararlı bakterilerin fosfataz enzim aktivitesinin değerlendirilmesi

1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase aktivitesinin belirlenmesi: İzole edilen aday yararlı bakteriler, bitkilerde etilen hormonunun öncülü olan ACC'yi parçalayan ACC-deaminase aktivitesi belirlemek için Tablo 3.12 içeriği belirtilen, ACC katkılı DF minimal tuz ortamında koloni gelişimine bakılarak var/yok şeklinde değerlendirilmiştir (Saravanakumar and Samiyappan, 2007)

Hidrojen siyanid (HCN) üretiminin belirlenmesi: TSA içeren plastik petrilere 4.4 gr/L yoğunlukta glycine içeren solüsyondan 100 µl baget yardımıyla yayılmıştır. Aday yararlı bakteri kültürü ile bu ortama çizgi ekim yapılmıştır ve daha sonra 24 °C 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra %0.5 picric asit + %2 sodyum karbonat içeren süspansiyondan 1 ml alınarak petrinin kapaklarının iç yüzeyine yerleştirilen steril filtre kağıtlarına emdirilmiştir. Daha sonra petriler ters çevirilerek 24 °C 'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İşlem sonunda filtre kağıdı sarı renkten kahverengi-turuncuya doğru renk değişimi meydana geldiyse bu aday yararlı bakteriler HCN ürettiği kabul edilmiştir (Bakker and Schippers,1987).

In-vitro engelleme etkisinin belirlenmesi: Aday yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı *in-vitro* etkisinin belirlenmesi için KingB besiyeri kullanılmıştır. KingB içeren plastik petrilere önce 10^8 cfu/ml ($OD_{600} = 0.1$) yoğunlukta Cmm içeren süspansiyon baget yardımıyla yayma ekim yapılmıştır. 30 dakika beklendikten sonra şekil 3.10'da belirtildiği şekilde nokta ekim yapılarak 24°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İşlem sonucunda nokta ekim şekilde yapılan bölgelerde oluşan zon mm cinsinden ölçülmüş ve değerlendirilmiştir. (Jetiyanon and Kloepper, 2002)



Şekil 3.10. *In-vitro* engelleme etkisinin değerlendirilmesi

3.2.3.2 Tartılı derecelendirme yönetimi ile *in-vitro* biyokontrol etkiye yönelik testlerin değerlendirilmesi

In-vitro biyokontrol etkisinin belirlenmesi için yapılan testlerin hepsinin aynı öneme sahip olmamasından dolayı bu testler sonucu elde edilen verileri değerlendirmek için tartılı derecelendirme yöntemi kullanılmıştır (Serçe ve Görgülü, 2009) (Tablo 3.25). Böylece; hem PGPR etkisi yüksek, hem de Cmm'de başarıyla engelleyebilecek izolatlar seçilmeye çalışılmıştır. *In-vitro* engelleme etkisi için %30 (maksimum 30 puan); Siderefor üretimi için %25 (maksimum 25 puan); ACC-deamilaz aktivitesi için %20 (maksimum 20 puan); IAA üretimi için %15 (maksimum 15 puan) ve Fosfataz enzim aktivitesi için %10 (maksimum 10 puan) olarak ağırlık verilmiştir. HCN üreten izolatlar bitkilere olası olumsuz etkileri nedeniyle tekrar vigorite testine tabi tutularak değerlendirilmiştir. Tartılı derecelendirme yöntemi uygulanarak 100 üzerinden 50 ve üzerinde puan alan aday yararlı bakteriler *in-vivo* test için seçilmiştir.

Tablo 3.25. Tez çalışmasında kullanılan tartılı derecelendirme yöntemi ve puanlama sistemi

<i>In vitro</i> Testler	Aralık	Verilen Puan
İndol Asetik Asit (IAA) Salgılama Testi	50-100 ppm	1
	100-150 ppm	3
	150-200 ppm	6
	200-250 ppm	9
	250-300 ppm	12
	300 $\geq$ ppm	15
Fosfatın (P) Çözünürlüğü Testi	1-3 mm	1
	3-6 mm	2
	6-9 mm	4
	9-12 mm	6
	12-15mm	8
	15 $\geq$ mm	10
Siderofor Salgılama Testi	0-1 mm	1
	1-3 mm	5
	3-6 mm	10
	6-9 mm	15
	9-12 mm	20
	12 $\geq$ mm	25
ACC deamilaz Aktivite Testi	Pozitif	20
<i>In-vitro</i> Biyokontrol Etki Testi	0-1 mm	1
	1-3 mm	6
	3-5 mm	12
	5-8 mm	18
	8-10 mm	24
	10 $\geq$ mm	30
HCN Üretimi	Vigorite testinde tekrar değerlendirilmiştir	0

3.2.4 *In-vivo* biyokontrol etkiye yönelik testler

3.2.4.1 *In-vivo*'da tohum çimlenmesine olan etkisinin belirlenmesi

CaSO₄ içeren çift katlı, steril ve nemlendirilmiş kurutma kağıtlardan yapılan rulo içerisinde aday yararlı bakteriler için çimlenme testi yapılmıştır. %1 CMC ile kaplama yoluyla domates tohumlarına bakterizasyonu yapılmıştır. Negatif kontrol olarak sadece CMC çözeltisi ile kaplanmıştır. 24°C'de 7 günlük inkünasyondan sonra radisil ve hipkotik uzunlukları mm cinsinden ölçülüp çimlenme yüzdesi ile çarpılarak vigor indeksi hesaplanmıştır (Gerhardson et al., 1985). 5 tekerrürlü olarak gerçekleştirilen her tekerrürde 10 tohum içeren bu deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılmıştır. İki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2 Yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı *in-vivo* biyokontrol etkisinin belirlenmesi

In-vitro biyokontrol ve pgpr etkisini belirleme testi sonucunda Cmm'ye etkili olan aday yararlı bakteriler domates bitkisinde patojene karşı etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun için, -80 °C ultra derin dondurucu içerisinde stoklanmış halinde bulunan *in-vitro* testler sonucu 100 üzerinden 50 almış olan aday yararlı bakteriler KingB ortamına ekilerek canlandırılmıştır. 48 saat boyunca geliştirilen aday yararlı bakteriler tohumlara bakterizasyon yolu ile inokule edilmiştir. Çalışmada, Cmm'ye hassas bir çeşit olan SC2121 domates tohumu kullanılmıştır. Tohum bakterizasyonu için CMC ile tohum kaplama yöntemi kullanılmıştır. Bunun için yıkanmış ve yüzey dezenfeksiyonu yapılmış domates tohumları 48 saatlik KingB'de gelişen kültüründen %1 CMC'de süspanse edilerek hazırlanmış bakteri süspansiyonu ile 30 dakika süreyle 121 rpm'de çalkalanarak kaplanmıştır. Kaplama işleminden sonra kurutma kağıtları arasında tutulan tohumlar 24 °C'de 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Bakterizasyonu yapılan domates tohumları gözeneklerinde torf materyali içeren viyollere ekilmiştir. 25 °C sıcaklık, %70 nem ve 16:8 fotoperiyota sahip olan iklim odasında bitkiler yetiştirilmiştir. 3 gerçek yaprak dönemine gelen domates fideleri, 10⁸ CFU/ml (OD₆₀₀= 0.1) yoğunluğa sahip Cmm süspansiyonunda kök daldırma yöntemi yoluyla hastalık etmeni inokule edilmiştir. *In vivo* biyokontrol etkinin belirlenmesine yönelik yapılan bu deneme, her

tekerrürde bir bitki olacak şekilde 10 tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. İnokulasyondan sonra 28 °C sıcaklık, %70 nem ve 16:8 fotoperiyota sahip iklim odasında hastalık çıkışı için beklenmiştir. 4 hafta sonra hastalık çıkışı değerlendirilmiştir. Tablo 3.21 ve Şekil 3.5’de yer alan 0-4 skalasına göre hastalık şiddeti değerlendirilmiştir. (Klement et al., 1990). Elde edilen skala değeri Townsend-Heuberger formülü yardımıyla % hastalık şiddetine çevirilmiştir (Townsend, 1943).

$$\text{Townsend Heuberger \% H.Ş.} = \frac{\sum(\text{Skala değeri} \times \text{Skaladaki bitki sayısı})}{(\text{Toplam bitki sayısı} \times \text{En yüksek skala değeri})} \times 100$$

In-vivo Cmm’ye karşı biyokontrol etki testi denemesi iki tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Hastalık baskısı altında bitki gelişimine olan etkisini belirlemek için hastalık şiddeti değerlendirilen bitki materyali kök ve yeşil aksamı önce yaş ağırlıkları digital hassas terazi yardımıyla alınmıştır. Daha sonra 65 °C sıcaklığa sahip etüv içerisinde 72 saat boyunca kuru sıcaklığa tabii tutulmuştur. İçerisinde suyu uzaklaştırılan bitki materyalinin kuru ağırlığı yine aynı digital hassas terazi ile gram cinsinden ağırlıkları ölçülmüştür. Smart and Bingham (1974) belirttiği formüle göre % kuru madde oranı hesaplanmıştır. Daha sonra 10 tekerrürlü her tekerrürde bir bitki içerek şekilde tesadüf parseller deneme desenine göre kurulan bu deneme bir tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5 Yararlı bakterilerin ve Cmm’nin kolonizasyonunun izlenmesi

In-vitro ve *in-vivo* testler sonunda Cmm’ye karşı en başarılı olan iki bakteri seçilmiştir. Bu yararlı bakterilerden bir tanesi antibiyotik olan 200 ppm dozdaki rifamycine karşı dayanıklı kılınarak etiketlenmiştir. Diğer bakteri ise başka bir antibiyotik olan 200 ppm dozdaki streptomycine karşı dayanıklı kılınarak etkilenmiştir. Cmm’nin kolonizasyon takibinde ise tablo 3.14’de yer alan SCM ortamı kullanılmıştır (Fatmi et al., 2017). Antibiyotik ile etiketlenmiş yararlı bakteriler, dayanıklı kılındıkları antibiyotiklerin 200 ppm dozunda hazırlanmış King B ortamına ekilmiştir. Daha sonra gelişen kültürler, tohumlara bakterizasyon yolu ile inokule edilmiştir. Tohum bakterizasyonu için CMC ile

kaplama yöntemi kullanılmıştır. Daha sonra torf materyali içeren saksıların içerisinde tohumlar ekilmiştir. Yararlı bakterilerin ve Cmm'nin kolonizasyonu testlerinin yapılan uygulamalar Tablo 3.26'da belirtilmiştir.

Tablo 3.26. Yararlı bakteriler (YB) ve Cmm'nin kolonizasyon takibi için yapılan uygulamalar

Uygulama	Açıklama
1.	YB ₁ uygulanmış bitkiler
2.	YB ₂ uygulanmış bitkiler
3.	YB ₁ + YB ₂ uygulanmış bitkiler
4.	YB ₁ + Cmm uygulanmış bitkiler
5.	YB ₂ + Cmm uygulanmış bitkiler
6.	YB ₁ + YB ₂ + Cmm uygulanmış bitkiler
7.	Cmm uygulanmış bitkiler
8.	Kontrol

Bakterilerin kolonizasyonun incelenmesi Tablo 3.27'de belirtilen 8 farklı örnekleme döneminde gerçekleştirilmiştir. İlk beş dönemde sadece yararlı bakterilerin kolonizasyonun takibi gerçekleştirilmiştir. Sonraki kalan 3 dönemde ise hem Cmm hem de yararlı bakterilerin kolonizasyon takibi şeklinde yapılmıştır.

Tablo 3.27. Yararlı bakterilerin ve Cmm'nin kolonizasyonunu takip etmek için uygulanan bitki örnek alındıkları dönemler

Dönem	Açıklama
1.	Tohum bakterizasyonu yapıldıktan sonra YB kolonizasyonunun incelenmesi
2.	Kotiledon yapraklı dönemde alınan bitkilerde YB kolonizasyonun incelenmesi
3.	1. gerçek yapraklı dönemde alınan bitkilerde YB kolonizasyonun incelenmesi
4.	2. gerçek yapraklı dönemde alınan bitkilerde YB kolonizasyonun incelenmesi
5.	3. gerçek yapraklı dönemde alınan bitkilerde YB kolonizasyonun incelenmesi
6.	Cmm inokulasyonun 1 hafta sonra alınan bitkilerde YB ve Cmm kolonizasyonun incelenmesi
7.	Cmm inokulasyonun 2 hafta saat sonra alınan bitkilerde YB ve Cmm kolonizasyonun incelenmesi
8.	Cmm inokulasyonun 3 hafta saat sonra alınan bitkilerde YB ve Cmm kolonizasyonun incelenmesi

Domates bitkilerinde yararlı bakterilerin kolonizasyonunu izlemek için örneklenen bitkiler kökleri temizlenerek topraktan arındırdıktan sonra digital hassas terazi yardımıyla ağırlıkları alınmıştır. Daha sonra bitkiler önce %1'lik NaOCI'den geçirilerek dezenfekte edilmiştir. Daha sonra bitki örnekleri steril polietilen torbalara konularak stomaker yardımıyla ezilmiştir. Bitki dokularına ağırlıklarının 10 katı kadar steril su konulmuş ve homojenize edilmiştir. Elde edilen bitki dokusuna ait süspansiyon 9 basamaklı seyretme basamakları oluşturularak 200 ppm rifamycin içeren KingB, 200 ppm streptomycin içeren KingB ve SCM ortamlarına 10 µl damla ekim yoluyla ekilmiştir. Bu çalışma 3 tekerrürlü olarak her tekerrürde bir bitki olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur.

3.2.6 Sera koşullarında yararlı bakterilerin biyokontrol ve verime olan etkisinin belirlenmesi

Yararlı bakteriler tohum bakterizasyonu şeklinde bitkiye uygulanmıştır. Bitkiler 3 gerçek yapraklı döneme geldikleri zaman kök daldırma şeklinde Cmm izolatı uygulanmıştır. Hastalık inokulasyonu yapıldıktan sonra bitkiler 3 hafta hastalık optimum koşulları olan 28°C sıcakta 16:8 ışık periyotuna sahip iklim kabinlerinde bekletilmiştir. İlk hastalık çıkışının oluşacağı sırada bitkiler serada perlit dolu saksılara dikilmiştir. Sera denemelerinde yararlı bakteri uygulamaları tablo 3.28'deki gibi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.28. Sera koşullarında yürütülen çalışmalardaki uygulamalar

Uygulama	Kısaltma	Açıklama
1	YB ₁	1. Yararlı bakteri uygulaması
2	YB ₂	2. Yararlı bakteri uygulaması
3	YB ₁ + YB ₂	1 ve 2. Yararlı bakterinin kombinasyonun uygulaması
4	YB ₁ + Cmm	1. Yararlı bakterinin hastalık ile uygulaması
5	YB ₂ + Cmm	1. Yararlı bakterinin hastalık ile uygulaması
6	YB ₁ + YB ₂ + Cmm	1 ve 2. Yararlı bakterinin kombinasyonun hastalık ile uygulaması
7	K +	Sadece patojen etmen uygulanması
8	K-	Hiçbir uygulama yok

Sera denemeleri 3 tekrarlı olarak kurulmuştur. Birinci deneme 06.11.2020 tarihinde plastik örtülü serada kurulmuştur. İkinci deneme 17.07.2021 tarihinde plastik serada, üçüncü deneme ise 17.07.2021 tarihinde cam serada kurulmuştur. Birinci ve ikinci denemede 7.5 lt hacme sahip saksılar kullanılmıştır. Üçüncü deneme ise 16 lt'lik saksılarıda kurulmuştur. Üç deneme de tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak ve tekerrür başına bir bitki içerecek şekilde kurulmuştur. Tesadüf blokları deneme deseninde sıralama için R istatistiksel yazılım dilinde yer alan “agricolae” kütüphanesinden yararlanılmıştır. Wichmann-Hill methodu kullanılarak bootstrap değeri 986 olarak belirlenerek bloklar oluşturulmuştur (Şekil 3.11).

BLOK 1	BLOK 2	BLOK 3	BLOK 4
YB ₁ +Cmm	YB ₂	YB ₁ +YB ₂	YB ₂ +Cmm
K-	YB ₁ +YB ₂ +Cmm	YB ₁ +YB ₂ +Cmm	YB ₂
YB ₁	YB ₁	YB ₂ +Cmm	K+
YB ₁ +YB ₂ +Cmm	K+	K+	YB ₁ +YB ₂
YB ₁ +YB ₂	YB ₁ +YB ₂	YB ₁ +Cmm	YB ₁
YB ₂ +Cmm	YB ₁ +Cmm	YB ₁	YB ₁ +Cmm
YB ₂	K-	YB ₂	K-
K+	YB ₂ +Cmm	K-	YB ₁ +YB ₂ +Cmm

Şekil 3.11. Serada gerçekleştirilen denemelerin planı.

Bitkilere dikimden itibaren tablo 3.15’de verilen besin çözeltisi uygulanmıştır (Gül, 2019). Fertigasyon programı ilk 3 hafta 09:00,13:00 ve 17:00 saatlerinde 3 kez 4’er dakikalık sulama şeklinde gerçekleştirilmiştir. 3. haftadan sonra 09:00,13:00,17:00 ve 21.00’de 4’er dakika fertigasyon uygulanmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Topraksız tarım sistemlerinin genel görünüşleri a)1. deneme b) 2. Deneme c) 3. Deneme.

3.2.6.1 Sera koşullarında yararlı bakterilerin biyokontrol etkisinin belirlenmesi

Domates bitkilerine Cmm uygulamasından sonra ilk hastalık çıkışı meydana gelmesiyle itibaren hastalık şiddeti yönünden şekil 3.4 ve tablo 3.21’de bahsedilen şekilde 0-4 skalası ile değerlendirilmeye başlanmıştır. Bu takiben 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 56., 63., 70., 77. ve 84. günlerde düzenli olarak 12 hafta boyunca hastalık şiddeti takip edilmiştir. Elde edilen skala değerleri Townsend-Heurberger formülü yardımıyla % hastalık şiddetine dönüştürülmüştür.

3.2.6.2 Sera koşullarında yararlı bakterilerin verime olan etkisinin belirlenmesi

12 hafta sonunda biyokontrol etki yönünden değerlendirmesi biten domates bitkilerinin üzerindeki meyveler toplanmıştır. Meyve sayısı ve (adet/bitki), meyve ağırlığı (g/bitki) ile, meyvelerin en ve boy ölçümleri (mm) ölçülmüştür. Meyve ağırlığı, en ve boyu birim meyve üzerinden değerlendirilmiştir (Şekil 3.13).



Şekil 3.13. SC2121 çeşidi domates bitkisine ait meyvelerin hasat sonrası değerlendirilmesi.

3.2.7 Çalışma sonunda elde edilen yararlı bakterilerin moleküler tanısı

In-vitro ve *in-vivo* testler sonucunda başarılı bulunmuş yararlı bakteriler, bakterilere özgü bir barkodlama bölgesi olan 16S rRNA bölgesi çoğaltılarak 11 F /1492 R primer çifti kullanılmıştır (Tablo 3.17) (Kane et al., 1993). Bu primerler Tablo 3.29’da yer alan PCR şartlarında gerçekleştirilmiştir (Akbaba and Ozaktan, 2018).

Tablo 3.29. Çalışmada kullanılan 27F/1492R primer çiftinin PCR şartları.

PCR Master Mix Kimyasalları	Final Konsantrasyon	Örnek için Miktar(1X)	PCR sıcaklık döngüsü		
ddH ₂ O	-	8 µl	Sıcaklık	Zaman	Döngü
Taq KCl Buffer(10x)	1X	2 µl	95°C	3 dk	1
MgCl ₂ (25 mM)	1,5 mM	1,2 µl	94 °C	1 dk	35
dNTP (25 Mm)	0,2 mM	1,6 µl			
27F (10 mM)	1 mM	2 µl	52 °C	1 dk	
1492R (10 mM)	1 mM	2 µl			
Taq Polimeraz (5U/µl)	1 U	0,2 µl	72 °C	2 dk	
Örnek DNA	50 ng	3 µl			
Toplam		20 µl	72 °C		1

PCR reaksiyonunun ardından, PCR ürünleri % 1,5’lik agaroz jelde, 80 V’ta 60 dakika yürütülmüştür. 100 bp DNA ladder kullanılarak, 1428 bp ortaya çıkan bantlar UV ışık altında görüntülenmiştir. Daha sonra PCR ürünleri sekans analizine

gönderilmiştir. Elde edilen sekanslar NCBI Blast yapılarak moleküler tanısı yapılmıştır. (Johnson et al., 2008)

3.2.8 Elde edilen verilerin analizi

Tez çalışmasında elde edilen veriler R istatistik programlama dilinin 4.1.2 sürümü kullanılarak yapılmıştır. Bütünleşik geliştirme ortamı olarak RStudio kullanılmıştır (Allaire, 2012).

Genetik varyasyon için yapılan çalışmada, REP-PCR'a ait ERIC ve BOX elementlerine ait jel görüntüleri GelAnalyzer 2010a version yazılımı kullanılarak jel bantları 0-1 matriksi olarak skorlanmıştır (Lazar and Lazar, 2010). Elde edilen veriler R içerisinde “Factominer” ve “Factoextra” kütüphaneleri kullanılarak Hiarchical Clustering (HC), Hiarchical Clustering on Principal Component (HCPC) ve HeatMap analizleri yapılmıştır (Lê et al., 2008; Kassambara and Mundt, 2017). Diskriminasyon modeli olarak “Jaccard” ve kümeleme modeli olarak UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) kullanılmıştır.

Denemelerden elde edilen verilerin değerlendirilmesi için R içerisinde yer alan “stat” ve agricolae” kütüphaneleri kullanılarak tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) ve karakterler arası ortalamaların istatistiksel olarak karşılaştırılması için %95 güven ile çoklu aralık testi DUNCAN kullanılmıştır. (De Mendiburu, 2014).

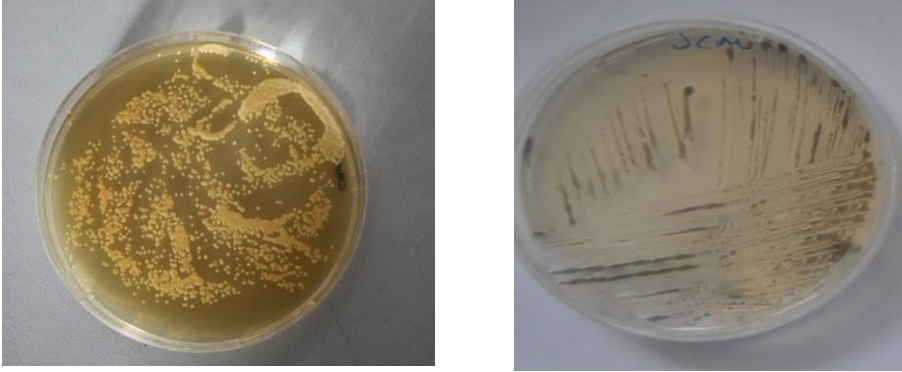
4. BULGULAR

4.1 Çalışmada Kullanılan Patojen bakterilerin Tanısı ve Genetik Varyasyonuna İlişkin Bulgular

E.Ü.Z.F Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında yer alan ve Tablo 3.1’de bahsedilen Cmm ön tanıli izolatların tanısında rol oynayan koloni morfolojisini, topolojisini ve bazı fizyolojik-biyokimyasal özelliklerini belirlemeye yönelik testler uygulanmıştır.

4.1.1 Koloni morfolojisine yönelik bulgular

Tez çalışmasında kullanılan patojen izolatların tümü KingB ve SCM besiyerine ekilmiştir. Cmm ön tanıli izolatların hepsi KingB besi yerinde 48-72 saat arasında gelişme göstermiştir. Mukoid olmayan sarı renkli düz topolojiye sahip bir koloni yapısı oluşturmuşlardır (Şekil 4.1). Cmm’ye yönelik semiselektive bir besiyer olan SCM’de ise koloni koyu gri çevresi daha açık renkte hale olan mukoid olmayan düz topolojiye sahip koloniler meydana gelmiştir.



Şekil 4.1. İzolatlarının kolonisine ait genel bir görüntü a)KingB ait görüntü b) SCM’ye ait görüntü

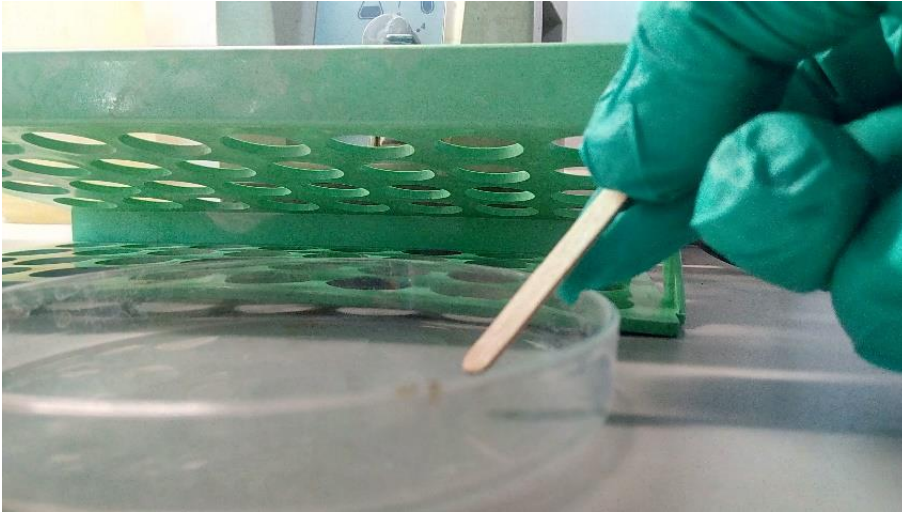
4.1.2 Fizyolojik ve biyokimyasal testlere ait bulgular

Çalışmada kullanılan izolatların bazı fizyolojik ve biyokimyasal testlerine ait sonuçları Tablo 4.1’de belirtilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışmada kullanılan patojen izolatların fizyolojik ve biyokimyasal testlerinin sonuçları.

Testler	15	16	22	23	166	181	210	224	227	360	Referans	
KOH testi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Chalupowicz et al., 2012
Florasan testi	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anonymus, 2015
Levan oluşumu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Chalupowicz et al., 2012
Oksidaz testi	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Chalupowicz et al., 2012
Pektolitik akt.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anonymus, 2015
Arjinin dehid.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anonymus, 2015
Tütünde HR	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Anonymus, 2015
Gelatin hidrolizi	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V	Burokiené et al., 2005
Aesculin hid.	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	Chalupowicz et al., 2012
Nişasta hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Chalupowicz et al., 2012
Karbon Kaynaklarından Yararlanma												
Arabinose	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	V	Kolomiets et al., 2017
Cellobiose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Burokiené et al., 2005
Eritritol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Labadie and Hébraud, 1997
Glysine	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Chalupowicz et al., 2012
Inositol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Yasuhara-Bell, 2014
Mannitol	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		Chalupowicz et al., 2012
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Chalupowicz et al., 2012
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Yasuhara-Bell, 2014
*V: Türe göre varyasyon gösteren												

Tablo 4.2’de verilen sonuçlar doğrultusunda bütün izolatlar KOH testinde negatif sonuç vererek gram + olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2). Aynı şekilde 366 nm dalga boyuna sahip UV ışık altında ışıma meydana getirmemiş olup florasan pigmente sahip olmadıkları görülmüştür (Şekil 4.3). Levan oluşu testinde bütün patojen izolatlar SNA ortamında kubbemsi bir koloni oluşturmamıştır ve levan oluşum testinin negatif olduğu görülmüştür (Şekil 4.4). Oksidaz testinde 15 no’lu izolat dışındaki diğer bütün izolatlarda mavimsi mürekkep rengi oluşmamış olup bu testi negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.5) Pektolitik aktivite testi sonucu ise bütün izolatlarda patatestte pektin yıkımı gözlenmemiştir ve pektolitik aktivite testi negatif olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.6). Arjinin dehidrolaz testinde patojen izolatların hiçbirinde renk değişimi meydana gelmemiş olup arjinin dehidrolaz testi negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.7). Tütünde hipersensitive reaksiyon testinde ise bütün patojen izolatlar tütün yaprağında nekrotik parçalanma meydana getirmiştir ve bu test pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.8). Gelatin hidrolizi testinde ise 15 no’lu izolat gelatin hidrolizi meydana gelmiş ve test pozitif olduğu görülmüştür. Diğer izolatlarda ise gelatin hidrolizi meydana gelmemiş olup test negatif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.9). Aesculin hidrolizi testinde ise 15 no’lu izolat pozitif sonuç vermiş olup diğer izolatlar negatif sonuç vermişlerdir (Şekil 4.10). Nişasta hidrolozi testinde bütün izolatlar nişasta hidrolize etmiştir ve testin sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.11).



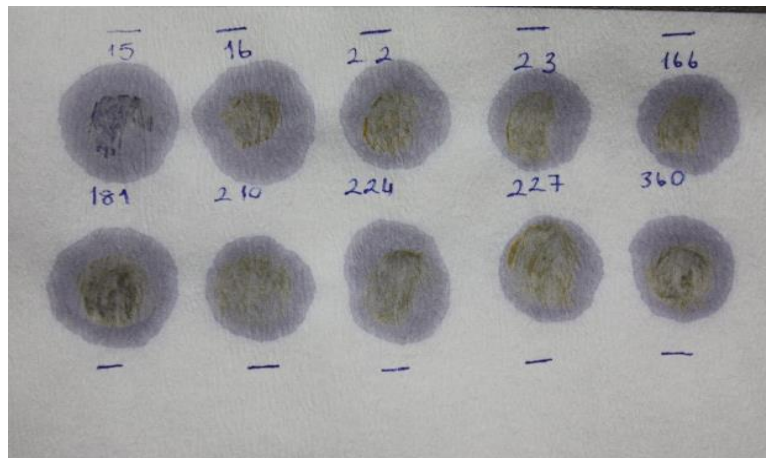
Şekil 4.2. SNA ortamında izolatların oluşturduğu görüntü



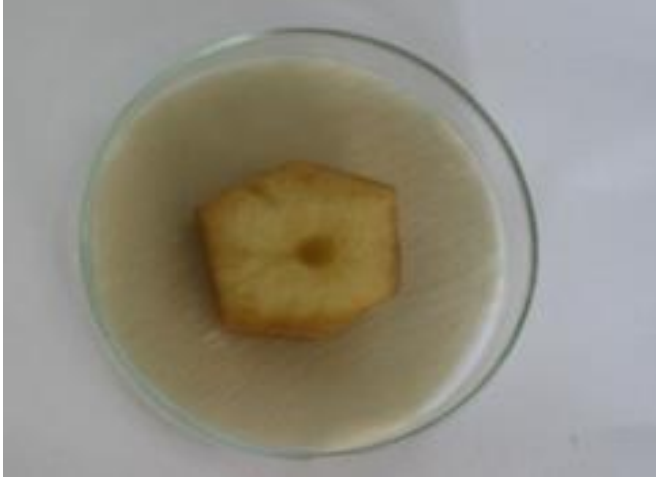
Şekil 4.3. 366 nm dalga boyuna sahip uv ışık altında izolatların görünümü



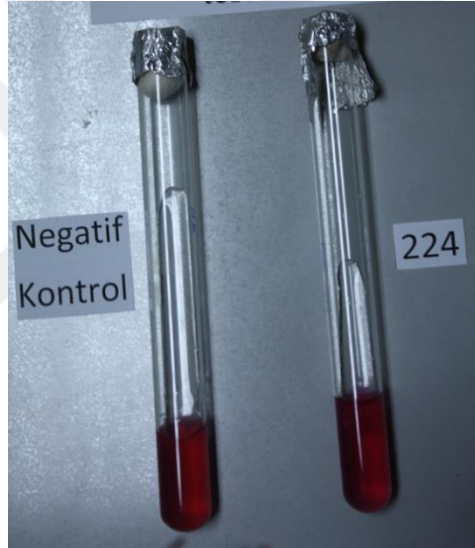
Şekil 4.4.SNA ortamında izolatların oluşturduğu görüntü



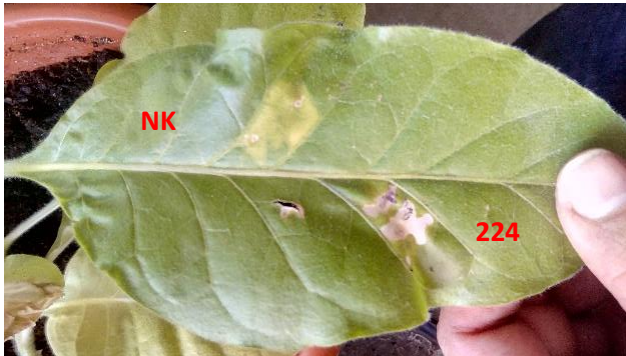
Şekil 4.5. Oksidaz testi sonucunda izolatların verdikleri reaksiyon.



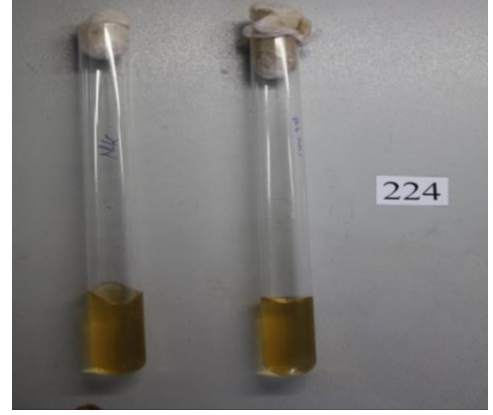
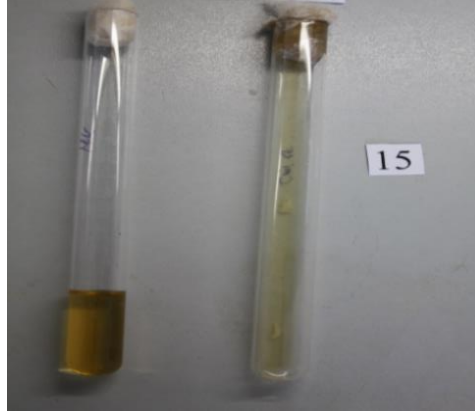
Şekil 4.6. Pektolitik aktivite testinde izolatların patatestе oluşturduğu görünüm.



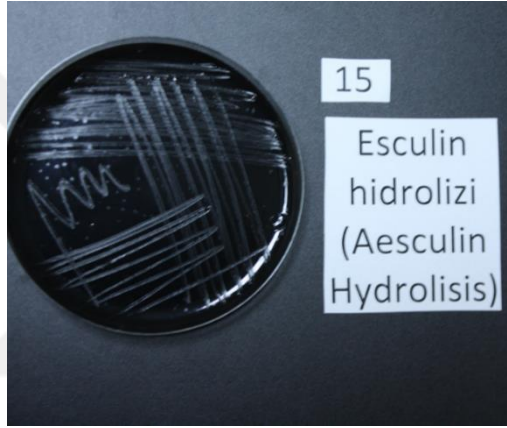
Şekil 4.7. Arjinine dehidrolaz testinde izolatların oluşturdukları görüntü.



Şekil 4.8. Tütünde HR testinde, izolatların tütün bitkisinde oluşturdukları görünüm.



Şekil 4.9. Gelatin hidrolizi testinde izolatların verdikleri reaksiyon a) Pozitif sonuç veren 15 no'lu izolat b) negatif veren izolatlara temsilen 224 no'lu izolat.

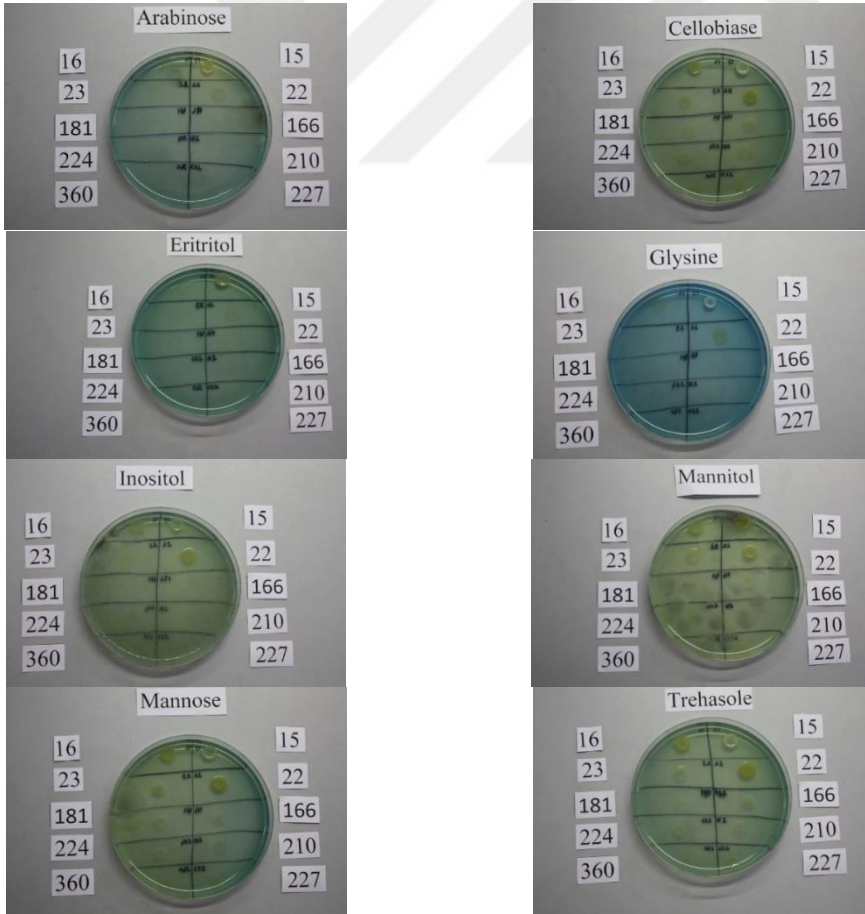


Şekil 4.10. Aesculin hidrolizi testinde izolatların verdikleri reaksiyon a) Pozitif sonuç veren 15 no'lu izolat b) negatif veren izolatlara temsilen 224 no'lu izolat.



Şekil 4.11. Nişasta hidrolizi testinde izolatların verdikleri reaksiyona ait görünüm.

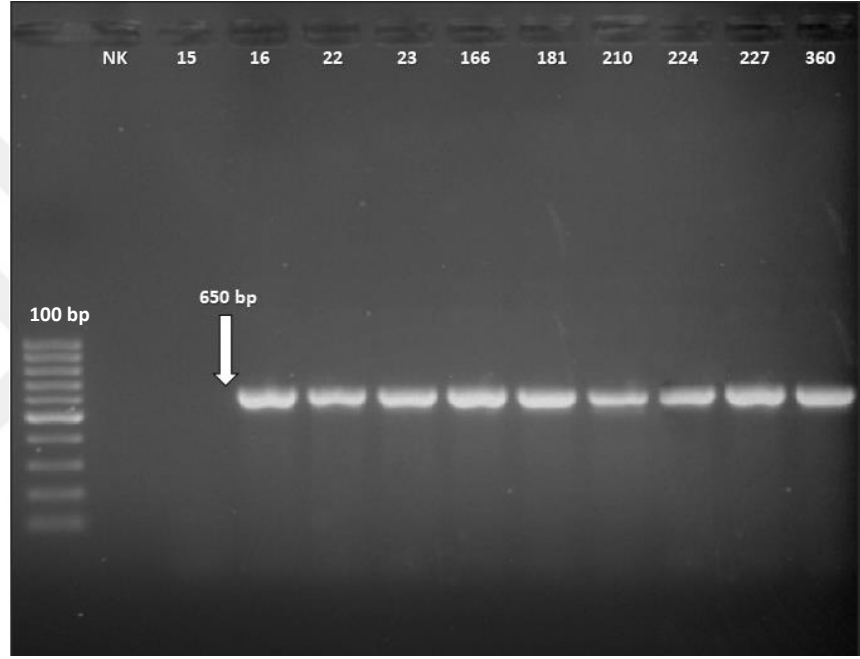
Çalışmada kullanılan patojen izolatların karbon kaynakları kullanımını değerlendirdiğimizde; Arabinose kullanımı konusunda 15, 16 ve 22 no'lu patojen izolatlar bu karbon kaynağından yararlanabilmiş olup diğer izolatlar yararlanamamıştır. Cellobiose kullanımı konusunda, bu çalışmadaki bütün izolatlar bu karbon kaynağından yararlanmıştır. Eritritol kullanımı konusunda, sadece 15 no'lu izolat bu karbon kaynağını kullanabilmiş olup diğer izolatlar yararlanamamışlardır. Glycine kullanımı konusunda, 15, 16 ve 22 no'lu izolatlar bu karbon kaynağından yararlanmış olup diğerleri faydalanamamıştır. İnositol kullanımı konusunda, bütün izolatlar bu karbon kaynağından yararlanabilmişlerdir. Mannitol kullanımı konusunda, 15, 16, 22 ve 23 no'lu izolat bu karbon kaynağından yararlanabilmiş olup diğer izolatlar kullanamamışlardır. Mannose kullanımı konusunda, bütün izolatlar bu karbon kaynağından yararlanabilmişlerdir. Aynı şekilde trehalose kullanımı konusunda da, çalışmada kullanılan bütün izolatlar bu karbon kaynağını kullanabilmiştir. (Şekil 4.10).



Şekil 4.12. Çalışmada kullanılan izolatların karbon kaynaklarından yararlanma testine ait görüntüler.

4.1.3 Moleküler tanılama testine yönelik bulgular

Tez çalışmasında yer alan domatestte solgunluk ve kanser hastalığı etmeni olan Cmm ait düşünülen izolatlar ve kontrol olarak kullanılan *Cmi* izolatı tanılamak için Cmm-5/Cmm-6 primerleri (Tablo 3.16) ile Tablo 3.22’de belirtilen şartlatda klasik PCR yapılmıştır. Cmm’ye spesifik olaran bu primer çifti ile yapılan PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen bandlara ait jel görüntüsü şekil 4.13’de görülmektedir.



Şekil 4.13. Çalışmada kullanılan Cmm izolatlarının tanılanması için Cmm-5/Cmm-6 primer çifti kullanılarak yapılan klasik PCR’a ait jel görüntüsü.

Yapılan PCR reaksiyonunda negatif kontrol olarak örnek DNA yerine ddH₂O içeren mastermix kullanılmıştır. Karşılaştırma yapmak için *Cmi* olan 15 no’lu izolat kullanılmıştır. Sonuç olarak negatif kontrol ve 15 no’lu izolatta band gözlenmemiş olup diğer izolatlarda 650 bp’de bant oluşturduğu görülmüştür. Band oluşturan izolatların Cmm olduğu saptanmıştır.

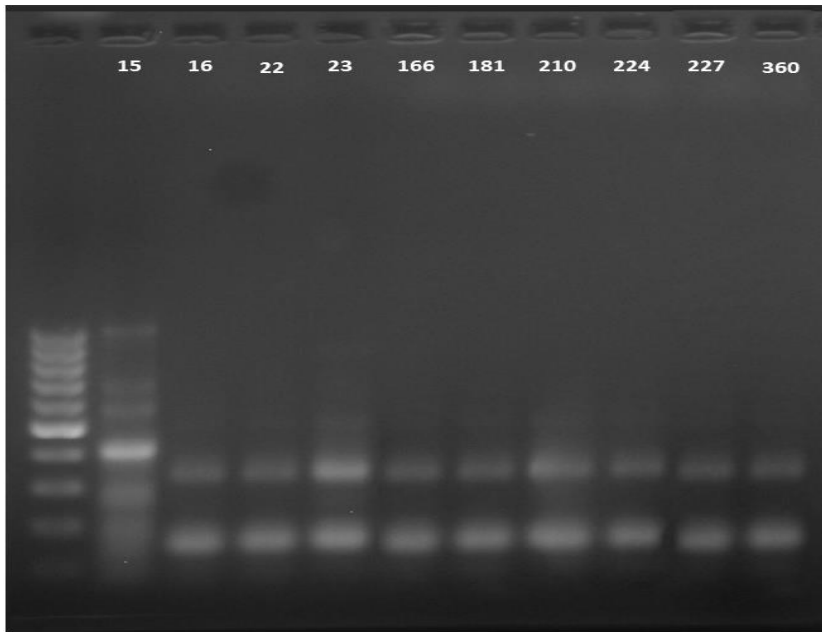
4.1.4 Genetik varyasyonun belirlenmesine yönelik bulgular

Çalışmada kullanılan patojen izolatların genetik varyasyonunu belirlemek için REP-PCR yapılmıştır. Bu amaç ile REP-PCR’a ait ERIC ve BOX elementleri

kullanılmış olup REP elementi *Clavibacteri* cinsine ait bakterilerde amplikasyonu yapamadığı için bu çalışmada yer verilmemiştir.

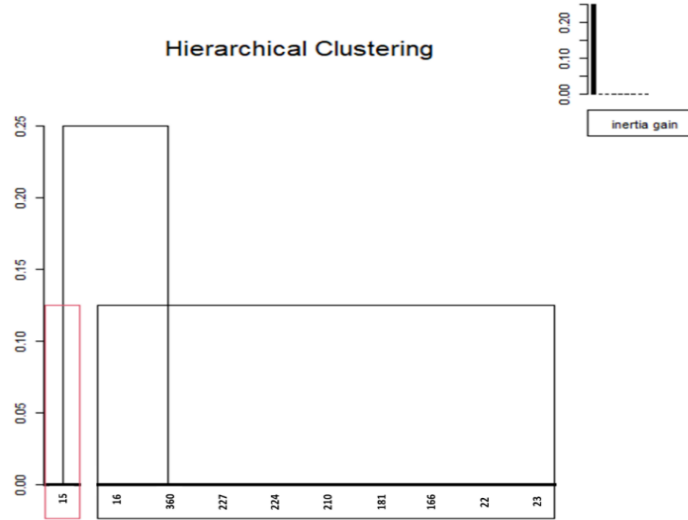
4.1.4.1 REP-PCR’ın ERIC elementi ile yapılan genetik varyasyona tespitiye yönelik bulgular

Çalışmada patojen izolatlaraya yönelik yapılan REP-PCR’ın ERIC elementine (Tablo 3.19) ait PCR şartları tablo 3.24’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiş. PCR reaksiyonu sonucunda meydana gelen jel görüntüsü Şekil 4.14’de verilmiştir.



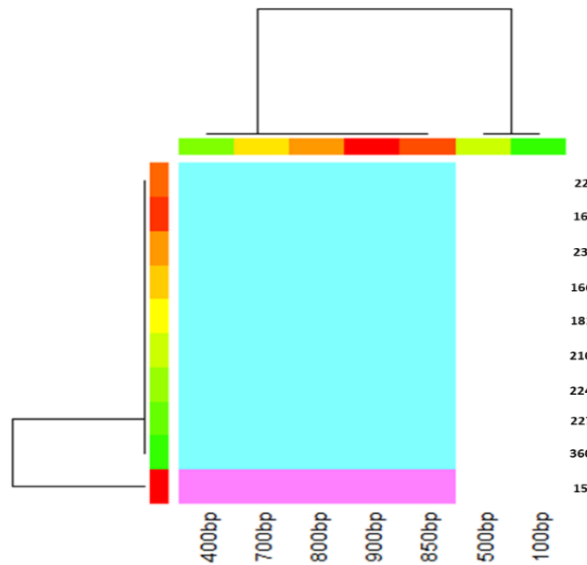
Şekil 4.14. REP PCR’ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının jel görüntüsü (M: 100bp marker DNA, 15: Cmi, diğer izolatlar Cmm).

Elde edilen jel görüntüsü GelAnalyzer yazılımı yardımıyla skorlanarak 0-1 matrisine çevrilmiştir. Daha sonra elde edilen veriler R yazılım dilinin içerisinde yer alan “FactoMiner” ve “Factoextra” kütüphaneler ile Hiarchical Clustering (HC) ve HeatMap analizleri yapılmıştır. Bu analize ait bulgular şekil 4.15 ve şekil 4.16’de görülmektedir.



Şekil 4.15. REP PCR’ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının hierarchical cluster sonuçları.

Diskriminasyon modeli olarak “Euclidean” ve kümeleme modeli olarak UPGMA kullanılarak oluşturulan kümeleme analizinde izolatlar iki farklı kümeye ayrılmıştır: *Cmi* olarak düşünülen 15 no’lu izolat bir grup oluşturur iken 16, 22, 23, 166, 181, 210, 224, 227 ve 360 no’lu Cmm olarak tanılanmış olan izolatlar ayrı bir grup oluşturmuştur. İki grup arasında benzerlik oranı %75’in altında olduğu görülmüştür.

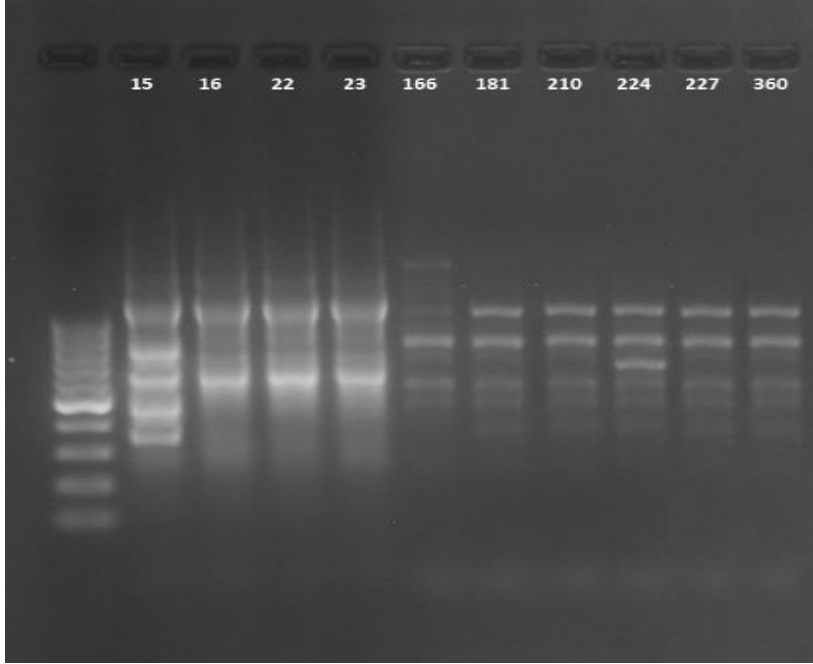


Şekil 4.16 . REP PCR’ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının heatmap analizi sonuçları.

REP-PCR'in eric elementine sonuçlarına yönelik izolatlar ve oluşturdıkları bandların deseni heatmap analizi ile karşılaştırılmıştır. İzolatlarda 100 bp, 400 bp, 500 bp, 700 bp, 800 bp, 850 bp ve 900 bp de band oluşumu meydana gelmiştir. Çalışmaların izolatların hepsi 100 bp ve 500 bp aralıklarında band deseninin formasyonunda benzerlik olduğu tespit edilmiştir. 400 bp, 700 bp, 800 bp, 850 bp ve 900 bp band aralığındaki band formasyonunda 15 no'lu *Cmi* olduğu düşünülen izolat diğer izolatlardan farklılık göstermiştir. Cmm olduğu tespit edilen izolatlar bu band aralıklarında da aynı formasyona sahip olduğu görülmüştür.

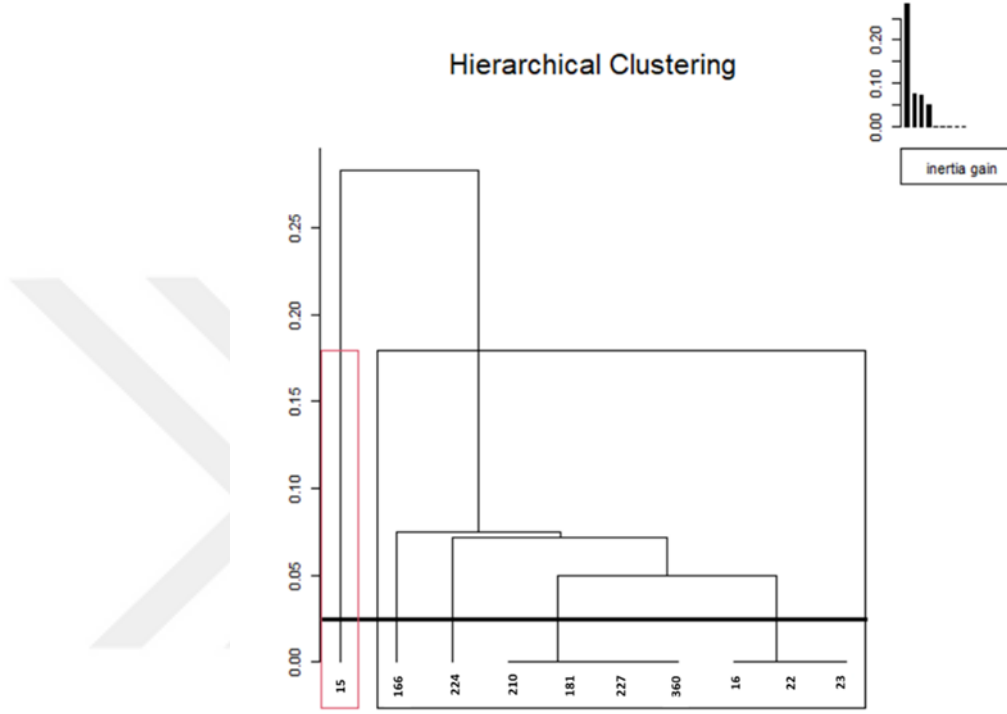
4.1.4.2 REP-PCR'in BOX elementi ile yapılan genetik varyasyon tespitine yönelik bulgular

Çalışmada patojen Cmm izolatlarına yönelik yapılan REP-PCR'in BOX elementine (Tablo 3.18) ait PCR şartları tablo 3.23'de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiş olup meydana gelen jel görüntüsü Şekil 4.17'de verilmiştir.



Şekil 4.17. REP PCR'in BOX elementine ait Cmm izolatlarının jel görüntüsü (M: 100bp marker DNA, 15: Cmi, diğer izolatlar Cmm).

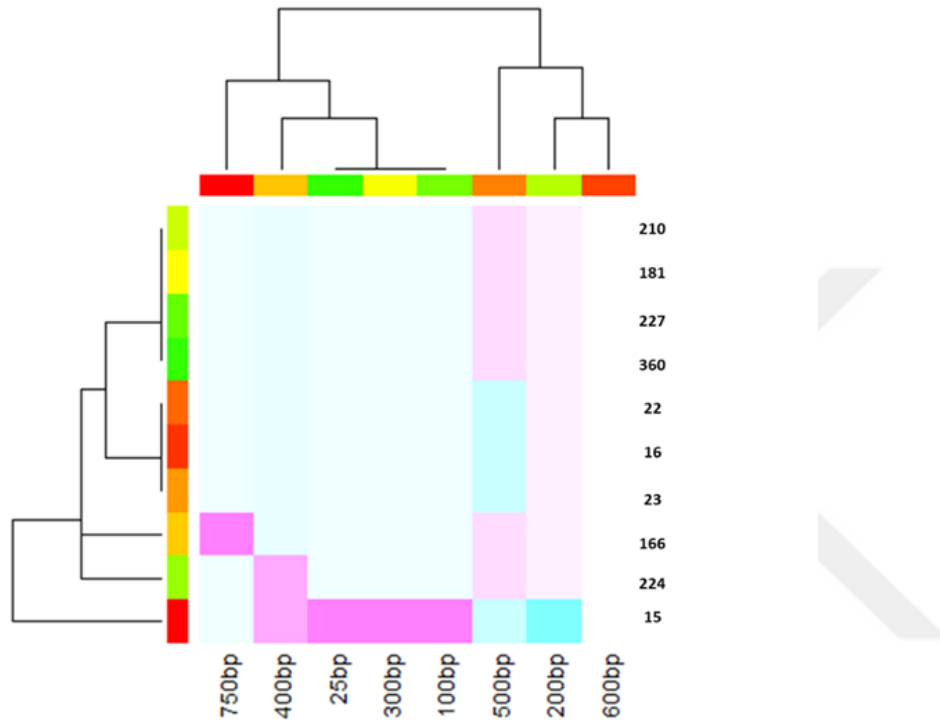
Elde edilen jel görüntüsü GelAnalyzer yazılımı yardımıyla skorlanmış ve 0-1 matrisine çevrilmiştir. Daha sonra elde edilen veriler R yazılım dilinin içerisinde yer alan “FactoMiner” ve “Factoextra” kütüphaneler ile Hiarchical Clustering (HC) ve HeatMap analizleri yapılmıştır. Bu analize ait bulgular şekil 4.18 ve şekil 4.19’da görülmektedir.



Şekil 4.18. REP PCR’ın ERIC elementine ait Cmm izolatlarının hierarchical cluster sonuçları.

Diskriminasyon modeli olarak “Euclidean” ve kümeleme modeli olarak UPGMA kullanılarak oluşturulan kümeleme analizinde. İzolatlar iki farklı ana kümeye ayrılmıştır. *Cmi* olarak düşünülen 15 no’lu izolat bir grup oluşturur iken 16, 22, 23, 166, 181, 210, 224, 227 ve 360 no’lu Cmm olarak tanılanmış olan izolatlar ayrı bir grup oluşturmuştur. Bu iki grup arasındaki izolatlarda benzerlik oranı % 75’in altında olduğu görülmüştür. ERIC elementinden farklı olarak BOX elementinde Cmm izolatları arasında farklılık olduğu görülmüştür. 2. 3.ve 4. dereceden alt kümelere ayrıldığı görülmektedir. İkinci dereceden kümede birinci grupta 166 yer almakta olup ikinci grupta 16, 22, 23, 181, 224, 227 ve 360’olu izolatlar yer almaktadır. Bu iki grup arasındaki izolatların benzerlik oranı %92 olduğu görülmüştür. Üçüncü dereceden kümeye geldiğimizde iki farklı grup oluşmakta olup birinci birinci grupta 224 no’lu izolat yer almakta olup ikinci grupta

16, 22, 23, 181, 227 ve 360'nolu izolatlar yer almaktadır. Bu iki grup arasındaki izolatların benzerlik oranı %93 olduğu görülmüştür. Dördüncü derece kümeye geldiğimizde yine iki farklı grup yer aldığı görülmektedir. Birinci grupta 181, 210, 227 ve 360 no'lu izolatlar yer alırken ikinci grupta 16, 22 ve 23 no'lu izolatlar yer almaktadır. Bu iki grup arasındaki benzerlik oranı % 95 olduğu görülmüştür.



Şekil 4.19. REP PCR'ın BOX elementine ait iCmm zolatlarının Heatmap analizi sonuçları.

REP-PCR'ın BOX elementi sonuçlarına yönelik izolatlar ve oluşturdukları bandların deseni heatmap analizi ile karşılaştırılmıştır. İzolatlarda 25 bp, 100 bp, 200 bp, 300 bp, 400 bp, 500 bp, 600 bp ve 750 bp de band oluşumu meydana gelmiştir. Çalışmalarda izolatların hepsi 600 bp aralıklarında band deseninin formasyonunda benzerlik olduğu tespit edilmiştir. Diğer band aralıklarında izolata göre farklılıklar gözlemlenmiştir.

4.1.5 Patojen izolatların patojenisite testine yönelik bulgular

Kesin tanısı yapılmış ve genetik varyasyonu belirlenmiş olan patojen Cmm izolatlarının virulensliğini belirlenmek için domates bitkisi üzerinde patojenisite

testi yapılmıştır. En virulent Cmm izolatu belirlendikten sonra, tohum bakterizasyonu yöntemini belirlemek için tohum inokulasyonu yoluyla patojenisite testi yapılmıştır.

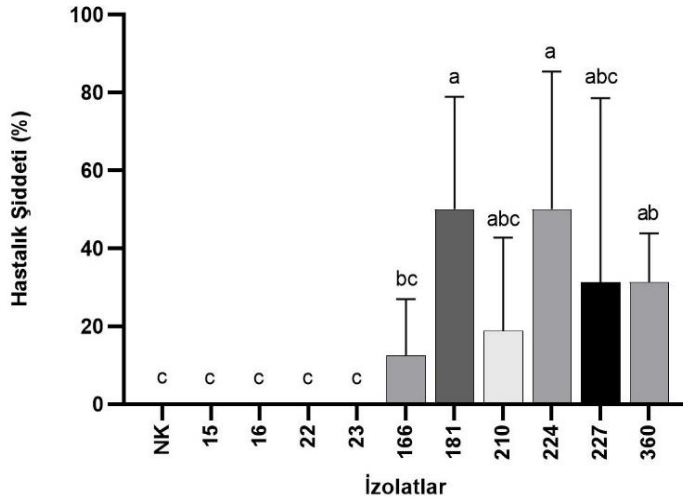
4.1.5.1 Domates bitkisinde yapılan patojenisite testine yönelik bulgular

İklim odası koşullarında 3 gerçek yapraklı döneme gelmiş domates bitkilerine kök daldırma yoluyla patojen inokulasyonu yapılmıştır. 4 hafta sonunda bitkilerde hastalık şiddeti 0-4 skalası yardımıyla değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara ait tek yönlü varyans analizi sonuçları Tablo 4.2’de, patojenisite testinin karşılaştırılmasına ait Duncan çoklu aralık testine ait sonuçlar Tablo 4.2’de ve Şekil 4.20’de görülmektedir.

Tablo 4.2. Patojenisite testine yönelik yapılan tek yönlü varyans analizi tablosu

	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlar	10	17017	1701.70	3.5235	0.002984 **
Hata	33	15938	482.95		
Önemlilik dereceleri: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1					

Tablo 4.2’de yer alan tek yönlü varyans analiz sonuçlarına göre çalışmada kullanılan patojen izolatlarının %hastalık şiddetleri sonuçları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli görülmüştür (Sig=0.001).



Şekil 4.20. Cmm izolatlarının patojenisite testine yönelik yapılan çoklu aralık testine ait sonuçlar.

Tablo 4.3. Cmm izolatlarının patojenisite testine yönelik yapılan çoklu aralık testine ait sonuçlar.

İzolatlar	Ortalama Hastalık Şiddeti (%)
224	50.00 ± 35.35 a
181	50.00 ± 28.86 a
360	37.50 ± 14.43 ab
227	31.25 ± 47.32 abc
210	18.75 ± 23.93 abc
166	12.50 ± 14.43 bc
15	0.00 ± 0.00 c
16	0.00 ± 0.00 c
22	0.00 ± 0.00 c
23	0.00 ± 0.00 c
NK	0.00 ± 0.00 c

*Duncan çoklu aralık testinde aynı half değerini alan ortalamalar arasındaki fark %95 güvenle istatistiksel açıdan önemsizdir

%95 güven ile yapılan duncan çok aralık testi sonucunda göre en yüksek % hastalık şiddeti 50.00 ± 35.35 ve 50.00 ± 28.86 ile sırasıyla 224 ve 181 no'lu izolatlarda meydana gelmiştir. Bu iki izolatın % hastalık şiddeti arasındaki istatistiksel açıdan önemsiz görülmüştür. Daha sonra % hastalık şiddeti 37.50 ± 14.43 olan 360 no'lu izolat gelmektedir. Bu izolatın, 181 ve 224 no'lu hastalık şiddeti arasında fark önemlilik istatistiksel açıdan düşük düzeyde önemli görülmüştür. 227 ve 210 no'lu izolatların % hastalık şiddetlerinin sırasıyla 18.75 ± 23.93 ve 12.50 ± 14.43 olduğu tespit edilmiştir. Bu iki izolat arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz görülmüştür. 166 no'lu izolatın % hastalık şiddetinin

12.50 ± 14.43 olduğu saptanmıştır. Bu 181 ve 224 no'lu izolatlar ile arasındaki fark istatistiksel olarak çok önemli olduğu diğer izolatlar ile arasındaki farkın orta ve düşük düzeylerde önemli olduğu görülmüştür. 15, 16, 22 ve 23 % hastalık şiddeti 0.00 ± 0.00 olarak belirlenmiştir. Bu izolatların aralarındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz görülmüştür. Bu izolatların aralarındaki fark negatif kontrolde yer alan bitkilerin % hastalık şiddeti ile de önemsiz olduğu görülmüştür (Şekil 4.21).

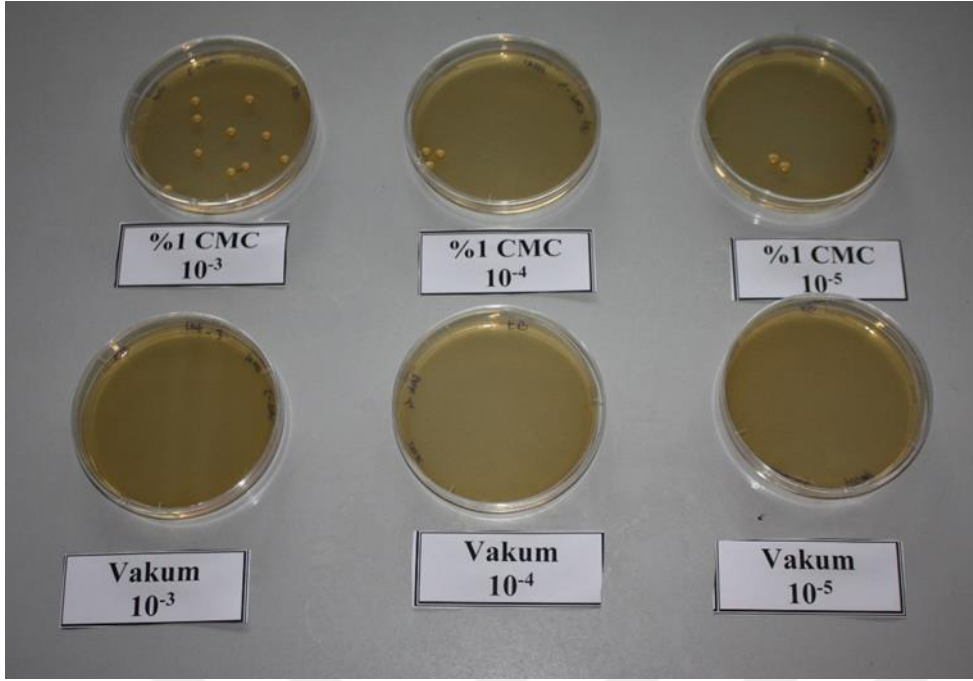


Şekil 4.21. Cmm ile yapılan patojenisite testi sonucunda bitkilerde ortaya çıkan hastalık belirtilerinin görüntülerini.

Yapılan patojenisite testi sonucunda en virulent patojen olarak 224 no'lu izolat belirlenmiş, daha sonraki *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kullanılmak üzere bu izolat seçilmiştir

4.1.5.2 Tohum bakterizasyonu yoluyla patojenisiteye yönelik bulgular

Hem Cmm'nin tohum kökenli bir hastalık olması hem de yararlı bakterilerin uygulanmasında en etkili tohum bakterizasyon yönteminin belirlenmesi amacıyla 224 no'lu izolat ile tohum bakterizasyonu yapılarak bir patojenisite testi gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma için CMC ile tohum bakterizasyonu ve vakum infiltrasyonu yöntemleri testi edilmiştir. Uygulama yapıldıktan sonra tohumlar %5'lik NaOCI ile yüzey sterilizasyonu yapılarak patojen izolasyonu yapılmıştır. Sonuç olarak Vakum infiltrasyonuna ait tohumlarda herhangi bakteriyel gelişme meydana gelmemiştir. CMC ile yapılan bakterizasyon yönteminde $0,1 \times 10^5$ cfu/tohum bakteri yoğunluğu tespit edilmiştir (Şekil 4.22)



Şekil 4.22. Cmm'in tohumla bakterizasyon yöntemini belirleme için yapılan tohum bakterizasyonunun *in vitro* sonuçlarına ait görüntü

In vivo test olarak, farklı tohum bakterizasyonu yöntemleri ile Cmm bulaştırılan tohumlar viyollere ekilmiştir. Daha sonra hastalık çıkışı değerlendirilmiştir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Cmm'in tohumla bakterizasyon yöntemini belirlemek için yapılan *in vivo* testin sonucuna ait görüntü.

Vakum infiltrasyon yönteminde tohum bakterizasyonu yapılan tohumlarda herhangi bir hastalık çıkışı meydana gelmemiş olup %1 CMC ile kaplama yoluyla bakterizasyon yapılan bakterilerde hastalık çıkışı gözlemlenmiştir.

In-vitro ve *in-vivo* testi sonuçlarında tohum bakterizasyonu yöntemi olarak %1'lik CMC ile kaplama yöntemi belirlenmiştir.

4.2 Çalışmada Kullanılan Yararlı Bakterilerin İzolasyonu ve Ön Tanı Testlerine ait bulgular

Çalışmada kullanılan yararlı bakterilerin izolasyonu için, Şekil 3.1'deki haritada yer alan lokasyonlardaki bulunan domates tarlalarından örnekleme yapılmıştır. Sağlıklı bitki örneklerinden yaprak, gövde ve kök kısımlarından kesitler alınarak bölüm 3.2.2' bahsedildiği şekilde endofit ve epifit izolasyonları yapılmıştır. Elde edilen aday yararlı bakteriler saflaştırılmıştır. Daha sonra izolatlar tablo 3.5'de belirtilen NGA ortamı yardımıyla -80°C'de sıcaklıktaki ultra derin dondurucuda stoklanmıştır. Saf hale gelen koloniler daha sonra koloni morfolojileri, Gram reaksiyon testi, levan oluşumu, oksidaz testi, pektolitik aktivite, tütünde hiper sensitivite testi yönünde değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 4.4' görülmektedir. Aday yararlı bakteri izolatlarından 15 izolat tütünde hipersensitivite testinden ve 9 izolat patatesta pektolitik aktive, 3 izolat ise hem tütünde hipersensitivite hem pektolitik aktivite testinden pozitif vermiştir. Toplam 27 izolat bu neden ile elenmiştir. Diğer izolatlar *in-vitro* biyokontrol testi için seçilmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler.

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışıma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
1	KD 1/1	E.Ü. Kampüs/Bornova/İZMİR	Yaprak	Epifit	kremimsi beyaz	+	-	+	-	-	-	-
2	KD 1/2	E.Ü. Kampüs/Bornova/İZMİR	Kök	Epifit	kremimsi sarı	+	Yeşil	-	-	+	-	-
3	KD 1/3	E.Ü. Kampüs/Bornova/İZMİR	Çiçek	Endofit	şeffaf krem	+	-	-	-	+	-	-
4	KD 1/4	E.Ü. Kampüs/Bornova/İZMİR	Yaprak	Endofit	şeffaf krem	+	-	-	-	+	-	-
5	KD 2/1	E.Ü. Kampüs/Bornova/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
6	KD 2/2	E.Ü. Kampüs/Bornova/İZMİR	Yaprak	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
7	KD 2/3	E.Ü. Kampüs/Bornova/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	+	-	-	-	-
8	KD 3/1	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	+	-	-	-
9	KD 3/2	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
10	KD 4/1	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
11	KD 4/2	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	kremimsi beyaz	+	-	+	-	-	-	-
12	KD 4/3	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışına	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
13	KD 4/4	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
14	KD 4/5	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Endofit	kremimsi sarı	+	Yeşil	-	-	+	-	-
15	KD 4/6	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
16	KD 4/7	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
17	KD 5/1	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Epifit	Krem /mukoid	+	-	-	-	+	-	-
18	KD 5/2	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
19	KD 6/1	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
20	KD 6/2	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	+	-	-
21	KD 6/3	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı	+	-	-	-	-	-	-
22	KD 6/4	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
23	KD 7/1	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
24	KD 7/2	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
25	KD 7/3	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Gövde	Epifit	krem/mukoid	+	-	+	+	-	-	-
26	KD 8/1	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Endofit	kremimsi beyaz	+	-	+	-	-	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C° 'de gelişme	366 nm' de ışınım	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patatestek. Aktivite	Tütünde HR
27	KD 8/2	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	+	-	+	-	-
28	KD 9/1	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
29	KD 9/2	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
30	KD 9/3	Eğlenhoca/Karaburun/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
31	KD 10/1	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	-
32	KD 10/2	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
33	KD 10/3	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
34	KD 10/4	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
35	KD 10/5	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Endofit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
36	KD 11/1	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
37	KD 11/2	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
38	KD 11/3	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Yaprak	Epifit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
39	KD 11/4	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	-	+	-
40	KD 11/5	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Gövde	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C° 'de gelişme	366 nm ' de ışınma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Türünde HR
41	KD 12/1	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
42	KD 12/2	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	-	-	-	-	-
43	KD 12/3	Mordoğan/Karaburun/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
44	KD 13/1	Balıkova/Urla/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	-	-	-
45	KD 13/2	Balıkova/Urla/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
46	KD 14/1	Balıkova/Urla/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
47	KD 14/2	Balıkova/Urla/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
48	KD 14/3	Balıkova/Urla/İZMİR	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
49	KD 15/1	Balıkova/Urla/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
50	KD 15/2	Balıkova/Urla/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
51	KD 15/3	Balıkova/Urla/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	+
52	KD 15/4	Balıkova/Urla/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
53	KD 16/1	Ildır/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
54	KD 16/2	Ildır/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	+

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışıma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Türünde HR
55	KD 17/1	İldır/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	+	-	-	-
56	KD 17/2	İldır/Çeşme/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
57	KD 17/3	İldır/Çeşme/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
58	KD 17/4	İldır/Çeşme/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
59	KD 18/1	İldır/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
60	KD 18/2	İldır/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
61	KD 19/1	İldır/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
62	KD 19/2	İldır/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
63	KD 19/3	İldır/Çeşme/İZMİR	Yaprak	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
64	KD 19/4	İldır/Çeşme/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
65	KD 19/5	İldır/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
66	KD 20/1	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
67	KD 20/2	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
68	KD 21/1	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışınım	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
69	KD 21/2	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
70	KD 22/1	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
71	KD 22/2	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	+	-	-	-	-
72	KD 22/3	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	+	+	-	-	-
73	KD 22/4	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
74	KD 24/1	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	+	-	-	-	-
75	KD 24/2	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	+	+	-	-	-
76	KD 24/3	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
77	KD 24/4	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
78	KD 24/5	Germiyan/Çeşme/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
79	KD 25/1	Nohutalan/Urla/İZMİR	Yaprak	Endofit	krem	+	+	-	-	+	-	-
80	KD 25/2	Nohutalan/Urla/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	+	-	-	+	-	-
81	KD 25/3	Nohutalan/Urla/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	+	-	-	-	-
82	KD 25/4	Nohutalan/Urla/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	+	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışınım	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patatestte Pek. Aktivite	Tütünde HR
83	KD 26/1	Nohutalan/Urla/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	+	+	-	-
84	KD 26/2	Nohutalan/Urla/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	+	-	-	-	-
85	KD 27/1	Nohutalan/Urla/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	-	-	+
86	KD 27/2	Nohutalan/Urla/İZMİR	Yaprak	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
87	KD 27/3	Nohutalan/Urla/İZMİR	Gövde	Endofit	kremimsi beyaz	+	-	-	-	-	-	-
88	KD 27/4	Nohutalan/Urla/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	+	-
89	KD 28/1	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
90	KD 28/2	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
91	KD 29/1	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
92	KD 29/2	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
93	KD 30/1	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	sarı	+	-	-	-	-	-	-
94	KD 30/2	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	krem/pudramsı	+	-	-	-	-	-	-
95	KD 30/3	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Yaprak	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	+
96	KD 31/1	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	+	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C° 'de gelişme	366 nm' de ışına	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patatestte Pek. Aktivite	Tütünde HR
97	KD 31/2	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Gövde	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
98	KD 31/3	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
99	KD 31/4	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	+	-	-
100	KD 32/1	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
101	KD 32/2	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	+	-	-
102	KD 32/3	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
103	KD 32/4	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	+	+	-	-	-
104	KD 33/1	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
105	KD 33/2	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	-
106	KD 33/3	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
107	KD 34/1	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	-	-	-
108	KD 34/2	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Gövde	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
109	KD 34/3	Çırpı/Bayındır/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	-	-	-
110	KD 35/1	Balabanlı/Ödemiş/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

111	KD 35/2	Balabanlı/Ödemiş/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	+
112	KD 36/1	Balabanlı/Ödemiş/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	+	-	-	-
113	KD 36/2	Balabanlı/Ödemiş/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
114	KD 36/3	Balabanlı/Ödemiş/İZMİR	Gövde	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
115	KD 37/1	Balabanlı/Ödemiş/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı	+	-	-	-	-	-	-
116	KD 37/2	Balabanlı/Ödemiş/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	+	-	-	-
117	KD 39/1	Gökçen/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	+
118	KD 39/2	Gökçen/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
119	KD 40/1	Alacalı/Tire/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
120	KD 40/2	Alacalı/Tire/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
121	KD 40/3	Alacalı/Tire/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
122	KD 40/4	Alacalı/Tire/İZMİR	Yaprak	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
123	KD 40/5	Alacalı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	-	-	-
124	KD 41/1	Alacalı/Tire/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
125	KD 41/2	Alacalı/Tire/İZMİR	Kök	Endofit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
126	KD 41/3	Alacalı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Mavi	-	-	+	-	-
127	KD 41/4	Alacalı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	açık sarı	+	-	-	-	-	-	-
128	KD 42/1	Alacalı/Tire/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışına	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Türünde HR
129	KD 42/2	Alacalı/Tire/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	-	+	-	-	-	-
130	KD 42/3	Alacalı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
131	KD 44/1	Subaşı/Tire/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
132	KD 44/2	Subaşı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
133	KD 44/3	Subaşı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
134	KD 45/1	Subaşı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
135	KD 45/2	Subaşı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
136	KD 46/1	Subaşı/Tire/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	-
137	KD 46/2	Subaşı/Tire/İZMİR	Kök	Epifit	sarı	+	-	-	-	-	+	-
138	KD 47/1	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	+	-	-
139	KD 47/2	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	+	-	-
140	KD 47/3	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
141	KD 48/1	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	+
142	KD 48/2	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem	-	-	-	-	-	-	+

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışıma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
143	KD 48/3	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	+
144	KD 49/1	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
145	KD 50/1	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	-
146	KD 50/2	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	+	-	-	-
147	KD 50/3	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	-	-	-
148	KD 50/4	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
149	KD 51/1	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	+	+	-	+
150	KD 51/2	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	sarı	+	-	-	-	+	-	-
151	KD 52/1	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	+	-	-
152	KD 53/1	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	-
153	KD 53/2	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
154	KD 53/3	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
155	KD 54/1	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	+	-	-
156	KD 54/2	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışınım	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patatestte Pek. Aktivite	Tütünde HR
157	KD 55/1	Göhlhisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
158	KD 56/1	Göhlhisar/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
159	KD 56/2	Göhlhisar/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	+	+	+	-
160	KD 56/3	Göhlhisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	+	+	-	-
161	KD 57/1	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	+	+	-	-
162	KD 57/2	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
163	KD 58/1	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	+	+	-	-
164	KD 58/2	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
165	KD 58/3	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	-	Yeşil	-	-	-	-	-
166	KD 59/1	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	sarı	-	-	-	-	-	-	-
167	KD 59/2	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem	-	Yeşil	-	-	-	+	-
168	KD 60/1	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	-	Yeşil	-	-	-	-	+
169	KD 60/2	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
170	KD 60/3	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışıma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patatestte Pek. Aktivite	Tütünde HR
171	KD 60/4	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
172	KD 60/5	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Yaprak	Endofit	krem	+	-	-	-	-	+	-
173	KD 61/1	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	+	-	+	-	-	-	-
174	KD 62/1	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	açık sarı	+	-	+	-	-	-	-
175	KD 63/1	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
176	KD 63/2	Şahnalı/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	sarı	+	-	-	-	+	-	-
177	KD 64/1	Armutlu/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
178	KD 64/2	Armutlu/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
179	KD 65/1	Kozalaklı/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
180	KD 65/2	Kozalaklı/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
181	KD 65/3	Kozalaklı/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	+	-	-
182	KD 66/1	Kozalaklı/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	+	-	-
183	KD 67/1	Dalama/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
184	KD 67/2	Dalama/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	-	-	-	-	-	-	+

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C° 'de gelişme	366 nm ' de ışınım	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
185	KD 68/1	Dalama/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	+	-	-
186	KD 68/2	Dalama/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	+	-	-
187	KD 68/3	Dalama/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	-
188	KD 70/1	Karahayıt/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
189	KD 70/2	Karahayıt/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
190	KD 70/3	Karahayıt/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
191	KD 72/1	Karahayıt/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
192	KD 73/1	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	+	+	-	-
193	KD 73/2	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
194	KD 73/3	Göhlisar/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
195	KD 74/1	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Kök	Epifit	krem/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
196	KD 74/2	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Yaprak	Endofit	krem/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
197	KD 74/3	Tepeköy/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	sarı/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
198	KD 75/1	Baltaköy/Efeler/AYDIN	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C° 'de gelişme	366 nm' de ışınma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
199	KD 75/2	Baltaköy/Efeler/AYDIN	Kök	Endofit	krem	+	-	-	-	-	-	+
200	KD 76/1	EUZFÇiftlik/Menemen/İZMİR	Gövde	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
201	KD 76/2	EUZFÇiftlik/Menemen/İZMİR	Kök	Epifit	açık sarı/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
202	KD 77/1	Yayakent/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
203	KD 77/2	Yayakent/Kınık/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	-	+	-	-	-	-
204	KD 77/3	Yayakent/Kınık/İZMİR	Kök	Epifit	sarı	+	-	-	+	+	-	-
205	KD 78/1	Yayakent/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
206	KD 78/2	Yayakent/Kınık/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı	+	-	-	+	-	+	+
207	KD 79/1	Yayakent/Kınık/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
208	KD 80/1	Yayakent/Kınık/İZMİR	Gövde	Endofit	Krem	+	-	-	-	-	-	-
209	KD 80/2	Yayakent/Kınık/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
210	KD 81/1	Yayakent/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
211	KD 81/2	Yayakent/Kınık/İZMİR	Gövde	Endofit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
212	KD 81/3	Yayakent/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	+	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışınım	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
213	KD 82/1	Yayakent/Kınık/İZMİR	Gövde	Endofit	sarı	+	-	-	-	-	-	-
214	KD 82/2	Yayakent/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	+	-	-	-	-
215	KD 83/1	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	-	-	+
216	KD 83/2	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı	+	-	-	-	-	-	+
217	KD 83/3	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
218	KD 84/1	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
219	KD 84/2	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	+	-
220	KD 84/3	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Yaprak	Endofit	açık sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
221	KD 85/1	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
222	KD 85/2	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Yaprak	Endofit	sarı	+	-	-	+	-	+	+
223	KD 85/3	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
224	KD 86/1	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
225	KD 86/2	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	-	-	-
226	KD 87/1	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C° 'de gelişme	366 nm' de ışıma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
227	KD 87/2	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Yaprak	Endofit	krem	+	-	-	+	-	-	-
228	KD 87/3	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Kök	Epifit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
229	KD 87/4	Kınık Ovası/Kınık/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
230	KD 88/1	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
231	KD 88/2	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
232	KD 89/1	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	+	+	-	-
233	KD 89/2	Bölcek/Bergama/İZMİR	Yaprak	Epifit	sarı/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
234	KD 89/3	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	-	-	-
235	KD 90/1	Bölcek/Bergama/İZMİR	Gövde	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
236	KD 90/2	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Epifit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
237	KD 91/1	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	+	-	-	-
238	KD 91/2	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
239	KD 91/3	Bölcek/Bergama/İZMİR	Yaprak	Epifit	krem	+	-	+	-	-	-	-
240	KD 91/4	Bölcek/Bergama/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	+	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışınma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
241	KD 93/1	Yanikköy/Menemen/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
242	KD 93/2	Yanikköy/Menemen/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	+	+	-	-
243	KD 95/1	Yanikköy/Menemen/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
244	KD 95/2	Yanikköy/Menemen/İZMİR	Kök	Epifit	krem	+	-	-	-	-	-	-
245	KD 97/1	UTEAM/Menemen/İZMİR	Gövde	Endofit	krem	+	-	-	+	-	-	-
246	KD 98/1	UTEAM/Menemen/İZMİR	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	+	+	-	-
247	KD 98/2	UTEAM/Menemen/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	+	+	-	-	-
248	KD 99/1	UTEAM/Menemen/İZMİR	Kök	Epifit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
249	KD 100/1	Menemen/İZMİR	Kök	Endofit	krem	+	-	-	+	-	-	-
250	KD 101/1	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	+	+	-	-
251	KD 101/2	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Gövde	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
252	KD 101/3	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
253	KD 102/1	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
254	KD 102/2	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışıma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
255	KD 102/3	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
256	KD 103/1	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
257	KD 103/2	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
258	KD 103/3	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Epifit	şeffaf krem	+	-	+	-	-	-	-
259	KD 104/1	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
260	KD 104/2	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
261	KD 104/3	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
262	KD 104/4	Musahoca/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Epifit	beyaz/pudramsı	+	-	+	+	-	-	-
263	KD 105/1	Karakum/Kırkağaç/MANİSA	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
264	KD 105/2	Karakum/Kırkağaç/MANİSA	Gövde	Endofit	krem	+	-	-	-	-	+	-
265	KD 105/3	Karakum/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Mavi	-	-	+	-	-
266	KD 106/1	Karakum/Kırkağaç/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	+	+	-	-
267	KD 107/1	Gelenbe/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	+	-
268	KD 108/1	Gelenbe/Kırkağaç/MANİSA	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C° 'de gelişme	366 nm ' de ışıma	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patatestte Pek. Aktivite	Tütünde HR
269	KD 108/2	Gelenbe/Kırkağaç/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
270	KD 108/3	Gelenbe/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
271	KD 108/4	Gelenbe/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
272	KD 108/5	Gelenbe/Kırkağaç/MANİSA	Yaprak	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
273	KD 110/1	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
274	KD 110/2	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	+	-	-	-
275	KD 112/1	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Yaprak	Endofit	sarı	+	-	-	+	-	+	+
276	KD 112/2	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
277	KD 112/3	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Gövde	Endofit	krem	-	Yeşil	-	-	-	-	+
278	KD 112/4	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
279	KD 113/1	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
280	KD 113/2	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
281	KD 114/1	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	+	+	-	-
282	KD 114/2	Sarıçalı/Akhisar/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışına	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patatest Pekt. Aktivite	Tütünde HR
283	KD 116/1	Akselendi/Akhisar/MANİSA	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
284	KD 116/2	Akselendi/Akhisar/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
285	KD 117/1	Beyoba/Akhisar/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
286	KD 117/2	Beyoba/Akhisar/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
287	KD 118/1	Sazoba/Akhisar/MANİSA	Gövde	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
288	KD 118/2	Sazoba/Akhisar/MANİSA	Kök	Epifit	açık sarı	+	-	+	-	-	-	-
289	KD 119/1	Dereli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Endofit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
290	KD 119/2	Dereli/Saruhanlı/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
291	KD 119/3	Dereli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
292	KD 120/1	Dereli/Saruhanlı/MANİSA	Gövde	Epifit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
293	KD 120/2	Dereli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Mavi	-	-	+	-	-
294	KD 121/1	Dereli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
295	KD 121/2	Dereli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Epifit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
296	KD 122/1	Çamlıyurt/Saruhanlı/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-

Tablo 4.4 Çalışmada izole edilen aday yararlı bakterilere ait bilgiler (devam).

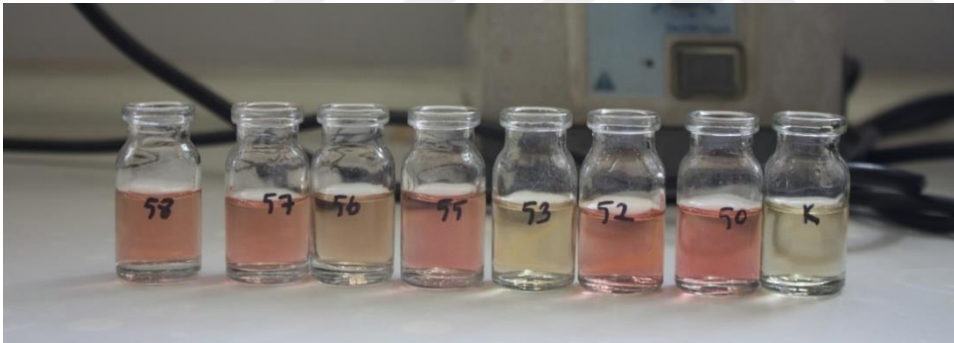
Sıra No	Örnek No	Lokasyon	İzole Edildiği Yer	Kolonizasyon	Koloni Morfolojileri	37 C°'de gelişme	366 nm' de ışına	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite	Tütünde HR
297	KD 122/2	Çamlıyurt/Saruhanlı/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
298	KD 123/1	Alibeyli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
299	KD 123/2	Alibeyli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Endofit	beyaz/pudramsı	+	-	+	-	-	-	-
300	KD 124/1	Alibeyli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Epifit	krem	+	Yeşil	-	-	+	-	-
301	KD 125/1	Alibeyli/Saruhanlı/MANİSA	Kök	Endofit	krem/mukoid	+	Yeşil	-	-	+	-	-
302	KD 126/1	Lütfiye/Saruhanlı/MANİSA	Gövde	Endofit	krem/mukoid	+	-	-	+	-	-	-
303	KD 127/1	Lütfiye/Saruhanlı/MANİSA	Yaprak	Endofit	Sarı	+	-	-	+	-	-	+

4.3 Çalışmada Kullanılan Yararlı Bakterilerin *In vitro* Biyokontrol Özelliklerinin Belirlenmesine ait Bulgular

Aydın, İzmir ve Manisa illerine ait 40 farklı lokasyonundan toplanan 127 domates bitkisi örneğinden izole edilen 303 bakterinin *in-vitro* biyokontrol özelliklerini belirlemek için bölüm 3.2.3.2’de belirtilen testler uygulanmıştır

4.3.1 Indol 3 Asetik Asit (IAA) üretim aktivitesine ait bulgular

Aday yararlı bakterilerin *in-vitro*’da IAA üretimi bölüm 3.2.3.2’de belirtilen protokole uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. Yapılan test sonucunda; 3 tane izolatta IAA üretme aktivitesi tespit edilememiştir. Geriye kalan 273 izolatta 2 ppm ile 2172 ppm arasında IAA üretme aktivitesi tespit edilmiştir. 2172 ppm IAA üretimi ile 247 no’lu (KD98/2) aday yararlı bakterinin en yüksek değere sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 4.23) (Tablo 4.5).

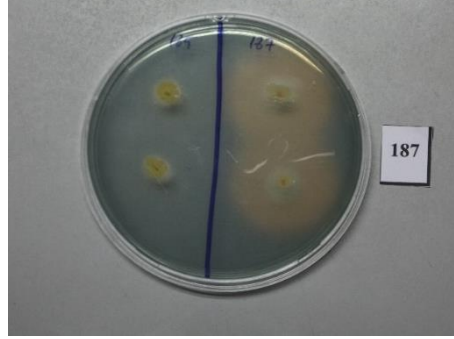


Şekil 4.23. IAA üretim aktivitesi testinde Negatif Kontrol (en sağda) ile aday yararlı bakterilere ait görüntü.

4.3.2 Siderefor üretiminin belirlenmesi ait bulgular

Aday yararlı bakterilerin siderefor üretimini belirlemek için bölüm 3.2.3.2’de bahsedilen protokol uygulanmıştır. Blue-CAS agarda gelişen bakterilerin çevresinde oluşuna sarımsı-turuncu zonlar mm cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir. 276 aday yararlı bakteri izolatından 2 tanesinde blue-cas agar zon oluşumu meydana getirmemiştir. Geriye kalan 274 izolatta 0.43 ile 12.48 mm arasında yarıçaplarda değişen bir sarımsı-turuncu zon meydana getirdiği

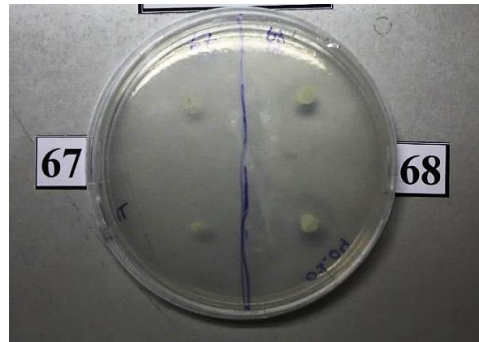
görülmüştür. Aday yararlı bakteriler içerisinde 187 no'lu (KD68/3) izolat 12.48 mm yarıçap ile en yüksek siderefor üretim aktivitesi göstermiştir (Şekil 4.24) (Tablo 4.5).



Şekil 4.24. Siderefor üretimi testinde Blue-CAS agarda en yüksek aktivite gösteren izolata ait görüntü.

4.3.3 Fosfataz aktivitesinin belirlenmesine ait bulgular

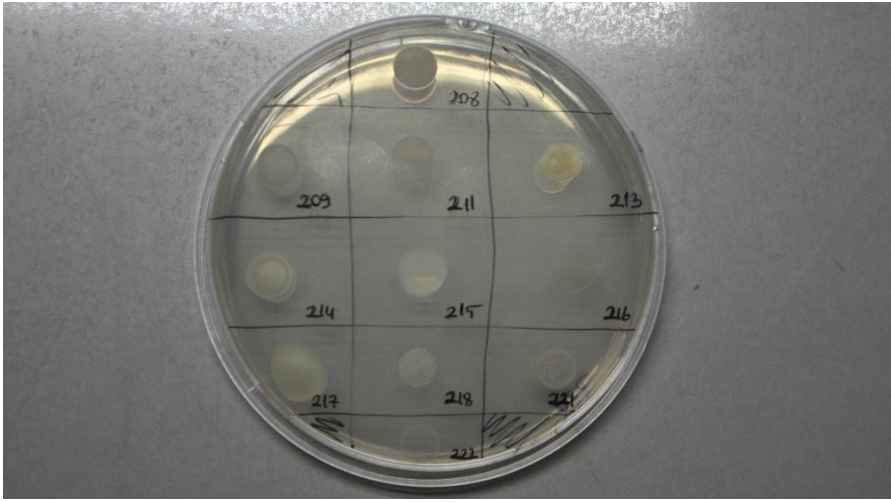
Aday yararlı bakterilerin fosfataz enzim aktivitesini belirlemek için bölüm 3.2.3.2'de bahsedilen protokol uygulanmıştır. Aday yararlı bakterilerin çevresindeki saydamlaşma şeklindeki zon mm cinsinden ölçülerek değerlendirilmiştir. 276 aday yararlı bakteri içerisinde 78 izolat NBRIP ortamında zon oluşturmamış olup fosfataz aktivitesi göstermemiştir. Geriye kadar 198 yararlı bakteri izolatu 0.5 ile 22 mm arasında yarıçapta zon oluşturarak fosfataz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Bu izolatların arasında 67 no'lu (KD20/2) izolat NBRIP ortamında 22 mm yarıçapa sahip zon oluşturarak en yüksek fosfataz aktivitesini göstermiştir (Şekil 4.25) (Tablo 4.5).



Şekil 4.25. Fosfataz enzimi aktivitesi testinde NBRIP agarda en yüksek aktivitesi gösteren izolata ait görüntü.

4.3.4 ACC-deaminase aktivitesinin belirlenmesine ait bulgular

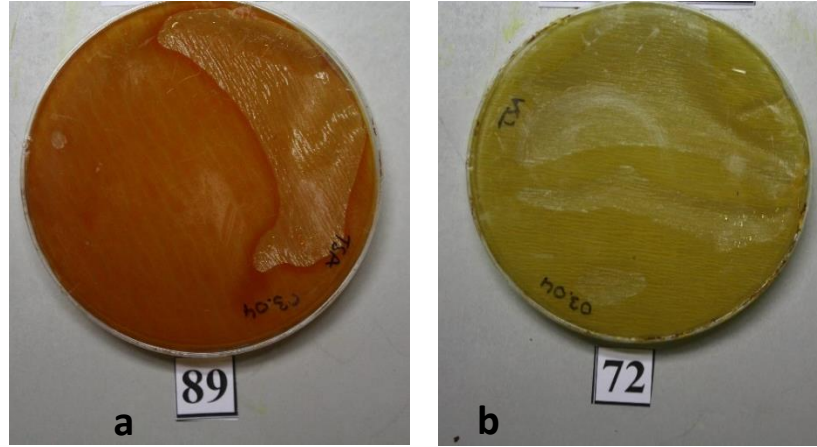
ACC-deaminase aktivitesini belirlemek için Tablo 3.12 içeriği belirtilen, ACC katkılı DF minimal tuz ortamı kullanılmış olup bölüm 3.2.3.2’de belirtilen protokol uygulanmıştır. Değerlendirme koloni gelişimine bakılarak var/yok şeklinde değerlendirme yapılmıştır. Sonuç olarak 276 aday yararlı bakteriden 21 izolatta ACC katkılı DF minimal tuz ortamında gelişme göstermemiş olup ACC-deaminase aktivitesi negatif olduğu görülmüştür. Geriye kalan 255 izolatta ise koloni gelişimi meydana gelmiştir. Bu bakteriler pozitif kabul edilmiştir (Şekil 4.26) (Tablo 4.5).



Şekil 4.26. ACC-deaminase aktivitesi testinde ACC katkılı DF minimal tuz ortamında pozitif veren izolatlara ait bir görüntü

4.3.5 Hidrojen siyanid (HCN) üretiminin belirlenmesine ait bulgular

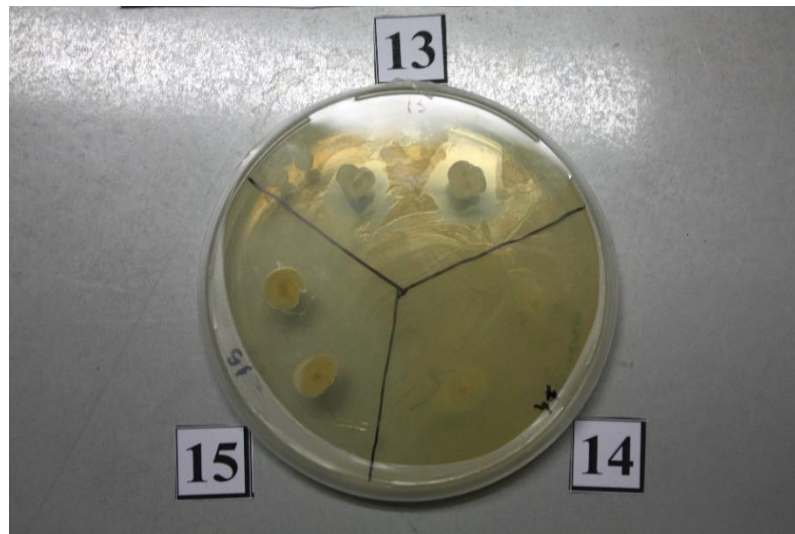
Aday yararlı bakterilerin hidrojen siyanid üretiminin tespit etmek amacıyla çalışmadaki 276 izolata bölüm 3.2.3.2’de belirtilen protokol uygulanmıştır. İşlem sonunda filtre kağıdı sarı renkten kahverengi-turuncuya doğru renk değişimi meydana geldiyse bu aday yararlı bakteriler HCN üretimi konusunda pozitif olarak kabul edilmiştir. Sonuç olarak 276 yararlı bakteriden 33 izolat filtre kağıdında turuncu renk değişimi meydana gelmiş olmuş HCN üretimi konusunda pozitif kabul edilmiştir. Geriye kalan 243 izolatta renk değişimi meydana gelmemiş olup bu izolatlar HCN üretimi negatif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.27) (Tablo 4.5).



Şekil 4.27. HCN üretim testinde izolatlara a) pozitif b) negatif sonuçlara ait görüntü.

4.3.6 *In vitro* engelleme etkisinin belirlenmesi

Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* engelleme etkisini belirlemek için bölüm 3.2.3.2’de bahsedilen protokol kullanılmıştır. Yapılan ikili kültür testi sonucunda yararlı bakterilerden çevresinde engelleme zonu oluşturanlar pozitif olarak kabul edilmiş olup engelleme zonu mm cinsinden ölçülmüştür. Sonuç olarak 276 aday bakteriden 230 izolatta ikili kültür testinde engelleme zonu meydana getirmemiş olup negatif kabul edilmiştir. Geriye kalan 44 bakteride 0.35 ile 14.28 mm arasında değişik gösteren engelleme zonu meydana gelmiştir. 15 no’lu (KD4/6) bakteri, en yüksek *in-vitro* engelleme etkisi gösteren izolat olmuştur (Şekil 4.26)(Tablo 4.5).



Şekil 4.28. Cmm’ye karşı aday antagonist bakteri izolatlarının oluşturduğu *in-vitro* engelleme zonu.

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları.

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme zonu (mm)
1	KD 1/1	30.67	0.80	2.50	+	-	1.28
2	KD 1/2	124.00	4.00	8.75	+	-	0.00
3	KD 1/3	11.00	2.25	6.00	+	-	0.00
4	KD 1/4	6.00	4.50	6.75	+	-	0.00
5	KD 2/1	128.67	3.75	0.00	+	-	0.48
6	KD 2/2	155.33	2.88	0.00	-	-	0.00
7	KD 2/3	105.33	2.13	0.00	+	-	1.93
8	KD 3/1	204.00	3.50	6.00	+	-	0.00
9	KD 3/2	135.00	3.00	1.50	+	-	0.00
10	KD 4/1	164.00	3.81	0.00	+	-	0.72
11	KD 4/2	8.00	2.00	0.00	+	-	0.00
12	KD 4/3	235.33	2.79	4.75	+	-	0.92
13	KD 4/4	128.67	1.90	0.00	+	-	5.97
14	KD 4/5	125.00	4.25	1.00	+	-	0.00
15	KD 4/6	183.33	1.79	5.50	+	-	14.28
16	KD 4/7	13.00	1.00	3.00	+	-	0.00
17	KD 5/1	151.00	3.25	0.50	-	+	0.00
18	KD 5/2	223.00	4.00	1.75	-	+	0.00
19	KD 6/1	139.00	3.00	0.00	+	-	0.00
20	KD 6/2	180.00	3.25	4.50	-	+	0.00
21	KD 6/3	214.67	4.19	19.50	-	-	9.41
22	KD 6/4	135.33	1.67	4.00	-	-	4.57
23	KD 7/1	137.00	3.25	10.25	+	-	0.00
24	KD 7/2	114.00	3.25	4.75	+	-	0.00
25	KD 7/3	130.00	1.88	0.00	-	-	5.63
26	KD 8/1	-12.67	3.31	0.00	-	-	1.45
27	KD 8/2	7.00	1.25	0.00	-	-	0.00
28	KD 9/1	195.00	3.25	2.00	+	-	0.00
29	KD 9/2	241.00	2.50	2.50	+	-	0.00
30	KD 9/3	118.00	1.00	0.50	+	-	0.00
31	KD 10/1	309.00	1.75	0.75	-	-	0.00
32	KD 10/2	133.00	4.00	0.75	+	-	0.00
33	KD 10/3	132.00	5.00	3.50	+	-	0.00
34	KD 10/4	226.67	2.67	1.00	+	-	5.48
35	KD 10/5	251.33	2.41	4.00	+	-	4.99
36	KD 11/1	115.00	3.50	1.50	+	-	0.00
37	KD 11/2	67.00	2.00	0.00	+	-	0.00
38	KD 11/3	338.00	2.50	6.50	+	-	0.00

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları (devam).

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme zonu (mm)
39	KD 11/4	Pektolitik aktivite testinde pozitif vermiştir					
40	KD 11/5	338.00	2.50	5.00	+	-	0.00
41	KD 12/1	121.00	3.00	3.50	+	-	0.00
42	KD 12/2	31.00	2.00	0.00	+	-	0.00
43	KD 12/3	32.00	1.00	2.00	+	-	0.00
44	KD 13/1	203.00	5.75	21.00	+	-	0.00
45	KD 13/2	128.00	4.25	0.00	-	-	0.00
46	KD 14/1	170.67	8.99	0.00	-	-	2.62
47	KD 14/2	123.00	3.25	4.50	+	-	0.00
48	KD 14/3	7.00	3.25	0.00	-	-	0.00
49	KD 15/1	353.00	2.75	4.00	+	-	0.00
50	KD 15/2	275.00	2.50	3.50	+	-	0.00
51	KD 15/3	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
52	KD 15/4	165.00	1.50	0.00	+	-	0.00
53	KD 16/1	0.00	5.39	0.00	+	-	2.74
54	KD 16/2	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
55	KD 17/1	175.00	4.00	2.50	+	-	0.00
56	KD 17/2	74.67	12.47	1.25	+	+	9.19
57	KD 17/3	142.00	3.25	2.25	+	+	0.00
58	KD 17/4	133.00	1.00	0.00	+	-	0.00
59	KD 18/1	122.00	2.00	2.50	+	-	0.00
60	KD 18/2	126.00	3.00	1.00	+	-	0.00
61	KD 19/1	212.67	10.99	7.50	+	-	3.07
62	KD 19/2	47.00	3.00	1.00	+	-	0.00
63	KD 19/3	273.00	2.50	1.50	+	-	0.00
64	KD 19/4	159.00	1.00	0.00	+	+	0.00
65	KD 19/5	178.00	1.07	5.00	+	-	6.52
66	KD 20/1	133.00	3.25	20.25	+	-	0.00
67	KD 20/2	481.00	3.00	22.00	+	-	0.00
68	KD 21/1	203.00	1.00	5.00	+	-	0.00
69	KD 21/2	255.00	2.00	3.75	+	-	0.00
70	KD 22/1	339.00	2.25	13.50	+	-	0.00
71	KD 22/2	270.00	3.66	0.00	+	-	1.67
72	KD 22/3	206.00	2.07	0.00	+	-	3.78
73	KD 22/4	36.00	1.00	0.00	+	-	0.00
74	KD 24/1	169.00	1.00	0.00	+	-	0.00
75	KD 24/2	246.00	1.25	1.50	+	-	0.00
76	KD 24/3	267.33	1.86	2.00	+	-	3.23
77	KD 24/4	68.00	4.75	11.00	+	+	0.00

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları (devam).

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme (mm)
78	KD 24/5	131.00	3.50	6.50	+	-	0.00
79	KD 25/1	133.00	5.50	5.00	+	+	0.00
80	KD 25/2	216.67	4.46	3.50	+	+	1.21
81	KD 25/3	306.00	1.75	0.00	+	-	0.00
82	KD 25/4	345.00	2.00	0.00	+	-	0.00
83	KD 26/1	44.67	4.23	2.25	+	+	13.27
84	KD 26/2	156.67	2.49	1.50	+	-	4.46
85	KD 27/1	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
86	KD 27/2	304.00	4.00	18.50	+	-	0.00
87	KD 27/3	15.33	4.83	19.50	+	-	3.45
88	KD 27/4	Pektolitik aktivite testinde pozitif vermiştir					
89	KD 28/1	217.00	3.50	19.50	+	+	0.00
90	KD 28/2	157.00	4.25	4.00	+	-	0.00
91	KD 29/1	207.00	2.75	4.00	+	-	0.00
92	KD 29/2	361.00	3.50	0.00	+	-	0.00
93	KD 30/1	91.00	2.50	1.00	+	+	0.00
94	KD 30/2	1062.00	0.00	0.00	+	-	0.00
95	KD 30/3	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
96	KD 31/1	30.00	0.00	4.75	+	+	11.43
97	KD 31/2	104.00	3.75	0.00	+	-	0.00
98	KD 31/3	179.00	4.00	0.00	+	-	0.00
99	KD 31/4	15.33	3.96	0.00	-	-	2.59
100	KD 32/1	126.00	4.25	4.00	+	-	0.00
101	KD 32/2	9.00	2.50	0.00	-	-	0.00
102	KD 32/3	223.00	2.75	4.00	+	-	0.00
103	KD 32/4	219.00	1.75	0.00	+	-	0.00
104	KD 33/1	23.33	2.16	0.00	+	-	5.21
105	KD 33/2	5.00	1.00	0.00	+	-	0.00
106	KD 33/3	235.00	1.00	2.25	+	-	0.00
107	KD 34/1	187.00	1.00	5.00	+	+	0.00
108	KD 34/2	334.00	1.00	2.25	+	-	0.00
109	KD 34/3	301.00	2.00	1.00	+	-	0.00
110	KD 35/1	134.00	5.25	2.25	+	-	0.00
111	KD 35/2	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
112	KD 36/1	168.00	4.50	1.25	+	-	0.00
113	KD 36/2	249.00	2.00	1.75	+	-	0.00
114	KD 36/3	347.00	3.50	2.50	+	-	0.00
115	KD 37/1	101.00	1.25	0.00	+	-	0.00
116	KD 37/2	144.00	4.00	1.00	+	-	0.00
117	KD 39/1	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları (devam).

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme (mm)
118	KD 39/2	181.00	3.00	0.00	+	-	0.00
119	KD 40/1	134.00	8.25	1.50	+	-	0.00
120	KD 40/2	440.00	12.25	1.50	+	-	0.00
121	KD 40/3	440.00	12.33	1.50	+	-	2.18
122	KD 40/4	147.00	3.25	1.00	+	-	0.00
123	KD 40/5	227.00	3.00	4.50	+	-	0.00
124	KD 41/1	172.00	3.50	1.75	+	-	0.00
125	KD 41/2	297.00	3.50	3.50	+	-	0.00
126	KD 41/3	297.00	3.50	3.50	+	-	0.00
127	KD 41/4	397.00	8.75	0.50	+	-	0.00
128	KD 42/1	397.33	8.86	0.50	+	-	1.26
129	KD 42/2	226.00	2.50	1.50	+	-	0.00
130	KD 42/3	329.00	3.00	2.00	+	-	0.00
131	KD 44/1	138.00	2.00	2.25	+	-	0.00
132	KD 44/2	147.00	3.25	1.00	+	-	0.00
133	KD 44/3	227.00	3.25	1.00	+	-	0.00
134	KD 45/1	195.00	0.43	0.00	+	-	0.00
135	KD 45/2	89.00	0.78	2.50	+	-	0.00
136	KD 46/1	207.00	1.00	2.75	+	-	0.00
137	KD 46/2	Pektolitik aktivite testinde pozitif vermiştir					
138	KD 47/1	71.00	5.00	5.25	+	+	0.00
139	KD 47/2	2.00	1.00	0.00	-	-	0.00
140	KD 47/3	335.00	3.50	0.00	+	-	0.00
141	KD 48/1	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
142	KD 48/2	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
143	KD 48/3	71.00	5.00	5.25	+	+	0.00
144	KD 49/1	2.00	1.00	0.00	-	-	0.00
145	KD 50/1	335.00	3.50	0.00	+	-	0.00
146	KD 50/2	71.00	5.00	5.25	+	+	0.00
147	KD 50/3	2.00	1.00	0.00	-	-	0.00
148	KD 50/4	335.00	3.50	0.00	+	-	0.00
149	KD 51/1	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
150	KD 51/2	445.00	0.68	0.00	-	-	0.00
151	KD 52/1	3.00	1.00	0.00	-	-	0.00
152	KD 53/1	173.00	2.25	8.50	+	-	0.00
153	KD 53/2	167.00	2.25	4.50	+	-	0.00
154	KD 53/3	130.00	4.75	3.00	+	-	0.00
155	KD 54/1	9.00	1.50	0.00	+	-	0.00
156	KD 54/2	140.00	3.50	1.00	+	-	0.00
157	KD 55/1	115.00	3.00	2.25	+	-	0.00

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları (devam).

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme (mm)
158	KD 56/1	327.00	2.25	3.00	+	-	0.00
159	KD 56/2	Pektolitik aktivite testinde pozitif vermiştir					
160	KD 56/3	142.00	3.50	7.00	+	+	0.00
161	KD 57/1	127.00	3.25	3.75	+	-	0.00
162	KD 57/2	124.00	3.50	2.75	+	-	0.00
163	KD 58/1	67.00	5.75	2.75	+	-	0.00
164	KD 58/2	529.00	2.00	0.00	+	-	0.00
165	KD 58/3	66.00	5.86	2.75	+	-	4.91
166	KD 59/1	123.00	1.25	0.00	+	-	0.00
167	KD 59/2	Pektolitik aktivite testinde pozitif vermiştir					
168	KD 60/1	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
169	KD 60/2	121.00	4.00	3.00	+	-	0.00
170	KD 60/3	41.00	4.75	3.50	+	+	0.00
171	KD 60/4	343.00	3.00	2.25	+	-	0.00
172	KD 60/5	40.67	5.18	3.50	+	+	1.91
173	KD 61/1	7.00	1.00	0.00	+	-	0.00
174	KD 62/1	319.00	1.75	0.00	+	-	0.00
175	KD 63/1	88.00	4.25	0.00	+	-	0.00
176	KD 63/2	256.00	8.50	0.00	+	-	0.00
177	KD 64/1	11.00	2.00	1.00	+	-	0.00
178	KD 64/2	85.00	7.25	5.00	+	-	0.00
179	KD 65/1	47.00	4.75	4.00	+	-	0.00
180	KD 65/2	9.00	2.50	0.00	+	-	0.00
181	KD 65/3	47.33	4.83	4.00	+	-	1.30
182	KD 66/1	103.00	2.50	1.50	+	-	0.00
183	KD 67/1	280.00	2.25	0.00	+	-	0.00
184	KD 67/2	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
185	KD 68/1	95.00	12.25	5.00	+	-	0.00
186	KD 68/2	109.00	4.00	0.00	+	-	0.00
187	KD 68/3	95.33	12.48	5.00	+	-	0.57
188	KD 70/1	74.00	3.50	0.00	+	-	0.00
189	KD 70/2	180.00	4.75	4.25	+	-	0.00
190	KD 70/3	165.00	4.75	3.00	+	-	0.00
191	KD 72/1	93.00	5.25	1.00	+	-	0.00
192	KD 73/1	173.00	6.75	1.00	+	+	0.00
193	KD 73/2	91.00	6.75	1.75	+	-	0.00
194	KD 73/3	103.00	1.75	1.00	+	-	0.00
195	KD 74/1	118.00	2.50	0.00	+	-	0.00
196	KD 74/2	175.00	2.75	0.00	+	-	0.00

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları (devam).

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme (mm)
197	KD 74/3	245.00	3.00	0.00	+	-	0.00
198	KD 75/1	61.00	1.50	1.50	+	-	0.00
199	KD 75/2	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
200	KD 76/1	190.00	2.00	1.00	+	-	0.00
201	KD 76/2	70.00	3.00	2.00	+	-	0.00
202	KD 77/1	71.00	5.00	2.75	+	-	0.00
203	KD 77/2	33.00	2.75	7.50	+	+	0.00
204	KD 77/3	204.00	3.00	2.00	+	-	0.00
205	KD 78/1	204.00	3.00	2.00	+	-	0.00
206	KD 78/2	Tütünde hipersensitivite ve Pektolitik aktivite testi pozitif vermiştir					
207	KD 79/1	189.00	8.50	5.50	+	-	0.00
208	KD 80/1	33.33	2.85	7.50	+	+	8.62
209	KD 80/2	204.00	3.19	2.00	+	-	3.09
210	KD 81/1	141.00	3.00	0.00	+	+	0.00
211	KD 81/2	312.00	5.25	0.00	+	-	0.00
212	KD 81/3	133.00	4.25	8.00	+	-	0.00
213	KD 82/1	449.00	6.00	9.50	+	-	0.00
214	KD 82/2	6.00	1.25	0.00	+	-	0.00
215	KD 83/1	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
216	KD 83/2	Tütünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
217	KD 83/3	133.00	5.25	3.00	+	-	0.00
218	KD 84/1	165.00	4.00	6.50	+	-	0.00
219	KD 84/2	Pektolitik aktivite testi pozitif vermiştir					
220	KD 84/3	343.00	10.50	5.50	+	-	0.00
221	KD 85/1	133.33	5.33	3.00	+	-	0.35
222	KD 85/2	Tütünde hipersensitivite ve Pektolitik aktivite testi pozitif vermiştir					
223	KD 85/3	134.00	5.00	5.50	+	-	0.00
224	KD 86/1	343.33	10.73	5.50	+	-	3.63
225	KD 86/2	130.00	3.25	1.00	+	+	0.00
226	KD 87/1	142.00	6.75	0.00	+	-	0.00
227	KD 87/2	249.00	2.00	0.00	+	-	0.00
228	KD 87/3	100.00	3.50	0.00	+	-	0.00
229	KD 87/4	11.00	2.25	0.00	+	-	0.00
230	KD 88/1	167.00	6.25	2.00	+	-	0.00
231	KD 88/2	311.00	4.00	1.00	+	-	0.00
232	KD 89/1	249.00	4.50	3.00	+	-	0.00
233	KD 89/2	268.00	6.00	0.00	+	-	0.00
234	KD 89/3	120.00	4.00	5.50	+	+	0.00
235	KD 90/1	203.00	1.50	1.00	+	-	0.00

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları (devam).

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme (mm)
236	KD 90/2	11.00	1.25	0.00	+	-	0.00
237	KD 91/1	191.00	8.75	4.00	+	-	0.00
238	KD 91/2	21.00	1.00	0.00	+	-	0.00
239	KD 91/3	202.67	1.53	1.00	+	-	3.27
240	KD 91/4	Pektolitik aktivite testi pozitif vermiştir					
241	KD 93/1	98.00	5.25	3.50	+	-	0.00
242	KD 93/2	187.00	2.00	3.50	+	-	0.00
243	KD 95/1	53.00	8.25	5.25	+	-	0.00
244	KD 95/2	103.00	5.00	6.25	+	-	0.00
245	KD 97/1	278.00	4.00	5.00	+	-	0.00
246	KD 98/1	136.00	3.50	6.50	+	+	0.00
247	KD 98/2	2172.67	2.23	3.50	+	-	5.23
248	KD 99/1	15.00	4.25	0.00	+	-	0.00
249	KD 100/1	75.00	4.75	7.00	+	-	0.00
250	KD 101/1	11.00	2.00	0.00	+	-	0.00
251	KD 101/2	162.00	4.75	7.50	+	+	0.00
252	KD 101/3	187.00	7.00	5.75	+	-	0.00
253	KD 102/1	152.00	4.75	6.00	+	-	0.00
254	KD 102/2	145.00	5.50	1.50	+	-	0.00
255	KD 102/3	20.00	4.00	7.00	+	-	0.00
256	KD 103/1	75.00	7.00	1.25	+	-	0.00
257	KD 103/2	191.00	6.75	2.00	+	-	0.00
258	KD 103/3	121.00	5.75	7.50	+	-	0.00
259	KD 104/1	80.00	4.50	5.00	+	-	0.00
260	KD 104/2	127.00	5.25	4.50	+	-	0.00
261	KD 104/3	127.00	5.25	4.50	+	-	0.00
262	KD 104/4	132.00	5.50	2.00	+	-	0.00
263	KD 105/1	19.33	4.27	7.00	+	-	9.95
264	KD 105/2	Pektolitik aktivite testi pozitif vermiştir					
265	KD 105/3	114.00	6.00	6.25	+	-	0.00
266	KD 106/1	70.00	5.25	0.00	+	-	0.00
267	KD 107/1	Pektolitik aktivite testi pozitif vermiştir					
268	KD 108/1	41.00	3.50	1.00	+	-	0.00
269	KD 108/2	93.00	2.25	0.00	+	-	0.00
270	KD 108/3	147.00	8.75	1.00	+	-	0.00
271	KD 108/4	367.00	5.25	0.00	+	-	0.00
272	KD 108/5	283.00	6.00	1.00	+	-	0.00
273	KD 110/1	92.00	4.75	1.75	+	-	0.00
274	KD 110/2	200.00	6.00	1.50	+	-	0.00
275	KD 112/1	Tütünde hipersensitivite ve Pektolitik aktivite testi pozitif vermiştir					

Tablo 4.5. Aday yararlı bakterilerin *in-vitro* biyokontrol testlerinin sonuçları (devam).

Sıra	Örnek No	IAA Üretimi (ppm)	Siderofor (mm)	Fosfataz Aktivitesi (mm)	ACC	HCN	Cmm engelleme (mm)
276	KD 112/2	11.00	11.75	1.75	+	-	0.00
277	KD 112/3	Tüttünde hipersensitivite testi pozitif vermiştir					
278	KD 112/4	98.00	5.00	0.00	-	-	0.00
279	KD 113/1	137.00	3.25	1.00	+	-	0.00
280	KD 113/2	389.00	3.75	2.00	+	-	0.00
281	KD 114/1	333.00	7.00	3.50	+	-	0.00
282	KD 114/2	400.00	4.00	2.00	+	-	0.00
283	KD 116/1	119.00	2.75	1.00	+	-	0.00
284	KD 116/2	5.00	6.75	5.00	+	-	0.00
285	KD 117/1	9.33	11.84	1.75	+	-	0.53
286	KD 117/2	409.00	5.00	0.00	+	-	0.00
287	KD 118/1	80.00	3.50	2.00	+	-	0.00
288	KD 118/2	282.00	4.25	8.50	+	-	0.00
289	KD 119/1	9.00	5.50	5.00	+	-	0.00
290	KD 119/2	412.00	4.75	1.00	+	-	0.00
291	KD 119/3	87.00	5.50	1.00	+	-	0.00
292	KD 120/1	420.00	3.75	1.50	+	-	0.00
293	KD 120/2	119.00	4.00	4.00	+	+	0.00
294	KD 121/1	128.00	8.00	0.00	+	-	0.00
295	KD 121/2	67.00	4.50	1.00	+	+	0.00
296	KD 122/1	80.00	4.75	1.00	+	+	0.00
297	KD 122/2	427.00	3.25	5.00	+	-	0.00
298	KD 123/1	115.00	4.25	4.00	+	-	0.00
299	KD 123/2	-0.67	5.81	5.00	+	-	2.11
300	KD 124/1	97.00	6.75	0.00	+	-	0.00
301	KD 125/1	94.00	4.25	4.75	+	+	0.00
302	KD 126/1	123.00	2.50	17.75	+	-	0.00
303	KD 127/1	118.67	3.97	4.00	+	+	1.42

4.3.7 *In-vitro* biyokontrol testleri sonuçlarına göre aday yararlı bakterilerin *in-vivo* deneme için seçimine ait bulgular

Bölüm 3.2.3.3’de belirtilmiş olan Tablo 3.25’de yer alan modifiye edilmiş tartılı derecelendirme yöntemi kullanılarak, 276 aday yararlı bakteri *in-vitro* biyokontrol testlerinden elde edilen değerler doğrultusunda puanlandırılmıştır. Bu puanlama sisteminde 50 ve üzeri almış olan 16 aday yararlı bakteri domates bitkisinde yapılan *in-vivo* biyokontrol denemesi için seçilmiştir (Tablo 4.6). En yüksek puanı 71 puan ile 56 no’lu (KD 17/2) izolat almıştır.



Tablo 4.6. *In-vitro* biyokontrol testleri sonucuna göre *in-vivo* testler için seçilen aday yararlı bakteriler ve tartılı derecelendirme puanlamaları.

No	İzolat kodu	Siderefor üretimi (mm)	Siderafor Puanlama	IAA üretimi (ppm)	IAA Puanlama	Fosfotaz aktivitesi (mm)	Fosfotaz Puan	ACC-deaminase aktivitesi	ACC Puan	HCN	Cmm engelleme (mm)	Cmm engelleme Puanlama (mm)	TOPLAM
56	KD 17/2	12.47	25	74.67	1	1.25	1	+	20	+	9.19	24	71
224	KD 86/1	10.73	20	343.33	15	5.50	2	+	20	-	3.63	12	69
121	KD 40/3	12.33	25	440.00	15	1.50	1	+	20	-	2.18	6	67
15	KD 4/6	1.79	5	183.33	6	5.50	2	+	20	-	14.28	30	63
83	KD 26/1	4.23	10	44.67	0	2.25	1	+	20	+	13.27	30	61
61	KD 19/1	10.99	15	212.67	9	7.50	4	+	20	-	3.07	12	60
247	KD 98/2	2.23	5	2172.67	15	3.50	2	+	20	-	5.23	18	60
263	KD 105/1	4.27	10	19.33	0	7.00	4	+	20	-	9.95	24	58
128	KD 42/1	8.86	15	397.33	15	0.50	0	+	20	-	1.26	6	56
21	KD 6/3	4.19	10	214.67	9	19.50	10	-	0	-	9.41	24	53
96	KD 31/1	0.00	1	30.00	0	4.75	2	+	20	+	11.43	30	53
208	KD 80/1	2.85	5	33.33	0	7.50	4	+	20	+	8.62	24	53
34	KD 10/4	2.67	5	226.67	9	1	1	+	20	-	5.48	18	53
87	KD 27/3	4.83	10	15.33	0	19.50	10	+	20	-	3.45	12	52
209	KD 80/2	3.19	10	204.00	9	2.00	1	+	20	-	3.09	12	52
65	KD 19/5	1.07	5	178.00	6	5.00	2	+	20	-	6.52	18	51
35	KD 10/5	2.41	5	251.33	12	4	2	++	20	-	4.98	12	51
76	KD 24/3	1.86	5	267.33	12	2.00	1	+	20	-	3.23	12	50

4.4 Çalışmada Kullanılan Aday Yararlı Bakterilerin *In vivo* Biyokontrol Testlerine ait Bulgular

In-vivo biyokontrol çalışmalarından önce ilk aşamada aday yararlı bakterilerin bitki üzerinde olumsuz bir etkisinin olup olmadığını belirlemek için tohum çimlenmesine yönelik vigorite testi yapılmıştır. Bu testin sonucunda çimlenme ve bitki gelişimine olumsuz izolat elenerek *in-vivo* biyokontrol etki denemesine geçilmiştir.

4.4.1 Aday yararlı bakterilerin tohum çimlenmesine etkisine ait bulgular

Bölüm 3.2.4.1’de bahsedildiği gibi %1 CMC ile kaplama yoluyla domates tohumlarına bakterizasyonu yapılan izolatlar CaSO₄ içeren çift katlı, Steril ve nemlendirilmiş kurutma kağıtlardan yapılan rulo içerisinde 7 gün boyunca çimlendirilmiştir. İki farklı deneme şekilde yapılmıştır.

1. denemeye ait elde edilen sonuçlar tek yönlü sonuçlara ait yapılan tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analiz tablosu ait bilgiler Tablo 4.7’de verilmiştir. %95 güven ile yapılan Duncan çoklu aralık testine göre hipokotil uzunluğu bakımından 42.60±28.41 mm ile 208 no’lu (KD 80/1) izolat istatistiksel açıdan en başarılı izolat bulmuştur. Radisil uzunluğu bakımından 46.01±14.96 mm ile 65 no’lu (KD 19/5) izolat istatistiksel açıdan en başarılı olduğu görülmüştür. Çimlenme yüzdesi bakımından % 100.00±0.00 ile 15 no’lu (KD 4/6) izolat istatistiksel açıdan en yüksek başarıyı göstermiştir. Vigor indeksi yönünden 7511.24 ±6761.04 ile 208 no’lu (KD 80/1) izolat ve 7485.89±2333.33 ile 65 no’lu (KD 19/5) izolat en başarılı olmuştur (Tablo 4.8).

2. denemeye ait elde edilen sonuçlar aynı şekilde tek yönlü sonuçlara ait yapılan tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analiz tablosu ait bilgiler Tablo 4.7’de verilmiştir. %95 güven ile yapılan Duncan çoklu aralık testine göre hipokotil uzunluğu bakımından 72.13±12.92 mm ile 128 no’lu (KD 42/1) izolat ve 75.00±20.70 mm ile 224 no’lu (KD 86/1) izolat istatistiksel açıdan en başarılı izolat bulmuştur.

Tablo 4.7. Çimlendirme testi için yapılan denemelerin parametrelerine ait varyans analiz tablosu.

1. deneme hipokotil uzunluğu					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	8787.7	488.20	4.1038	0.0001232 ***
Hata	38	4520.6	118.96		
1. deneme radisil uzunluğu					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	6857.3	380.96	1.9836	0.03755 *
Hata	38	7298.1	192.06		
1. deneme çimlenme yüzdesi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	21881	1215.59	1.468	0.1569
Hata	38	31467	828.07		
1. deneme vigor indeksi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	276729164	15373842	2.3265	0.01414 *
Hata	38	251110512	6608171		
2. deneme hipokotil uzunluğu					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	9983.8	554.66	1.253	0.2717
Hata	38	16820.9	442.66		
2. deneme radisil uzunluğu					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	11063	614.59	1.5307	0.1327
Hata	38	15258	401.52		
2. deneme çimlenme yüzdesi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	13404	744.64	1.5605	0.1224
Hata	38	18133	477.19		
2. deneme vigor indeksi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	454990765	25277265	1.3492	0.2137
Hata	38	711949174	25277265		
1. ve 2. deneme ortalama hipokotil uzunluğu					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	5659.5	314.42	1.9271	0.04409 *
Hata	38	6200.1	163.16		
1. ve 2. deneme ortalama radisil uzunluğu					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	5346.1	297.00	2.0829	0.02831 *
Hata	38	5418.6	142.59		
1. ve 2. deneme ortalama çimlenme yüzdesi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	12484	693.57	1.5688	0.1197
Hata	38	16800	442.11		
1. ve 2. deneme ortalama vigor indeksi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlara	18	220928808	12273823	1.733	0.07613
Hata	38	269132625	7082438		
Önemlilik dereceleri: 0 **** 0.001 *** 0.01 ** 0.05 . 0.1 ' ' 1					

Radisil uzunluğu bakımından 69.86 ± 10.90 mm ile 224 no'lu (KD 86/1) izolat ile 68.53 ± 7.43 mm ile 121 no'lu (KD 40/3) izolat istatistiksel açıdan en başarılı olduğu görölmüştür. Çimlenme yüzdesi bakımından 93.33 ± 11.54 mm ile 121 (KD 40/3), 128 (KD 42/1), 224 (KD 86/1) ve 263 (KD 105/1) istatistiksel açıdan en yüksek başarıyı göstermiştir (Tablo 4.8).



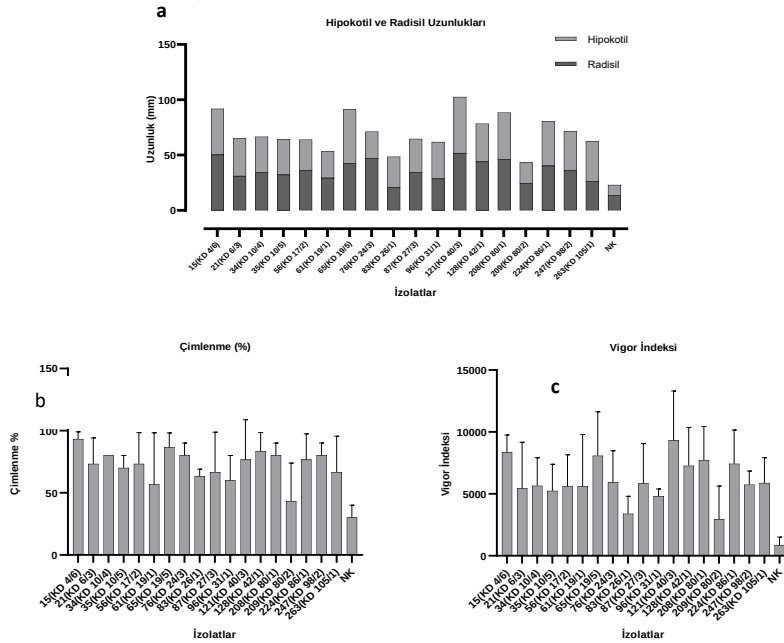
Tablo 4.8. Çimlendirme testi parametrelerinin karşılaştırılmasına ait çoklu aralık testi sonuçları.

İzolatlar	1. Deneme				2. Deneme				1. ve 2. Deneme Ortalaması			
	Hipokotil (mm)	Radisil (mm)	Çimlenme (%)	Vigor İndeksi	Hipokotil (mm)	Radisil (mm)	Çimlenme (%)	Vigor İndeksi	Hipokotil (mm)	Radisil (mm)	Çimlenme (%)	Vigor İndeksi
15(KD 4/6)	28.16 ^{abcde} ±7.07	23.67 ^{abcd} ±0.43	100.00 ^a ±0.00	5183.73 ^{abc} ±695.23	72.13 ^{ab} ±14.68	59.86 ^{ab} ±2.57	86.67 ^{ab} ±11.54	11550.66 ^a ±2956.98	50.14 ^{ab} ±8.38	41.77 ^{ab} ±1.13	93.33 ^a ±5.77	8367.20 ^{ab} ±1391.54
21(KD 6/3)	11.03 ^{def} ±8.18	16.23 ^{bcd} ±9.19	66.67 ^{abc} ±23.09	2063.86 ^{bc} ±1573.80	50.86 ^{abc} ±20.49	52.06 ^{abc} ±26.24	80.00 ^{ab} ±20.00	8832.00 ^{ab} ±5996.30	30.94 ^{abcde} ±14.11	34.15 ^{ab} ±17.38	73.33 ^{ab} ±20.81	5447.93 ^{abcd} ±3724.33
34(KD 10/4)	13.80 ^{cdef} ±4.68	22.81 ^{abcd} ±8.00	73.33 ^{abc} ±11.54	2739.14 ^{abc} ±1219.01	54.33 ^{abc} ±23.97	42.40 ^{abc} ±20.94	86.67 ^{ab} ±11.54	8562.67 ^{ab} ±4473.01	34.06 ^{abcde} ±13.69	32.60 ^{ab} ±11.78	80.00 ^{ab} ±0.00	5650.90 ^{abcd} ±2272.43
35(KD 10/5)	13.10 ^{def} ±4.61	13.53 ^{cd} ±8.21	53.33 ^{abc} ±11.54	1369.44 ^{bc} ±572.20	51.20 ^{abc} ±19.58	50.60 ^{abc} ±19.82	86.67 ^{ab} ±11.54	9125.33 ^{ab} ±4849.25	32.15 ^{abcde} ±10.20	32.06 ^{abc} ±6.67	70.00 ^{abc} ±10.00	5247.38 ^{abcd} ±2144.64
56(KD 17/2)	12.23 ^{def} ±4.61	13.05 ^{cd} ±11.23	60.00 ^{abc} ±40.00	2201.17 ^{bc} ±2850.95	60.20 ^{abc} ±9.53	42.33 ^{abc} ±4.80	86.67 ^{ab} ±11.54	8980.00 ^{ab} ±2348.70	36.21 ^{abcde} ±12.20	27.69 ^{abc} ±6.59	73.33 ^{ab} ±25.16	5590.58 ^{abcd} ±2563.16
61(KD 19/1)	10.79 ^{def} ±9.77	15.78 ^{bcd} ±12.19	46.67 ^{abc} ±30.55	1686.32 ^{bc} ±2104.61	47.60 ^{abc} ±41.33	32.26 ^{abc} ±28.04	66.67 ^{abc} ±57.73	7986.67 ^{ab} ±6916.91	29.19 ^{abcde} ±24.49	24.02 ^{bc} ±18.57	56.66 ^{abc} ±41.63	5590.58 ^{abcd} ±4200.25
65(KD 19/5)	33.74 ^{abc} ±4.58	46.01 ^a ±14.96	93.33 ^{ab} ±11.54	7485.89 ^a ±2333.33	51.13 ^{abc} ±14.75	51.60 ^{abc} ±20.50	80.00 ^{ab} ±20.00	8686.67 ^{ab} ±4948.63	42.44 ^{abcd} ±9.59	48.80 ^a ±17.68	86.67 ^a ±11.54	8086.28 ^{abc} ±3542.38
76(KD 24/3)	39.81 ^{ab} ±12.95	21.98 ^{abcd} ±8.17	80.00 ^{abc} ±0.00	4943.89 ^{abc} ±1039.59	53.93 ^{abc} ±21.34	26.80 ^{bc} ±17.91	80.00 ^{ab} ±20.00	6914.67 ^{ab} ±4281.04	46.87 ^{abc} ±15.94	24.39 ^{bc} ±13.02	80.00 ^{ab} ±10.00	5929.28 ^{abcd} ±2550.45
83(KD 26/1)	9.16 ^{ef} ±2.77	14.57 ^{cd} ±1.32	53.33 ^{abc} ±11.54	1276.88 ^{bc} ±404.52	32.46 ^{bc} ±17.35	40.93 ^{abc} ±19.55	73.33 ^{abc} ±23.09	5513.33 ^{ab} ±3231.86	20.81 ^{de} ±7.45	27.75 ^{abc} ±9.17	63.33 ^{abc} ±5.77	3395.10 ^{bcd} ±1415.80
87(KD 27/3)	3.47 ^f ±4.22	7.04 ^{cd} ±6.60	46.67 ^{abc} ±41.63	772.94 ^{bc} ±861.92	64.93 ^{ab} ±19.46	53.86 ^{ab} ±25.20	86.67 ^{ab} ±23.09	10925.33 ^a ±5817.61	34.20 ^{abcde} ±11.53	30.45 ^{abc} ±14.82	66.67 ^{abc} ±32.14	5849.14 ^{abcd} ±3211.42
96(KD 31/1)	5.91 ^f ±6.24	13.88 ^{cd} ±13.39	40.00 ^{bc} ±40.00	1314.10 ^{bc} ±1626.89	51.26 ^{abc} ±5.30	52.66 ^{abc} ±17.61	80.00 ^{ab} ±0.00	8314.67 ^{ab} ±1561.15	28.59 ^{abcde} ±4.86	33.27 ^{ab} ±6.39	60.00 ^{abc} ±20.00	4814.38 ^{abcd} ±574.46
121(KD 40/3)	30.96 ^{abcd} ±20.50	33.62 ^{abc} ±28.34	60.00 ^{abc} ±52.91	5518.18 ^{ab} ±5603.04	72.13 ^{ab} ±12.92	68.53 ^a ±7.43	93.33 ^a ±11.54	13128.00 ^a ±2432.75	51.54 ^a ±15.26	51.08 ^a ±14.40	76.67 ^{ab} ±32.14	9323.09 ^a ±3980.85
128(KD 42/1)	12.79 ^{def} ±8.73	15.87 ^{bcd} ±11.43	73.33 ^{abc} ±23.09	2378.00 ^{bc} ±2233.69	75.20 ^a ±16.76	52.93 ^{ab} ±16.80	93.33 ^a ±11.54	12169.33 ±4294.43	43.99 ^{abcd} ±12.72	34.40 ^{ab} ±11.85	83.33 ^{ab} ±15.27	7273.66 ^{abc} ±3077.48
208(KD 80/1)	42.60 ^a ±28.41	41.59 ^{ab} ±32.38	80.00 ^{abc} ±20.00	7511.24 ^a ±6761.04	49.20 ^{abc} ±20.78	43.46 ^{abc} ±28.87	80.00 ^{ab} ±20.00	7960.00 ^{ab} ±6075.62	45.90 ^{abcd} ±6.24	42.52 ^{ab} ±13.94	80.00 ^{ab} ±10.00	7735.62 ^{abc} ±2711.82
209(KD 80/2)	2.88 ^f ±1.85	7.69 ^{cd} ±4.88	40.00 ^{bc} ±20.00	512.42 ^{bc} ±480.89	45.93 ^{abc} ±41.57	30.20 ^{abc} ±26.76	46.67 ^{bc} ±41.63	5372.00 ^{ab} ±4916.49	24.40 ^{cde} ±21.71	18.94 ^{bc} ±15.21	43.33 ^{bc} ±30.55	2942.21 ^{cd} ±2686.51
224(KD 86/1)	5.46 ^f ±6.90	10.96 ^{cd} ±8.09	60.00 ^{abc} ±34.64	1331.97 ^{bc} ±1769.13	75.00 ^a ±20.70	69.86 ^a ±10.90	93.33 ^a ±11.54	13540.00 ^a ±3672.43	40.23 ^{abcd} ±13.57	40.41 ^{ab} ±9.22	76.67 ^{ab} ±20.81	7435.98 ^{abc} ±2720.70
247(KD 98/2)	20.44 ^{bcdef} ±9.03	26.90 ^{abcd} ±18.57	86.67 ^{ab} ±11.54	4198.77 ^{abc} ±2594.58	51.80 ^{abc} ±12.28	44.46 ^{abc} ±30.76	73.33 ^{abc} ±11.54	7282.67 ^{ab} ±3966.93	36.12 ^{abcde} ±1.66	35.68 ^{ab} ±6.88	80.00 ^{ab} ±10.00	5740.72 ^{abcd} ±1103.30
263(KD 105/1)	5.23 ^f ±9.05	10.24 ^{cd} ±14.36	40.00 ^{bc} ±52.91	1439.00 ^{bc} ±2422.44	47.13 ^{abc} ±5.55	62.00 ^{ab} ±15.29	93.33 ^a ±11.54	10320.00 ^a ±2989.04	26.18 ^{bcde} ±5.62	36.12 ^{ab} ±9.07	66.67 ^{abc} ±28.86	5879.50 ^{abcd} ±2035.67
Negatif Kontrol	3.58 ^f ±1.83	5.84 ^d ±4.29	26.67 ^c ±11.54	295.02 ^c ±298.91	23.26 ^c ±20.40	13.37 ^c ±5.96	33.33 ^c ±11.54	1416.41 ^b ±1115.97	13.42 ^e ±10.33	9.61 ^c ±4.16	30.00 ^c ±10.00	855.72 ^d ±655.63

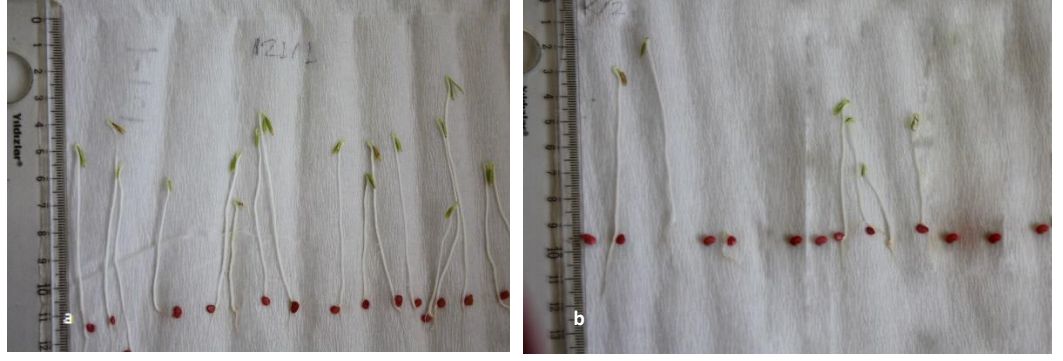
*Duncan çoklu aralık testinde aynı half değerini alan ortalamalar arasındaki fark %95'e göre istatistiksel açıdan önemsizdir

2. deneme vigor indeksi yönünden incelendiğinde; 13540.00±3672.43 ile 224 no'lu (KD 86/1) izolat, 13128.00±2432.75 ile 121 no'lu (KD 40/3) izolat, 12169.33±4294.43 ile 128 no'lu (KD 42/1) izolat, 11550.66±2956.98 ile 15 no'lu (KD 4/6) izolat, 10925.33±5817.61 ile 87 no'lu (KD 27/3) izolat ve 10320.00±2989.04 ile 263 no'lu (KD 105/1) izolatlar istatistiksel açıdan en başarılı olmuştur (Tablo 4.8).

1. ve 2. deneme verilerinin ortalaması alınarak elde edilen veriler de tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Varyans analiz tablosu ait bilgiler Tablo 4.7'de verilmiştir. %95 güven ile yapılan Duncan çoklu aralık testine göre göre hipokotil uzunluğu bakımından 51.54±15.26 mm ile 121 no'lu (KD 40/3) izolat istatistiksel açıdan en başarılı izolat bulmuştur. Radisil uzunluğu bakımından istatistiksel açıdan 51.08±14.40 mm ile 121 no'lu (KD 40/3) izolat en başarılı olduğu görülmüştür. Çimlenme yüzdesi bakımından % 93.33±5.77 ile 15 no'lu (KD 4/6) izolat istatistiksel açıdan en yüksek başarıyı göstermiştir. Vigor indeksi yönünden 9323.09±3980.85 ile 121 no'lu (KD 40/3) izolat en başarılı olmuştur (Tablo 4.8) (Şekil 4.29) (Şekil 4.30).



Şekil 4.29. 1 ve 2. denemelerin ortalamasına ait değerlendirme parametrelerine ait grafikler a) hipokotil ve radisil uzunluklar b) çimlenme %'si c) vigor indeksi.



Şekil 4.30. 1 ve 2. denemelerin değerlendirme parametreleri sonucunda en başarılı çıkan a) 121 no'lu (KD 40/3) izolat ve b) Negatif kontrol ile karşılaştırılması

Bu çalışmanın sonunda bütün değerlendirme parametrelerinde, aday antagonist bakterilerin hepsi negatif kontrole göre istatistiksel açıdan başarılı görülmüştür. Böylece, *in-vivo* biyokontrol çalışmasına hiçbir eleme yapmadan 18 izolat ile devam edilmiştir.

4.4.2 Aday yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı *in vivo* biyokontrol etkilerine ait bulgular

İzole edilen aday yararlı bakteri izolatları *in-vitro* biyokontrol testlerindeki performansları ve biyokontrol çalışmasında önemsenen parametreler ve çimlenme testinde herhangi bir olumsuz etkisi saptanmayan 18 izolat ile *in vivo* koşullarda biyokontrol testi yapılmıştır. Bölüm 3.2.4.2'de bahsedilen protokole göre en yüksek virulenslikte olduğu tespit edilen bakteriyoloji laboratuvaru stok kültüründeki 224 no'lu Cmm izolatı ile inokulasyon gerçekleştirilmiştir. Cmm inokulasyonundan 21. gün sonra 0–4 skalasına göre hastalık şiddeti değerlendirilmiştir.

Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi ve çoklu aralık testi olarak Duncan ile değerlendirilmiştir.

Tablo 4.9. Cmm'ye karşı yapılan *in-vivo* biyokontrol denemelerine ait varyans analiz tabloları.

2					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlar	19	68295	3594.5	7.4156	1.794×10^{-14} ***
Hata	175	84826	484.7		
2. deneme <i>in-vivo</i> biyokontrol testi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlar	19	141003	7421.2	9.4817	2.2×10^{-16} ***
Hata	174	136188	782.7		
1. ve 2. deneme ortalamasına ait <i>in-vivo</i> biyokontrol testi					
	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlar	19	128284	6751.8	8.2461	2.2×10^{-16} ***
Hata	369	302134	818.8		
Önemlilik dereceleri: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

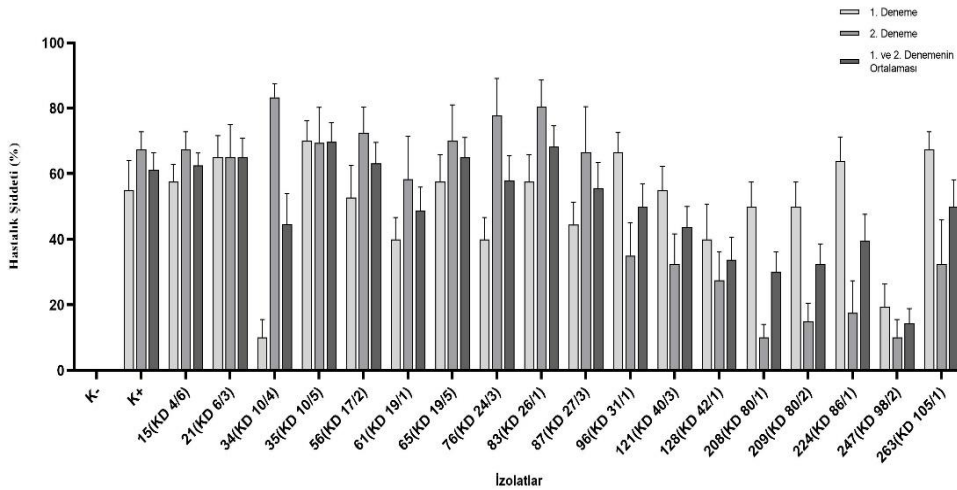
Tablo 4.10. Cmm'ye karşı yapılan *in-vivo* biyokontrol denemelerine ait duncan çoklu aralık testi ve abbott % etki sonuçları.

İzolatlar	1. deneme		2. deneme		1. ve 2. denemenin ortaması	
	Hastalık Şiddeti (%)	Etki (%)	Hastalık Şiddeti (%)	Etki (%)	Hastalık Şiddeti (%)	Etki (%)
K-	0.00±0.00 a	100.00	0.00±0.00 a	100.00	0.00±0.00 a	100.00
K+	55.00±8.97 cde	0.00	67.50±5.33 d	0.00	61.25±5.27 ef	0.00
15(KD 4/6)	57.50±5.33 cde	-4.55	67.50±5.33 d	0.00	62.50±3.84 ef	-2.04
21(KD 6/3)	65.00±6.67 de	-18.18	65.00±10.00 d	3.70	65.00±5.84 ef	-6.12
34(KD 10/4)	10.00±5.53 a	81.82	83.33±4.16 d	-23.45	44.73±9.28 cde	26.97
35(KD 10/5)	70.00±6.24 e	-27.27	69.44±10.84 d	-2.87	69.73±5.91 f	-13.84
56(KD 17/2)	52.78±9.72 cde	4.04	72.50±7.86 d	-7.41	63.15±6.44 ef	-3.10
61(KD 19/1)	40.00±6.67bc	27.27	58.33±13.17 cd	13.59	48.68±7.27 cdef	20.52
65(KD 19/5)	60.00±5.52 cde	-4.55	70.00±11.05 d	-3.70	65.00±6.12 ef	-6.12
76(KD 24/3)	40.00±6.67 bc	27.27	77.77±11.36 d	-15.21	57.89±7.65 def	5.49
83(KD 26/1)	57.50±8.37 cde	-4.55	80.56±8.09 d	-19.35	68.42±6.29 f	-11.71
87(KD 27/3)	44.44± 6.94 cd	19.20	66.67±13.81 d	1.23	55.55±7.97 def	9.31
96(KD 31/1)	66.67±5.89 de	-21.22	35.00±10.00 bc	48.15	50.00±6.89 cdef	18.37
121(KD 40/3)	55.00±7.26 cde	0.00	32.50±9.16 bc	51.85	43.75±6.25 cde	28.57
128(KD 42/1)	40.00±10.67bc	27.27	27.50±8.70 ab	59.26	33.75±6.85 bc	44.90
208(KD 80/1)	50.00±7.45 cde	9.09	10.00±4.08 ab	85.19	30.00±6.17 bc	51.02
209(KD 80/2)	50.00±7.45 cde	9.09	15.00±5.52 ab	77.78	32.50±6.04 bc	46.94
224(KD 86/1)	63.89±7.34 de	-16.16	17.50±9.89 ab	74.07	39.47±8.18 cd	35.56
247(KD 98/2)	19.44±6.94 ab	64.65	10.00±5.52 ab	85.19	14.47±4.40 ab	76.38
263(KD 105/1)	67.50±5.34 de	-22.73	32.50±13.46 bc	51.85	50.00±8.11 cdef	18.37

*Duncan çoklu aralık testinde aynı half değerini alan ortalamalar arasındaki fark %95 güvenle istatistiksel açıdan önemsizdir

1. *in-vivo* biyokontrol denemesinde elde edilen veriler doğrultusunda yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda, izolatlar arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($P<0.001$) (Tablo 4.9). İzolatlar arasındaki hastalık şiddetini karşılaştırmak için %95 güven ile yapılan duncan çoklu aralık testine göre 10.00 ± 5.53 hastalık şiddeti ile 34 no'lu (KD 10/4) izolat istatistiksel açıdan en başarılı olmuştur. Daha sonra ardından 19.44 ± 6.94 hastalık şiddeti ile 247 no'lu (KD 98/2) izolatın başarılı olduğu görülmüştür. Bu iki izolat arasında fark istatistik olarak düşük düzeyde önemlidir (Tablo 4.10) (Şekil 4.31).

2. *in-vivo* biyokontrol denemesinde elde edilen veriler doğrultusunda yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda, izolatlar arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($P<0.001$) (Tablo 4.9). Karşılaştırmak için %95 güven ile yapılan duncan çoklu aralık testi sonucunda 10.00 ± 5.52 hastalık şiddeti ile 247 no'lu (KD 98/2), 10.00 ± 4.08 hastalık şiddeti ile 208 no'lu (KD 80/1) izolat, 15.00 ± 5.52 hastalık şiddeti ile 209 no'lu (KD 80/2) izolat, 17.50 ± 9.89 hastalık şiddeti ile 224 no'lu (KD 86/1) izolat ve 27.50 ± 8.70 hastalık şiddeti ile 128 no'lu (KD 42/1) izolat istatistik açıdan başarılı olduğu görülmüştür. Bu izolatların hastalık şiddetleri arasındaki istatistiksel açıdan farkın önemsiz olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.10) (Şekil 4.31).



Şekil 4.31. *In-vitro* biyokontrol 1. deneme, 2. deneme ve 1. ve 2. denemenin ortalamasının ait hastalık şiddetlerine yönelik grafik.



Şekil 4.32. 1. ve 2. denemenin ortalaması sonucunda en başarılı olan a) 247 no'lu izolat b) 208 no'lu izolat c)negatif kontrol ve d)pozitif kontrol'e ait görüntüler.

1. ve 2. *in-vivo* biyokontrol testlerden elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiş olup izolatlar arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Karşılaştırma amacıyla %95 güven ile yapılan duncan çoklu aralık testi sonucunda % 14.47 ± 4.40 hastalık şiddeti ile 247 no'lu izolatın en başarılı olduğu görülmüştür. Daha sonra % $30,00\pm6,17$ ile 208 no'lu (KD 80/1) izolat, % $32,50\pm6,04$ hastalık şiddeti ile 209 no'lu (KD 80/2) izolat ve %

33,75±6,85 hastalık şiddeti ile 128 no'lu (KD 42/1) izolatın başarılı oldukları görülmüştür. Bu izolatların hastalık şiddetleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz olup, 247 no'lu izolat ile arasındaki fark istatistiksel açıdan düşük düzeyde önemlidir (Tablo 4.10) (Şekil 4.31) (Şekil 4.32).

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda en başarılı bulunan 274 no'lu (KD 98/2) ve 208 no'lu (KD 80/1) izolatlar kolonizasyon çalışmasında ve sera koşullarında biyokontrol ve verime etki çalışmalarında kullanılmak üzere seçilmiştir.

4.4.3 Aday yararlı bakterilerin Cmm baskısı altında *in-vivo* bitki gelişimine etkisine yönelik bulgular

In-vivo biyokontrol denemelerinin değerlendirme aşamasında, ayrıca, aday yararlı bakterilerin patojen Cmm baskısı altında bitki gelişimine olası etkileri de değerlendirmeye alınmıştır. Bunun için; bitkilerde, kök ve toprak üstü aksam ayrılarak yaş ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra bitki örnekleri 65°C'a ayarlı etüvde sabit ağırlığa ulaşmaya kadar tutulduktan sonra kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonra yaş ve kuru ağırlık değerleri üzerinden kuru madde oranı elde edilmiştir. Elde edilen veriler tek yönlü varyans analizi ve çoklu karşılaştırma testi Duncan ile değerlendirilmiştir.

Tablo 4.11. Cmm'ye karşı yapılan *in-vivo* biyokontrol denemesinin bitki gelişimine etkisine ait varyans analiz tabloları.

Yeşil Aksam	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlar	19	1543.3	81.228	4.0074	4.375×10 ⁻⁷ ***
Hata	169	3425.5	20.269		
Kök	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlar	19	13019	685.23	2.0114	0.01014 *
Hata	169	57572	340.66		
Toplam	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
İzolatlar	19	15882	835.90	2.0652	0.00791 **
Hata	169	68405	404.76		
Önemlilik dereceleri: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

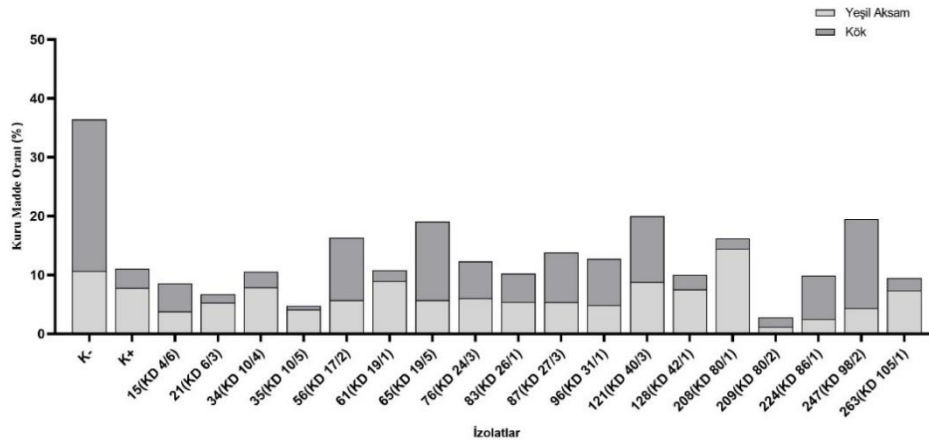
Tablo 4.12. Cmm'ye karşı yapılan *in-vivo* biyokontrol denemesinin bitki gelişimine etkisine ait duncan çoklu aralık testi ve abbott % etki sonuçları.

İzolot No	Yeşil Aksam Kuru Madde Oranı(%)	Yeşil Aksam Kuru Madde Oranı K ⁺ a göre % Etki	Kök Kuru Madde Oranı(%)	Kök Kuru Madde Oranı K ⁺ a göre % Etki	Toplam Kuru Madde Oranı(%)	Gövde Kuru Madde Oranı K ⁺ a göre % Etki
15(KD 4/6)	3.79 ^{def} ±0.83	-51.47	4.82 ^{bcd} ±1.51	47.85	8.62 ^{bc} ±1.59	-22.13
21(KD 6/3)	5.31 ^{cdef} ±1.97	-32.01	1.39 ^{bcd} ± 0.57	-57.36	2.08 ^{bc} ±1.08	-81.21
34(KD 10/4)	7.90 ^{bcd} ±0.72	1.15	2.70 ^{bcd} ±1.27	-17.18	10.62 ^{bc} ±1.46	-4.07
35(KD 10/5)	4.17 ^{cdef} ±0.56	-46.61	0.59 ^c ±0.23	-81.90	1.40 ^c ±1.16	-87.35
56(KD 17/2)	5.75 ^{cdef} ±0.75	-26.38	10.54 ^{abc} ±1.91	223.31	16.29 ^{ab} ±2.36	47.15
61(KD 19/1)	8.93 ^{bc} ± 1.10	14.34	1.88 ^{bcd} ±4.14	-42.33	8.04 ^{bc} ±3.69	-27.37
65(KD 19/5)	5.72 ^{cdef} ±0.75	-26.76	13.36 ^{ab} ±2.55	309.82	19.09 ^{ab} ±2.36	72.45
76(KD 24/3)	6.06 ^{bcd} ±0.68	-22.41	6.27 ^{abcd} ±1.96	92.33	12.34 ^{bc} ±1.92	11.47
83(KD 26/1)	5.44 ^{cdef} ±1.41	-30.35	4.81 ^{bcd} ±2.23	47.55	10.25 ^{bc} ±2.51	-7.41
87(KD 27/3)	5.38 ^{cdef} ±1.14	-31.11	8.41 ^{abcd} ± 3.01	157.98	13.81 ^{ab} ±3.76	24.75
96(KD 31/1)	4.89 ^{cdef} ±0.59	-37.39	7.85 ^{abcd} ±3.47	140.80	12.75 ^{bc} ±3.54	15.18
121(KD 40/3)	8.79 ^{bcd} ±1.20	12.55	11.18 ^{abc} ±2.23	242.94	19.97 ^{ab} ±2.86	80.40
128(KD 42/1)	7.60 ^{bcd} ±0.44	-2.69	2.43 ^{bcd} ±1.52	-25.46	10.02 ^{bc} ±1.34	-9.49
208(KD 80/1)	14.52 ^a ±4.27	85.92	1.70 ^{bcd} ±3.28	-47.85	11.82 ^{bc} ±4.22	6.78
209(KD 80/2)	1.27 ^f ±1.16	-83.74	1.50 ^{bcd} ±3.49	-53.37	2.24 ^{bc} ±1.39	-79.77
224(KD 86/1)	2.55 ^{ef} ±1.74	-67.35	7.38 ^{abcd} ±2.24	126.38	9.94 ^{bc} ±3.15	-10.21
247(KD 98/2)	4.36 ^{cdef} ±0.43	-44.17	15.13 ^{ab} ±1.64	364.11	19.51 ^{ab} ±1.75	76.24
263(KD 105/1)	7.43 ^{bcde} ±0.89	-4.87	2.01 ^{bcd} ±2.37	-38.34	7.39 ^{bc} ±2.41	-33.24
K-	10.67 ^{ab} ±2.23	36.62	25.71 ^a ±7.02	688.65	36.37 ^a ±8.81	228.55
K+	7.81 ^{bcd} ±0.94	0.00	3.26 ^{bcd} ±1.28	0.00	11.07 ^{bc} ±1.63	0.00

*Duncan çoklu aralık testinde aynı harf değerini alan ortalamalar arasındaki fark %95 güvenle istatistiksel açıdan önemsizdir

Tablo 4.11'e belirtilen varyans analiz tablosuna göre izolatlar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli görülmüştür.

Tablo 4.12'de yer alan Duncan çok aralık testi sonuçlarına bakıldığında yeşil aksam kuru madde oranında 14.52 ± 4.27 kuru madde oranı ve 85.92 etki ile 208 no'lu (KD 80/1) istatistiksel açıdan en fazla başarıyı göstermiştir. Kök kuru madde oranına baktığımız zaman 15.13 ± 1.64 kuru madde oranı ve 364.11 etki ile 247 no'lu (KD 98/2) izolat ve 13.36 ± 2.55 kuru madde oranı ve 309.82 etki ile 65 no'lu (KD 19/5) izolat istatistiksel açıdan en yüksek başarıyı göstermiştir. Toplam kuru madde oranına bakıldığında ise 19.97 ± 2.86 kuru madde oranı ve 80.40 etki ile 121 no'lu (KD 40/3) izolat, 19.51 ± 1.75 kuru madde oranı ve 76.24 etki ile 247 no'lu (KD 98/2) izolat, 19.09 ± 2.36 kuru madde oranı ve 72.45 etki ile 65 no'lu (KD 19/5) ve 16.29 ± 2.36 kuru madde oranı ve 47.15 56 no'lu (KD 17/2) izolatlara en fazla başarıyı göstermiştir (Şekil 4.31).

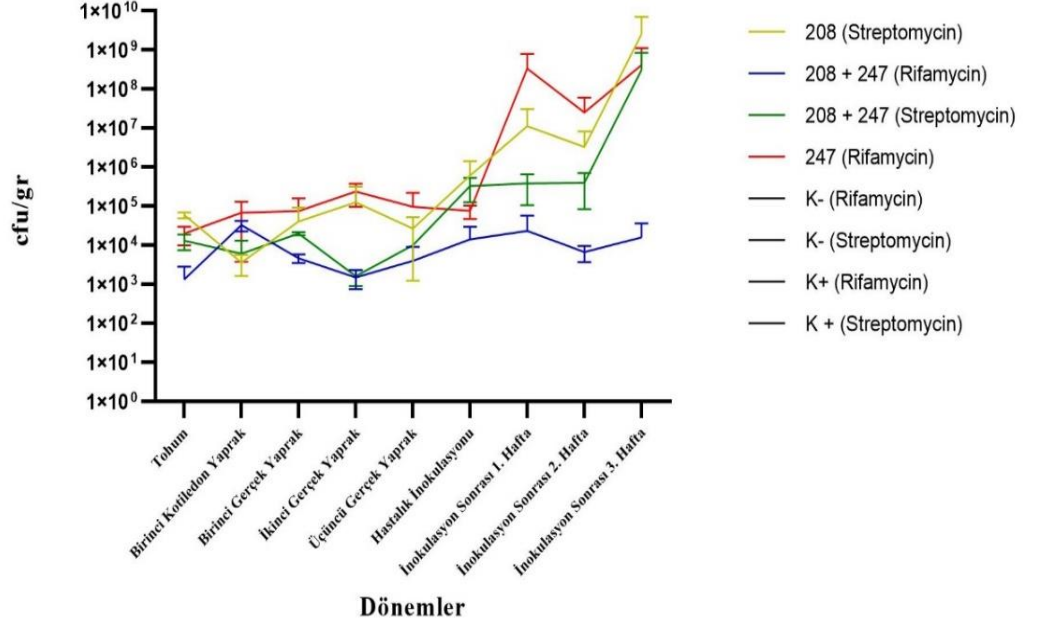


Şekil 4.33. İzolatların Cmm baskısı altında bitki biyomassına olan etkisi.

4.5 Yararlı Bakterilerin ve Cmm'nin Bitki İçerisinde Kolonizasyonuna Yönelik Bulgular

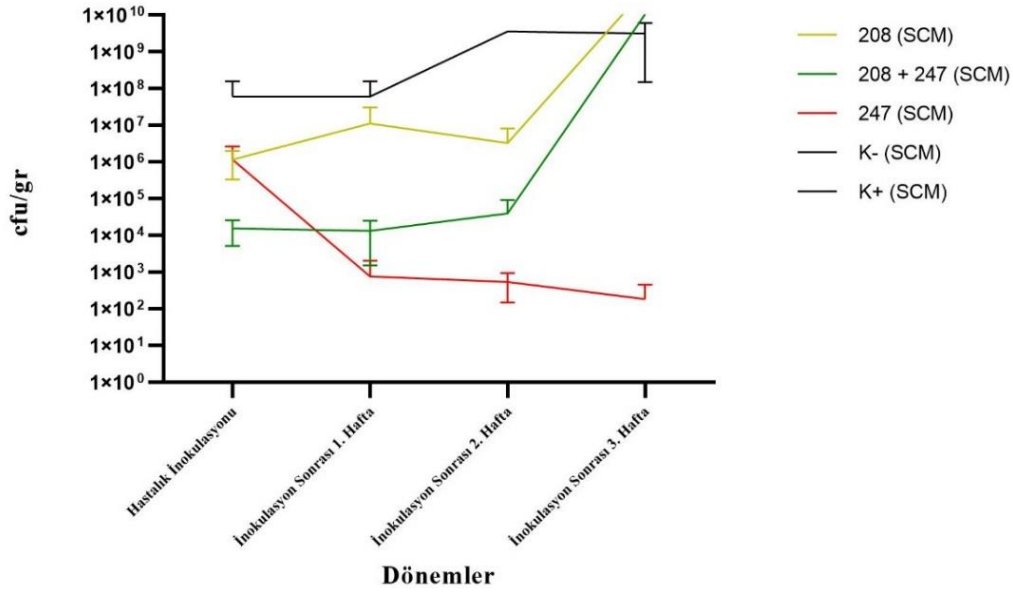
In-vivo testler sonucunda Cmm'ye karşı en etkili bulunan 208 no'lu (KD 80/1) ve 247 no'lu (KD 98/2) izolatlara ve bunların kombinasyonunun kolonizasyonu incelenmiştir. Domates bitkisinin tohum içerisinde yararlı bakterinin belirlenmesi, bölüm 3.2.5'de belirtildiği şekilde kotiledon yapraklı dönem, birinci gerçek yapraklı dönem, ikinci gerçek yapraklı dönem, üçüncü gerçek yapraklı

dönem, hastalık inokulasyonunun yaptığı dönem, hastalık inokulasyonundan sonraki 1. Haftalık, 2. Haftalık ve 3. Haftalık dönemlerin değerlendirilmesi yapılmıştır.



Şekil 4.34.. Yararlı bakterilerin kolonizasyon durumuna ait grafik.

Tohum bakterizasyonu sırasında tohum üzerindeki bakteri kolonizasyonu değerlendirildiğinde 208 (KD 80/1) no'lu uygulamada bitki başına ortalama $6,00 \times 10^4$ cfu/gr, 247(KD 98/2) no'lu uygulamada bitki başına ortalama $2,00 \times 10^3$ cfu/gr görülmüştür. 208 (KD 80/1) + 247 (KD 98/2) no'lu uygulamalar da 208 (KD 80/1) izolatu bitki başına $1,30 \times 10^4$ cfu/gr 247 (KD 98/2) no'lu izolat ise bitki başına ortalama $1,30 \times 10^3$ cfu/gr olduğu tespit edilmiştir. Hastalık sonrası 3. Hafta uygulamasına ise 208 (KD 80/1) no'lu uygulamada bitki başına ortalama $2,61 \times 10^9$ cfu/gr, 247 (KD 98/2) no'lu uygulamada bitki başına ortalama $2,14 \times 10^8$ cfu/gr görülmüştür. 208 (KD 80/1) + 247 (KD 98/2) no'lu uygulamalar da 208 (KD 80/1)izolatı bitki başına $3,11 \times 10^8$ cfu/gr 247 (KD 98/2) no'lu izolat ise bitki başına ortalama $1,61 \times 10^4$ cfu/gr olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.34) (Tablo 4.13).



Şekil 4.35. Cmm'nin kolonizasyonu.

Cmm'in uygulamalara karşı kolonizasyonunu değerlendirdiğimizde; hastalık inokulasyonu sırasında 247 (KD 98/2) no'lu uygulamada bitki başına $1,17 \times 10^6$ cfu/gr, 208 (KD 80/1) no'lu uygulamada bitki başına $1,18 \times 10^6$ cfu/gr, 208 (KD 80/1) +247 (KD 98/2) kombinasyonu uygulamasında bitki başına $1,57 \times 10^4$ cfu/gr ve pozitif kontrol $2,69 \times 10^5$ cfu/gr olduğu görülmüştür. Hastalık sonrası 3. Hafta uygulamasına ise 247 (KD 98/2) no'lu uygulamada bitki başına $1,87 \times 10^2$ cfu/gr, 208 no'lu uygulamada bitki başına $5,13 \times 10^8$ cfu/gr, 208 (KD 80/1) +247 (KD 98/2) kombinasyonu uygulamasında bitki başına $1,05 \times 10^6$ cfu/gr ve pozitif kontrol $3,16 \times 10^{10}$ cfu/gr olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.35) (Tablo 4.14).

Tablo 4.13. Yararlı bakterilerin bitki içerisindeki kolonizasyonuna dair sonuçlar.

İzolatlar	Tohum (cfu/tohum)	1.Kotiledon Yapraklı Dönem (cfu/gr)	1.Gercek Yapraklı Dönem (cfu/gr)	2.Gercek Yapraklı Dönem (cfu/gr)	3.Gercek Yapraklı Dönem (cfu/gr)	Hastalık İnokulasyonu (cfu/gr)	İnokulasyon sonrası 1. Hafta (cfu/gr)	İnokulasyon sonrası 2. Hafta (cfu/gr)	İnokulasyon sonrası 3. Hafta (cfu/gr)
K- (streptomycin)	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ c
K- (rifamycin)	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ c
K+ (streptomycin)	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ c
K+ (rifamycin)	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ d	$0,00 \times 10^0$ c
208 (streptomycin)	$6,00 \times 10^4$ a	$3,63 \times 10^3$ ab	$4,14 \times 10^4$ ab	$1,28 \times 10^5$ a	$2,70 \times 10^4$ ab	$6,12 \times 10^5$ a	$1,13 \times 10^7$ b	$3,32 \times 10^6$ b	$2,61 \times 10^9$ a
247 (rifamycin)	$2,00 \times 10^3$ a	$6,84 \times 10^4$ a	$7,63 \times 10^4$ a	$2,40 \times 10^5$ b	$9,68 \times 10^4$ a	$7,69 \times 10^4$ b	$3,36 \times 10^8$ a	$2,52 \times 10^7$ a	$2,14 \times 10^8$ a
208+247 (rifamycin)	$1,30 \times 10^3$ b	$3,29 \times 10^4$ a	$4,68 \times 10^3$ b	$1,52 \times 10^3$ c	$4,00 \times 10^3$ c	$1,42 \times 10^4$ c	$2,35 \times 10^4$ c	$6,71 \times 10^3$ c	$1,61 \times 10^4$ b
208+247 (streptomycin)	$1,30 \times 10^4$ a	$1,12 \times 10^3$ b	$2,01 \times 10^4$ ab	$1,62 \times 10^3$ c	$1,00 \times 10^4$ b	$1,57 \times 10^4$ a	$3,36 \times 10^8$ b	$4,02 \times 10^5$ b	$3,11 \times 10^8$ a

*Duncan çoklu aralık testinde aynı half değerini alan ortalamalar arasındaki fark %95 güvenle istatistiksel açıdan önemsizdir

Tablo 4.14. Cmm'in bitki içerisindeki kolonizasyonuna dair sonuçlar

İzolatlar	Tohum (cfu/tohum)	1.Kotiledon Yapraklı Dönem (cfu/gr)	1.Gercek Yapraklı Dönem (cfu/gr)	2.Gercek Yapraklı Dönem (cfu/gr)	3.Gercek Yapraklı Dönem (cfu/gr)	Hastalık İnokulasyonu (cfu/gr)	İnokulasyon sonrası 1. Hafta (cfu/gr)	İnokulasyon sonrası 2. Hafta (cfu/gr)	İnokulasyon sonrası 3. Hafta (cfu/gr)
208 (scm)	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$1,18 \times 10^6$ a	$7,75 \times 10^4$ ab	$1,25 \times 10^6$ ab	$5,13 \times 10^8$ a
247 (scm)	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$1,17 \times 10^6$ ab	$7,72 \times 10^2$ bc	$5,50 \times 10^2$ b	$1,87 \times 10^2$ b
208+247 (scm)	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$1,57 \times 10^4$ b	$1,34 \times 10^4$ ab	$3,98 \times 10^4$ ab	$1,05 \times 10^6$ ab
K+ (scm)	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$2,69 \times 10^5$ ab	$6,12 \times 10^7$ a	$3,67 \times 10^9$ a	$3,16 \times 10^{10}$ a
K- (scm)	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ a	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c	$0,00 \times 10^0$ c

*Duncan çoklu aralık testinde aynı half değerini alan ortalamalar arasındaki fark %95 güvenle istatistiksel açıdan önemsizdir

4.6 Sera Koşullarında Yararlı Bakterilerin Biyokontrol ve Verime Olan Etkisine Yönelik Bulgular

Tez çalışması kapsamında, yararlı bakterilerin biyokontrol ve verime yönelik etkilerini belirlemek üzere serada üç farklı deneme kurulmuştur. Cmm'in tehlikeli bir patojen olması ve toprakta uzun süre yaşayabilmesinden dolayı çevreye zarar vermemek için denemeler arazi yerine Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Seralarında bulunann topraksız tarım ünitelerinde gerçekleştirilmiştir.

4.6.1 Sera koşullarında gerçekleştirilen birinci denemeye yönelik bulgular

Birinci deneme, 06.12.2020 tarihinde kurulmuştur. Yararlı bakteriler tohum bakterizasyonu şeklinde uygulanmıştır. Daha sonra bitkiler 3 gerçek yapraklı döneme geldikleri zaman kök daldırma şeklinde Cmm-224 izolatu uygulanmıştır. Hastalık inokulasndan 3 hafta sonra, fideler seraya alınarak perlit dolu saksılara dikilmiştir. Denemede hastalık çıkışı meydana gelmiştir. 25.11.2020 tarihinde ilk hastalık değerlendirilmesi yapılmıştır.

4.6.1.1 Birinci denemede biyokontrol etkisine yönelik bulgular

12. hafta boyunca her hafta hastalık şiddeti 0-4 skası ile değerlendirilmiş olup elde edilen skala değerleri Townsend-Heurberger formülü ile % hastalık şiddetine dönüştürülmüştür. % Hastalık şiddeti sonuçları tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkı karşılaştırmak için %95 güven ile çoklu aralık testi DUNCAN'dan yararlanılmıştır.

Tek yönlü varyans analizi sonucunda bütün haftalarda uygulamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.15).

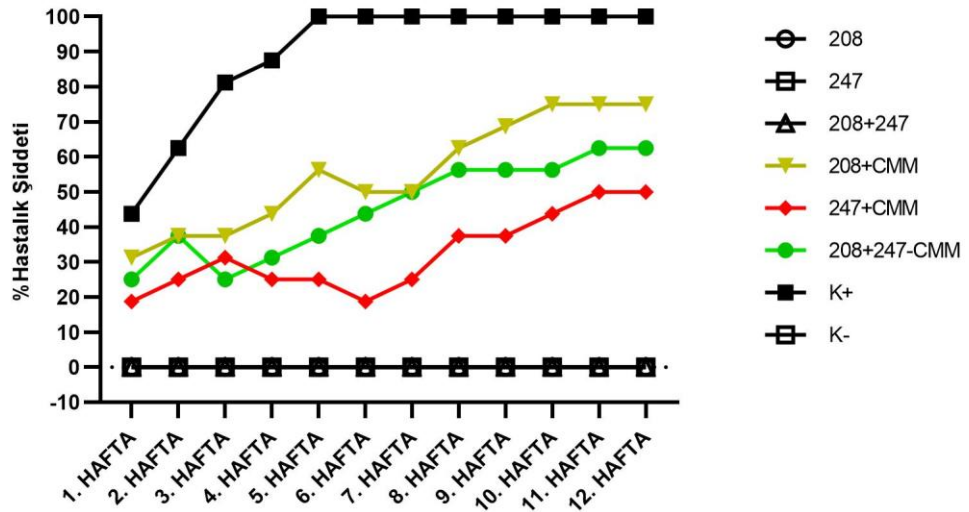
Tablo 4.15. Serada yapılan birinci denemenin biyokontrol etkisinde elde edilen % hastalık şiddetlerine yönelik yapılan varyans analiz tablosu.

1. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	8418.0	1202.57	3.7697	0.006787 **
Hata	24	7656.2	319.01		
2. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	16172	2310.27	5.9143	0.0004474 ***
Hata	24	9375	390.62		
3. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	23125.0	3303.6	8.7488	2.463×10 ⁻⁵ ***
Hata	24	9062.5	377.6		
4. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	27109	3872.8	8.0386	4.796×10 ⁻⁵ ***
Hata	24	11562	481.8		
5. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	36855	5265.1	14.704	2.721×10 ⁻⁷ ***
Hata	24	8594	358.1		
6. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	36484	5212.1	14.825	2.52×10 ⁻⁷ ***
Hata	24	8437	351.6		
7. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	37188	5312.5	17	6.9×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	7500	312.5		
8. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	41074	5867.7	10.859	4.105×10 ⁻⁶ ***
Hata	24	12969	540.4		
9. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	42734	6104.9	11.435	2.624×10 ⁻⁶ ***
Hata	24	12813	533.9		
10. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	45000	6428.6	9.6807	1.081×10 ⁻⁵ ***
Hata	24	15938	664.1		
11. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	46797	6685.3	8.2811	3.805×10 ⁻⁵ ***
Hata	24	19375	807.3		
12. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	46797	6685.3	8.2811	3.805×10 ⁻⁵ ***
Hata	24	19375	807.3		
Önemlilik dereceleri: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Tablo 4.16. Sera koşullarında 1. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm 'ye karşı % hastalık şiddeti ve pozitif kontrole göre % etki sonuçlarının değerlendirilmesi.

UYGULAMA		1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA	9.HAFTA	10.HAFTA	11.HAFTA	12.HAFTA
208	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
247	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
208+247	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
208 +CMM	%HŞ	31.25 ±12.50 b	37.5 ±14.43 bc	37.50 ±14.43 b	43.75 ±12.50 b	56.25 ±12.50 c	50.00 ±20.41 c	50.00 ±20.41 b	62.50 ±32.27 b	68.75 ±31.45 bc	75.00 ±35.35 bc	75.00 ±35.35 bc	75.00 ±35.35 bc
	%Etki	28.57	40.00	53.85	50.00	43.75	50.00	50.00	37.50	31.25	25.00	25.00	25.00
247 +CMM	%HŞ	18.75 ±23.93 ab	25.0 ±35.35 ab	31.25 ±37.50 b	25.00 ±35.35 ab	25.00 ±28.86 ab	18.75 ±23.93 ab	25.00 ±28.86 ab	37.50 ±43.30 b	37.50 ±43.30 b	43.75 ±51.53 b	50.00 ±57.73 b	50.00 ±57.73 b
	%Etki	57.14	60.00	61.54	71.43	75.00	81.25	75.00	62.50	62.50	56.25	50.00	50.00
208+247+CMM	%HŞ	25.00 ±35.35 ab	37.5 ±25.00 bc	25.00 ±35.35 ab	31.25 ±47.32 ab	37.50 ±43.30 bc	43.75 ±42.69 bc	50.00 ±35.35 b	56.25 ±37.50 b	56.25 ±37.50 b	56.25 ±37.50 b	62.50 ±43.30 bc	62.50 ±43.30 bc
	%Etki	42.86	40.00	69.23	64.29	62.50	56.25	50.00	43.75	43.75	43.75	37.50	37.50
K+	%HŞ	43.75 ±23.93 b	62.5 ±32.27 c	81.25 ±12.50 c	87.50 ±14.43 c	100.00 ±0.00 d	100.00 ±0.00 d	100.00 ±0.00 c	100.00 ±0.00 c	100.00 ±0.00 c	100.00 ±0.00 c	100.00 ±0.00 c	100.00 ±0.00 c
	%Etki	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K-	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

*Duncan test sonucuna göre half değeri aynı olan karakterler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. %HŞ = % Hastalık şiddeti , %Etki = Pozitif kontrole göre % Etki



Şekil 4.36. Sera koşullarında 1. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı % hastalık şiddetine etkisine ait grafik.

%95 güven ile yapılan duncan çoklu aralık testi sonuçlara göre varyans analizi sonucuna göre; birinci hafta değerlendirilme 247 (KD 98/2) no'lu izolat 18.75 ± 23.93 hastalık şiddeti ve 57.14 etki görülmüştür. Daha sonra 208 (KD 80/1) ile 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyonunda 25.00 ± 35.35 hastalık şiddeti ve 35.35 etki olduğu görülmüştür. Birinci hafta bu iki uygulamada % 95 güven ile yapılan duncan testi sonucuna göre aynı half değerini aldıklarından aralarındaki fark önemsiz görülmüştür. 208 (KD 80/1) no'lu izolatta 31.25 ± 12.50 hastalık şiddeti ve 28.57 etki görülmüştür. Pozitif kontrolde ise 43.75 ± 23.93 hastalık şiddeti görülmüştür. Bu iki uygulama arasındaki fark aynı half değerini aldıkları içini istatistiksel açıdan önemsizdir. Sonraki haftalarda ise 247 (KD 98/2)'nin tek başına Cmm etmenini baskılayabildiği görülmüştür. 208 (KD 80/1) ile 247 (KD 98/2) no'lu bakterilerin kombinasyonun ve 208 (KD 80/1)'in tek başına kullanılmasının nispeten daha az etkili olduğu görülmüştür. 12. Hafta değerlendirmesinde ise yine 247 (KD 98/2) izolat 50.00 ± 57.73 hastalık şiddeti ve 50.00 etki ile en başarılı olduğu görülmüştür. Daha sonra 62.50 ± 43.30 hastalık şiddeti ve 37.50 etki ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) kombinasyonu ve 75.00 ± 35.35 hastalık şiddeti ve 25.00 etki ile 208 (KD 80/1) no'lu izolat etki göstermiştir. 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) kombinasyonu ve 208 (KD 80/1) no'lu izolat hastalık şiddeti yönünden istatistiksel açıdan önemsiz görülmüştür. (Tablo 4.16)(Şekil 4.36)(Şekil 4.37).



Şekil 4.37. Sera denemesinde a) en başarılı olan 247 (KD 98/2) no'lu izolat b) Pozitif Kontrol c) Negatif Kontrol uygulamalarına ait bitkiler.

4.6.1.2 Birinci denemede verim etkisine yönelik bulgular

12. hafta sonunda domates bitkileri üzerinde oluşan meyveler toplanmıştır. Meyve verimine yönelik değerlendirme yapılmıştır.

Tablo 4.17. Verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait varyans analiz tablosu

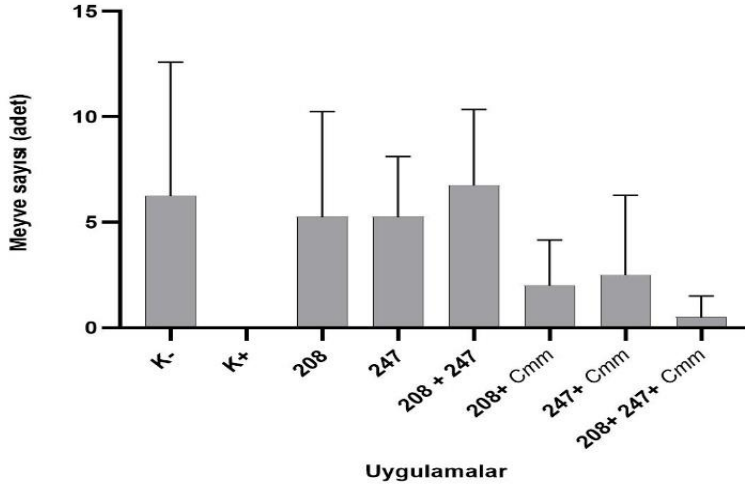
<u>MEYVE SAYISI</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	45000	6428.6	9.6807	1.081×10^{-5} ***
Hata	24	15938	664.1		
<u>MEYVE AĞIRLIĞI</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	46797	6685.3	8.2811	3.805×10^{-5} ***
Hata	24	19375	807.3		
<u>MEYVE ENxBOY(mm)</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	46797	6685.3	8.2811	3.805×10^{-5} ***
Hata	24	19375	807.3		
Önemlilik dereceleri: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Tablo 4.18. 1.Denemenin verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait çoklu aralık testi sonuçları.

UYGULAMA	MEYVE SAYISI		MEYVE AĞIRLIĞI		MEYVEDE ENxBOY	
	(Adet)	% Etki	(gr/adet)	% Etki	(mm ² /adet)	% Etki
208	5.25 ±4.99 abc	-16.00	35.05 ±30.46 ab	11.52	1077.16 ±936.65 ab	54.42
247	5.25 ±2.87 abc	-16.00	62.37 ±46.99 a	98.44	1746.34 ±1081.95 a	150.36
208+247	6.75 ±3.59 a	8.00	24.86 ±4.46 ab	-20.90	805.95 ±165.12 ab	15.54
208 +CMM	2.00 ±2.16 abc	-68.00	19.43 ±15.50 ab	-38.18	670.84 ±538.50 ab	-3.83
247 +CMM	2.50 ±3.78 abc	-60.00	44.24 ±56.93 ab	40.76	854.85 ±1038.60 ab	22.55
208+247+CMM	0.50 ±1.00 bc	-92.00	4.12 ±8.23 b	-86.89	135.71 ±271.41 b	-80.54
K+	0.00 ±0.00 c	- 100.00	0.00 ±0.00 b	- 100.00	0.00 ±0.00 b	-100.00
K-	6.25 ±6.34 ab	-	31.43 ±30.33 ab	-	697.54 ±751.75 ab	-

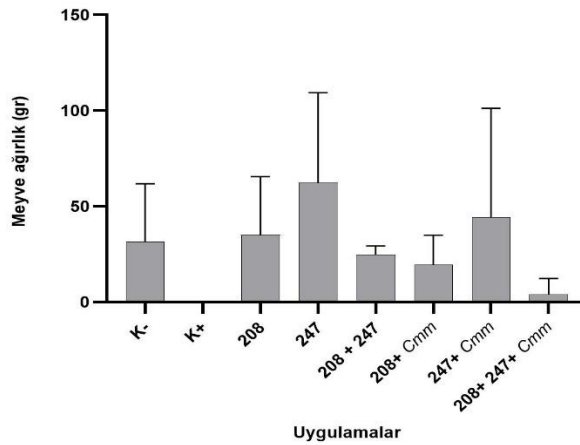
*Duncan test sonucuna göre half değeri aynı olan karakterler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir.

Meyve sayısına yönelik yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda uygulamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli görülmüştür (Tablo 4.17). Duncan test sonucuna göre meyve sayısı bakımından en yüksek sayı 6.75 ±3.59 adet ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) kombinasyonu olduğu görülmüştür. Daha sonra 6.25 ±6.34 adet ile negatif kontrole ait olduğu görülmüştür. 208 (KD 80/1) no'lu izolat 5.25 ±4.99 adet, 247 (KD 98/2) no'lu izolat 5.25 ±2.87 adet, hastalık baskısı altındaki 247 (KD 98/2) no'lu izolatin 2.50 ±3.78 adet ve hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu izolatin 2.00 ±2.16 adet olduğu görülmüştür. Bu karakterler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir. Hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) no'lu uygulamanın 0.50 ±1.00 adet olduğu ve istatistiksel açıdan en başarısız olduğu görülmüştür. (Tablo 4.18) (Şekil 4.38).



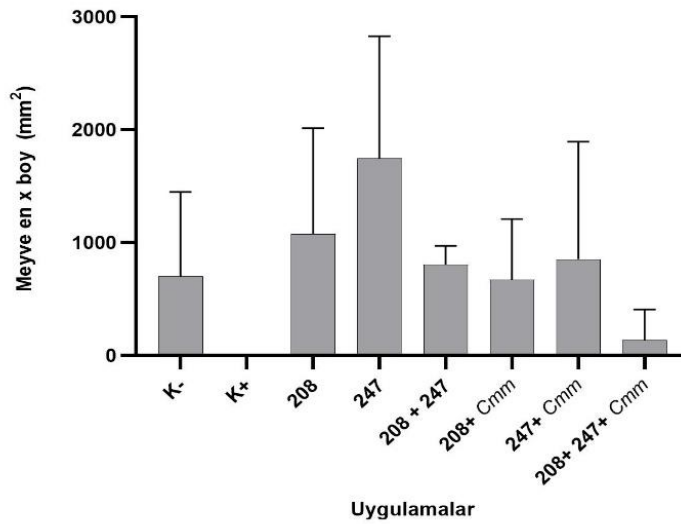
Şekil 4.38. 1. Denemenin meyve sayısına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.

Duncan testine sonucunda meyve ağırlığı bakımından en başarılı meyve başına 62.37 ± 46.99 gram ile 247 (KD 98/2) no'lu bakteri olduğu görülmüştür. Daha sonra hastalık baskısı altındaki 247 no'lu uygulama meyve başına 44.24 ± 56.93 gram, 208 (KD 80/1) no'lu uygulama meyve başına 35.05 ± 30.46 gram, negatif kontrolde meyve başına 31.43 ± 30.33 gram, 208+247 kombinasyonu meyve başına 24.86 ± 4.46 gram, hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu uygulama meyve başına 19.43 ± 15.50 gram olduğu görülmüştür. Bu karakterler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) + 247 (KD 98/2) kombinasyonunun meyve başına 4.12 ± 8.23 gram ile istatistiksel açıdan en düşük başarıyı göstermiştir. (Tablo 4.18)(Şekil 4.39)

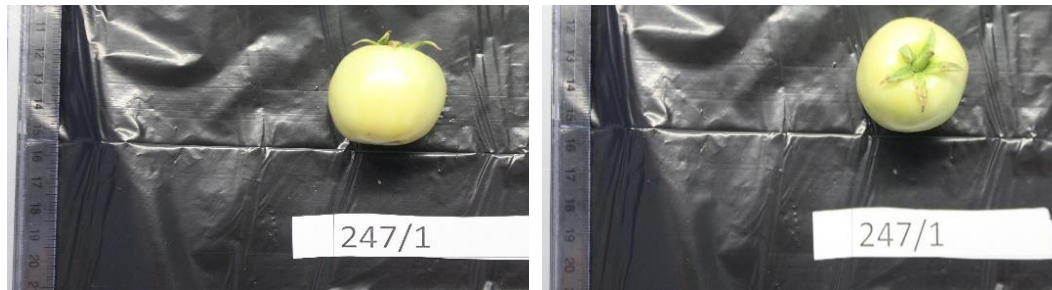


Şekil 4.39. 1. Denemenin meyve ağırlığına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.

Duncan testine göre meyve en $\times$ boy ölçümü bakımından 247 (KD 98/2) no'lu uygulama meyve başına $1746.34 \pm 1081.95 \text{ mm}^2$ ile en yüksek başarıyı göstermiştir. Daha sonra 208 (KD 80/1) no'lu uygulama meyve başına, hastalık baskısı altındaki 247 (KD 98/2) no'lu uygulama meyve başına. $854.85 \pm 1038.60 \text{ mm}^2$, 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) kombinasyonu meyve başına $805.95 \pm 165.12 \text{ mm}^2$, negatif kontrolde meyve başına $697.54 \pm 751.75 \text{ mm}^2$, hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu uygulama meyve başına $670.84 \pm 538.50 \text{ mm}^2$ ve hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) kombinasyonunun meyve başına $135.71 \pm 271.41 \text{ mm}^2$ olduğu görülmüştür. Bu karakterler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir. (Tablo 4.18) (Şekil 4.40)(Şekil 4.41).



Şekil 4.40. 1. Denemenin meyve en ve boy uzunluğuna göre değerlendirmesine yönelik grafik.



Şekil 4.41. 1. Denemenin en başarılı uygulamanın meyve en ve boy uzunluğuna yönelik görsel.

4.6.2 Sera koşullarında gerçekleştirilen ikinci denemeye yönelik bulgular

İkinci deneme, 01.05.2021 tarihinde kurulmuştur. Birinci denemede olduğu gibi yararlı bakteriler tohum bakterizasyonu şeklinde bitkiye uygulanmıştır. Daha sonra bitkiler 3 gerçek yapraklı döneme geldikleri zaman kök daldırma şeklinde Cmm-224 izolatu uygulanmıştır. Hastalık inokulasndan 3 hafta sonra, fideler seraya alınarak perlit dolu saksılara dikilmiştir. Denemede hastalık çıkışı meydana gelmiştir. 18.05.2020 tarihinde ilk hastalık değerlendirilmesi yapılmıştır.

4.6.2.1 İkinci denemede biyokontrol etkisine yönelik bulgular

12. hafta boyunca her hafta hastalık şiddet 0-4 skalası ile değerlendirilmiş olup elde edilen skala değerleri Townsend-Heurberger formülü ile % hastalık şiddetine dönüştürülmüştür. % Hastalık şiddeti sonuçları tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Ortalamaların arasındaki farkı karşılaştırmak için %95 güven ile çoklu aralık testi DUNCAN'dan yararlanılmıştır.

Tek yönlü varyans analizi sonucunda bütün haftalarda uygulamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.19).

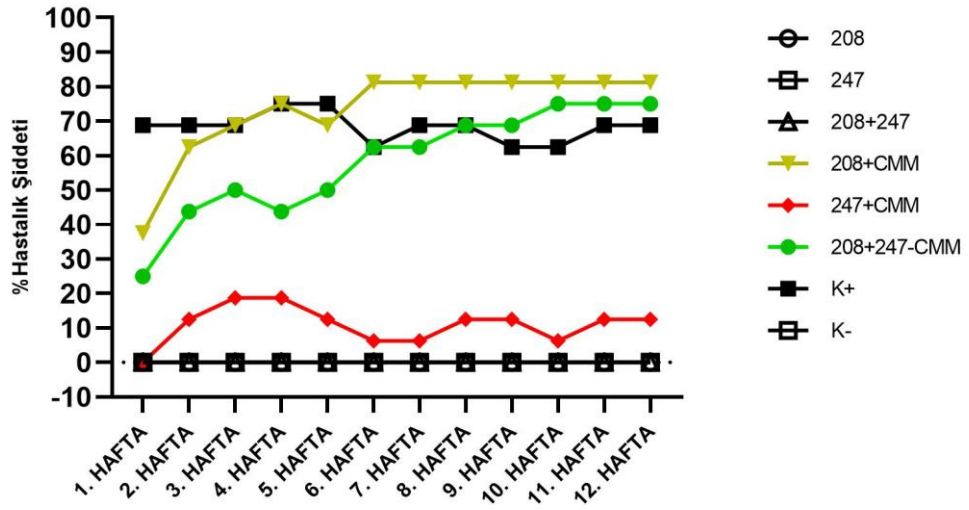
Tablo 4.19. Sera koşullarında yapılan ikinci denemenin biyokontrol etkisinde elde edilen % hastalık şiddetlerine yönelik yapılan varyans analiz tablosu.

<u>1. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	18418.0	2631.14	17.571	2.463×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	3593.8	149.74		
<u>2. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	25234.4	3604.9	25.169	1.384×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	3906.2	143.2		
<u>3. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	27949.2	3992.7	24.531	1.801×10 ⁻⁹ ***
Hata	24	9062.5	162.8		
<u>4. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	31484.4	4497.8	18.18	3.605×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	5937.5	247.4		
<u>5. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	30761.7	4394.5	17.308	5.806×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	6093.8	253.9		
<u>6. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	35234	5033.5	14.318	3.484×10 ⁻⁷ ***
Hata	24	8438	351.6		
<u>7. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	37168	5309.7	18.124	3.716×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	7031	293.0		
<u>8. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	38105	5443.6	22.599	4.154×10 ⁻⁹ ***
Hata	24	5781	240.9		
<u>9. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	36250	5178.6	12.829	9.477×10 ⁻⁷ ***
Hata	24	9687	403.6		
<u>10. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	39375	5625.0	17.28	5.896×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	7812	325.5		
<u>11. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	40234	5747.8	17.657	4.786×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	7812	325.5		
<u>12. HAFTA</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	40234	5747.8	17.657	4.786×10 ⁻⁸ ***
Hata	24	7812	325.5		
Önemlilik dereceleri: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 '.' ' 1					

Tablo 4.20. Sera koşullarında 2. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm 'ye karşı % hastalık şiddeti ve pozitif kontrole göre % etki sonuçlarının değerlendirilmesi.

UYGULAMA		1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA	9.HAFTA	10.HAFTA	11.HAFTA	12.HAFTA
208	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
247	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
208+247	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
208 +CMM	%HŞ	37.50 ±14.43 b	62.50 ±14.43 c	68.75 ±12.50 c	75.00 ±20.41 c	68.75 ±31.45 bc	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b
	%Etki	45.45	9.09	0	0	8.33	-30	-18.18	-18.18	-30	-30	-18.18	-18.18
247 +CMM	%HŞ	0.00 ±0.00 a	12.50 ±14.43 c	18.75 ±23.93 b	18.75 ±23.93 c	12.50 ±14.43 a	6.25 ±12.50 a	6.25 ±12.50 a	12.50 ±14.43 a	12.50 ±14.43 a	6.25 ±12.50 a	12.50 ±25.00 a	12.50 ±25.00 a
	%Etki	100	81.81	72.72	75	83.33	90	90.91	81.81	80	90	81.81	81.81
208+247+CMM	%HŞ	25.00 ±20.41b	43.75 ±12.50 b	50.00 ±0.00 c	43.75 ±23.93 b	50.00 ±20.41 b	62.50 ±32.27 b	62.50 ±32.27 b	68.75 ±23.93 b	68.75 ±37.50 b	75.00 ±28.86 b	75.00 ±28.86 b	75.00 ±28.86 b
	%Etki	63.63	36.36	27.27	41.66	33.33	0	9.09	0	-10	-20	-9.09	-9.09
K+	%HŞ	68.75 ±23.93 c	68.75 ±23.93 c	68.75 ±23.93 c	75.00 ±20.41 c	75.00 ±20.41 c	62.50 ±32.27 b	68.75 ±23.93 b	68.75 ±23.93 b	62.50 ±32.27 b	62.50 ±32.27 b	68.75 ±23.93 b	68.75 ±23.93 b
	%Etki	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K-	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

*Duncan test sonucuna göre half değeri aynı olan karakterler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. %HŞ = % Hastalık şiddeti , %Etki = Pozitif kontrole göre % Etki



Şekil 4.42. Sera koşullarında 2. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı % hastalık şiddetine etkisine ait grafik.

İlk hafta 247 (KD 98/2) no'lu uygulamanın % 0.00 ± 0.00 hastalık şiddeti ve %100 etkililik ile hastalık baskısı altında en başarılı olan uygulama olduğu görülmüştür. Daha sonra sırasıyla, % 25.00 ± 20.41 hastalık şiddeti ve %63.63 etkililik ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyonları ve % 37.50 ± 14.43 hastalık şiddeti ve % 45.45 etkililik ile 208 (KD 80/1) no'lu izolat takip etmiştir. 12. hafta değerlendirmesine baktığımız zaman % 12.50 ± 25.00 hastalık şiddeti ile % 81.81 etkililik ile 247 (KD 98/2) no'lu izolat en başarılı olduğu görülmüştür ve istatistiksel açıdan negatif kontrol ve hastalık içermeyen uygulamalar arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmamıştır. Daha sonra ardından % 75.00 ± 28.86 hastalık şiddeti ve % 28.86 başarı ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyonları ve % 81.25 ± 23.93 hastalık şiddeti ve % -18.18 ile 208 (KD 80/1) no'lu bakteriyel izolat gelmektedir. Bu bu iki bakteriyel uygulamanın % 68.75 ± 23.93 hastalık şiddetine sahip pozitif kontrol uygulaması ile arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır. (Tablo 4.20) (Şekil 4.42) (Şekil 4.43).



Şekil 4.43. Sera koşullarında yapılan 2. denemeye ait görseller a) en başarılı olan 247 (KD 98/2) no'lu izolat b) Pozitif Kontrol c) Negatif Kontrol.

4.6.2.2. İkinci denemede verim etkisine yönelik bulgular

12. hafta sonunda domates bitkileri üzerinde oluşan meyveler toplanmıştır. Meyve verime yönelik değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirme parametresi olarak bitki üzerinde oluşan meyveler sayısı, meyve ağırlığı ve meyve en ile boy (mm) ölçümleri üzerinden yapılmıştır. Elde edilen tek yönlü varyans analizi ve çoklu karşılaştırma için %95 güven ile Duncan çoklu aralık testi yapılmıştır.

Tablo 4.21. Verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait varyans analiz tablosu

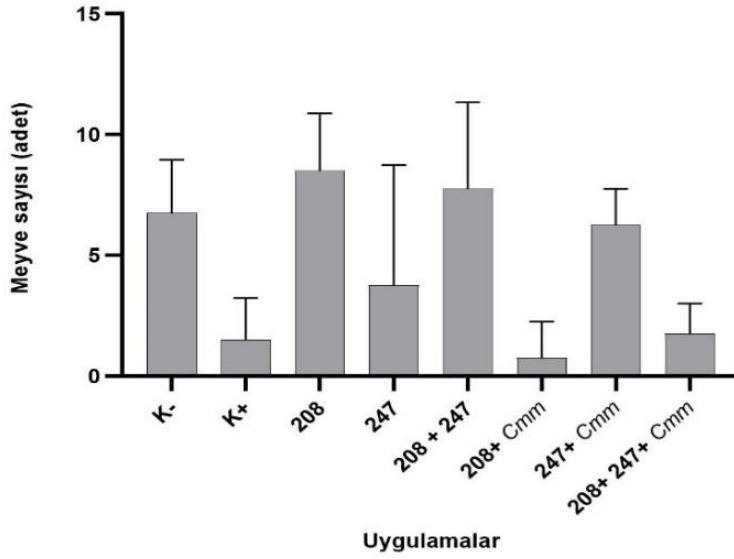
<u>MEYVE SAYISI</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	263.0	37.571	5.2273	0.001009 **
Hata	24	172.5	7.187		
<u>MEYVE AĞIRLIĞI</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	2961.6	423.09	1.3004	0.2924
Hata	24	7808.8	325.37		
<u>MEYVE ENxBOY(mm)</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	3598504	514072	1.4358	0.2373
Hata	24	8593187	358049		
Önemlilik dereceleri: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Tablo 4.22. 2. Denemenin verime etkisine yönelik incelenen parametrelere ait çoklu aralık testi sonuçları.

UYGULAMA	MEYVE SAYISI		MEYVE AĞIRLIĞI		MEYVEDE ENxBOY	
	(Adet)	% Etki	(gr/adet)	% Etki	(mm ² /adet)	% Etki
208	8.50±2.38 a	25.93	27.08±7.76 ab	-15.00	955.69 ±323.28 ab	-23.66
247	3.75±4.99 bc	-44.44	38.71±31.77 a	21.50	1109.23 ±775.44 ab	-11.40
208+247	7.75±3.59 ab	14.81	34.64±11.79 ab	8.73	1214.87 ±480.73 ab	-2.96
208 +CMM	0.75±1.50 c	-88.89	6.84±13.69 b	-78.53	252.63 ±505.26 b	-79.82
247 +CMM	6.25±1.50 ab	-7.41	33.33±11.87 ab	4.61	1396.59 ±360.49 a	11.55
208+247+CMM	1.75±1.25 c	-74.07	22.87±20.75 ab	-28.22	916.34 ±826.38 ab	-26.81
K+	1.50±1.73 c	-77.78	19.39±22.48 ab	-39.14	764.09 ±884.53 ab	-38.97
K-	6.75±2.21 ab	-	31.86±11.36 ab	0.00	1251.93 ±277.30 a	0.00

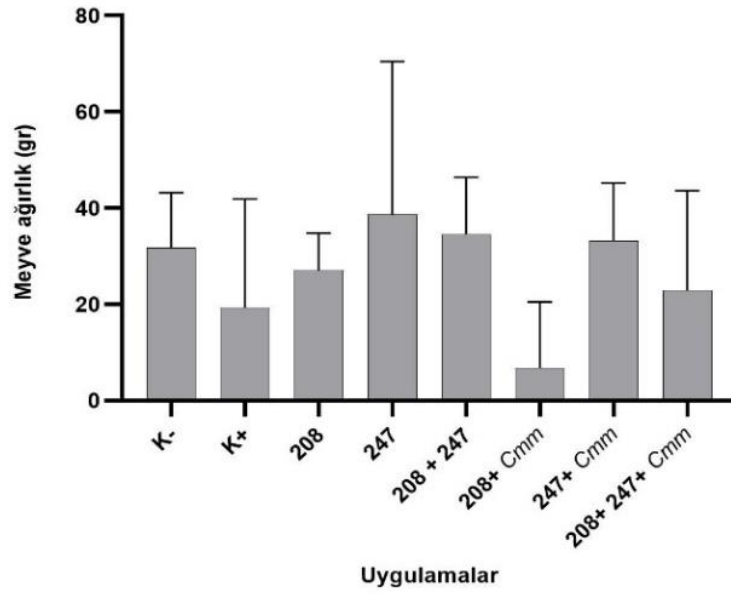
*Duncan test sonucuna göre half değeri aynı olan karakterler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir.

Meyve sayısına yönelik yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda uygulamalar arasındaki istatistiksel olarak meyve sayısı bakımından çok önemli, meyve ağırlığı ve meyve enxboy değeri bakımından az önemli görülmüştür (Tablo 4.21). Duncan test sonucuna göre meyve sayısı bakımından en yüksek sayı 8.50 ± 2.38 adet ile 208 (KD 80/1) no'lu izolat olduğu görülmüştür. Daha sonra 7.75 ± 3.59 adet ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) ve izolatların kombinasyonu, 6.75 ± 2.21 adet ile negatif kontrol uygulaması ve 6.25 ± 1.50 adet ile hastalık baskısı altındaki 247 (KD 98/2) no'lu izolata ait olduğu görülmüştür. Bu karakterler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir. 1.75 ± 1.25 adet ile hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) kombinasyonu, 1.50 ± 1.73 adet meyve sayısı ile pozitif kontrol ve 0.75 ± 1.50 adet ile hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu izolat istatistiksel açıdan en düşük başarıya sahip olduğu görülmüştür (Tablo 4.21) (Şekil 4.44).



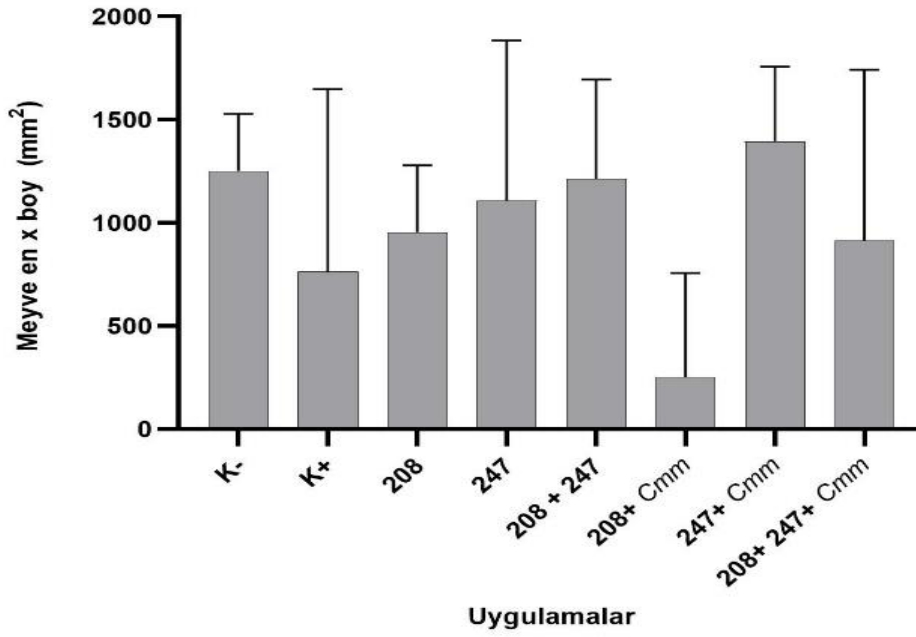
Şekil 4.44. 2. Denemenin meyve sayısına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.

Duncan testine sonucunda meyve ağırlığı bakımından en başarılı meyve başına ağırlığı 38.71 ± 31.77 gram ile 247 (KD 98/2) no'lu bakteri olduğu görülmüştür. Daha sonra 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) bakterilerinin kombinasyonu uygulamasının 34.64 ± 11.79 gram, hastalık baskısı altındaki 247 (KD 98/2) no'lu bakteri uygulaması 33.33 ± 11.87 gram, negatif kontrol uygulaması 31.86 ± 11.36 gram, 208 (KD 80/1) no'lu bakteri uygulamasının 27.08 ± 7.76 gram, hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) bakterilerinin kombinasyonu uygulaması 22.87 ± 20.75 gram ve pozitif kontrol 19.39 ± 22.48 gram olduğu görülmüştür. Bu karakterler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu bakteri uygulaması meyve başına ağırlığı 6.84 ± 13.69 gram ile istatistiksel açıdan en düşük başarıyı göstermiştir. (Tablo 4.22) (Şekil 4.45).

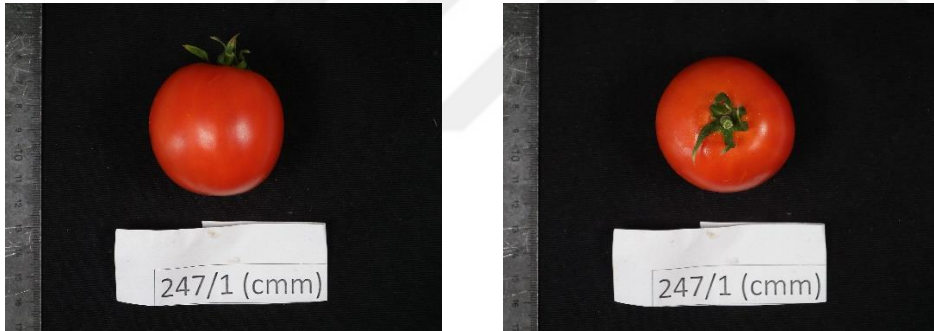


Şekil 4.45. 2. Denemenin meyve ağırlığına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.

Duncan testine göre meyve en $\times$ boy ölçümü bakımından hastalık baskısı altında 247 (KD 98/2) no'lu uygulama meyve başına $1396.59 \pm 360.49 \text{ mm}^2$ ile ve negatif kontrol meyve başına $1251.93 \pm 277.30 \text{ mm}^2$ en yüksek başarıyı göstermiştir. Daha sonra 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) bakterilerinin kombinasyonu $1214.87 \pm 480.73 \text{ mm}^2$, 247 (KD 98/2) no'lu bakteri uygulaması $1109.23 \pm 775.44 \text{ mm}^2$, 208 (KD 80/1) no'lu bakteri uygulaması $955.69 \pm 323.28 \text{ mm}^2$, hastalık baskısı altında 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) bakterilerinin kombinasyonu $916.34 \pm 826.38 \text{ mm}^2$ ve pozitif kontrol ise $764.09 \pm 884.53 \text{ mm}^2$ olarak ölçülerek orta düzeyde başarı göstermiştir. Bu karakterler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir. Hastalık baskısı altında 208 (KD 80/1) no'lu bakteri uygulaması $252.63 \pm 505.26 \text{ mm}^2$ ile en az başarıyı göstermiştir (Tablo 4.22) (Şekil 4.46) (Şekil 4.47).



Şekil 4.46. 2. Denemenin meyve en ve boy uzunluğuna göre değerlendirilmesine yönelik grafik.



Şekil 4.47. 2. Denemenin en başarılı uygulamanın meyve en ve boy uzunluğuna yönelik görsel.

4.6.3 Sera koşullarında gerçekleştirilen üçüncü denemeye yönelik bulgular

Üçüncü deneme, 01.05.2021 tarihinde cam yapılı olan topraksız tarım ünitesinde kurulmuştur. Birinci ve ikinci denemede olduğu gibi yararlı bakteriler tohum bakterizasyonu şeklinde bitkiye uygulanmıştır. Daha sonra bitkiler 3 gerçek yapraklı döneme geldikleri zaman kök daldırma şeklinde Cmm-224 izolatu uygulanmıştır. Denemede hastalık çıkışı meydana gelmiştir. 18.05.2020 tarihinde ilk hastalık değerlendirilmesi yapılmıştır. Tablo 3.10'da belirtilen düzende deneme

tesadüf bloklarını deneme desenine göre tekerrür başına bir bitki içerecek şekilde kurulmuştur.

4.6.3.1 Üçüncü denemede biyokontrol etkisine yönelik bulgular

12. hafta boyunca her hafta hastalık şiddet 0-4 skolası ile değerlendirilmiş olup elde edilen skala değerleri Townsend-Heurberger formülü ile % hastalık şiddetine dönüştürülmüştür. % Hastalık şiddeti sonuçları tek yönlü varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Ortalamaların arasındaki farkı karşılaştırmak için %95 güven ile çoklu aralık testi DUNCAN'dan yararlanılmıştır.

Tek yönlü varyans analizi sonucunda bütün haftalarda uygulamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuştur (Tablo 4.23).

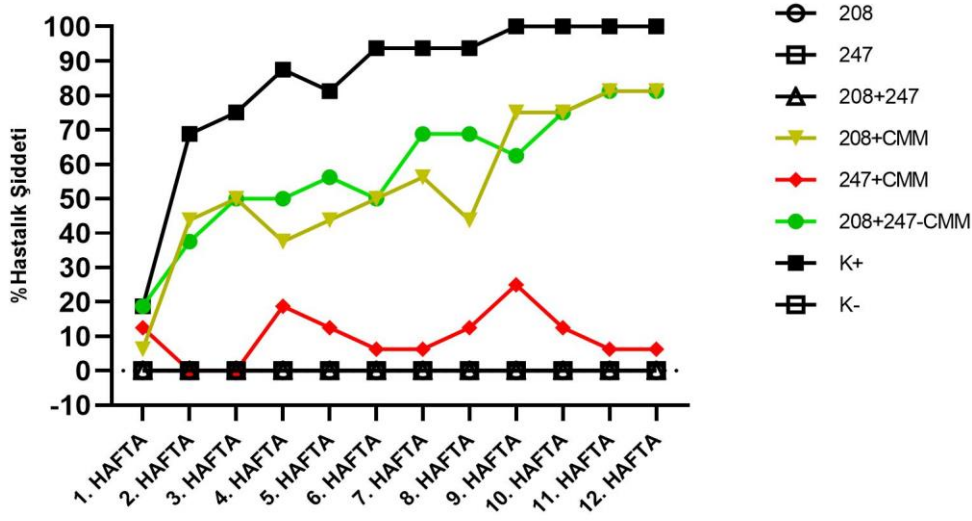
Tablo 4.23. Sera koşullarında yapılan üçüncü denemenin biyokontrol etkisinde elde edilen % hastalık şiddetlerine yönelik yapılan varyans analiz tablosu.

1. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	2011.7	287.39	2.102	0.08276 .
Hata	24	3281.2	136.72		
2. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	20937.5	2991.07	25.524	1.198×10^{-8} ***
Hata	24	2812.5	117.19		
3. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	27188	3883.9	24.857	1.573×10^{-9} ***
Hata	24	3750	156.3		
4. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	28886.7	4126.7	14.741	2.658×10^{-7} ***
Hata	24	6718.7	279.9		
5. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	28574.2	4082.0	21.621	6.489×10^{-9} ***
Hata	24	4531.2	188.8		
6. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	35312	5044.6.5	35.221	4.035×10^{-11} ***
Hata	24	3438	143.2		
7. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	41562	5937.5	32.571	9.307×10^{-11} ***
Hata	24	4375	182.3		
8. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	38418	5488.3	29.069	3.097×10^{-10} ***
Hata	24	4531	188.8		
9. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	46172	6596.0	84.429	2.394×10^{-15} ***
Hata	24	1875	78.1		
10. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	51172	7310.3	40.102	9.927×10^{-12} ***
Hata	24	4375	182.3		
11. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	56855	8122.2	49.903	8.997×10^{-13} ***
Hata	24	3906	162.8		
12. HAFTA	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değeri	(Pr>F)
Uygulamalar	7	56855	8122.2	49.903	8.997×10^{-13} ***
Hata	24	3906	162.8		
Önemlilik dereceleri: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Tablo 4.24. Sera koşullarında 3. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm 'ye karşı % hastalık şiddeti ve pozitif kontrole göre % etki sonuçlarının değerlendirilmesi.

UYGULAMA		1.HAFTA	2.HAFTA	3.HAFTA	4.HAFTA	5.HAFTA	6.HAFTA	7.HAFTA	8.HAFTA	9.HAFTA	10.HAFTA	11.HAFTA	12.HAFTA
208	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
247	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
208+247	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
208 +CMM	%HŞ	6.25 ±12.50 a	43.75 12.5 b	50.00 ±20.41 b	37.50 ±32.27 bc	43.75 ±23.93 b	50.00 ±20.41 b	56.25 ±23.93 a	43.75 ±23.93 b	75.00 ±20.41 c	75.00 ±20.41 b	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b
	%Etki	66.67	36.36	33.33	57.14	46.15	46.67	40.00	53.33	25.00	25.00	18.75	18.75
247 +CMM	%HŞ	12.50 ±14.43 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	18.75 ±23.93 ab	12.50 ±14.43 a	6.25 ±12.50 a	6.25 ±12.50 b	12.50 ±14.43 a	25.00 ±0.00 b	12.5 ±14.43 a	6.25 ±12.50 a	6.25 ±12.50 a
	%Etki	33.33	100.00	100.00	78.57	84.62	93.33	93.33	86.67	75.00	87.50	93.75	93.75
208+247+CMM	%HŞ	18.75 ±12.50 ab	37.50 25.0 b	50.00 ±20.41 b	50.00 ±20.41 c	56.25 ±23.93 b	50.00 ±20.41 b	68.75 ±23.93 b	68.75 ±23.93 c	62.50 ±14.43 c	75.0 ±28.86 b	81.25 ±23.93 b	81.25 ±23.93 b
	%Etki	0.00	45.45	33.33	42.86	30.77	46.67	26.67	26.67	37.50	25.00	18.75	18.75
K+	%HŞ	18.75 ±23.93 ab	68.75 12.5 c	75.00 ±20.41 c	87.50 ±14.43 d	81.25 ±12.50 c	93.75 ±12.50 c	93.75 ±12.50 c	93.75 ±12.50 d	100.0 ±0.0 d	100.0 ±0.0 c	100.0 ±0.0 c	100.0 ±0.0 c
	%Etki	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K-	%HŞ	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 a	0.00 ±0.00 c
	%Etki	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

*Duncan test sonucuna göre half değeri aynı olan karakterler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir. %HŞ = % Hastalık şiddeti , %Etki = Pozitif kontrole göre % Etki



Şekil 4.48. Sera koşullarında 3. Denemede Yararlı bakterilerin Cmm'ye karşı % hastalık şiddetine etkisine ait grafik.

İlk hafta 208 (KD 80/1) no'lu uygulamanın 6.25 ± 12.50 hastalık şiddeti ve % 66.67 etki ile hastalık baskısı altında en başarılı olan uygulama olduğu görülmüştür. Daha sonra sırasıyla, 12.50 ± 14.43 hastalık şiddeti ve % 33.33 etki ile 247 (KD 98/2) no'lu izolatın uygulaması ve % 18.75 ± 12.50 hastalık şiddeti ve % 0.00 etki ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyonu takip etmiştir. Uygulama sonuçlarının pozitif kontrol arasında istatistiksel açıdan fark bulunamamıştır. 12. hafta değerlendirmesine baktığımız zaman 6.25 ± 12.50 hastalık şiddeti ve % 93.75 etki ile 247 (KD 98/2) no'lu en başarılı izolat olduğu görülmüştür ve istatistiksel açıdan negatif kontrol ve hastalık içermeyen uygulamalar arasında istatistiksel açıdan farklılık bulunmamıştır. Daha sonra ardından % 81.25 ± 23.93 hastalık şiddeti ve % 18.75 etki ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) no'lu bakterilerin kombinasyonu ve aynı şekilde % 81.25 ± 23.93 hastalık şiddeti ve % 18.75 etki ile 208 (KD 80/1) no'lu bakteriyel izolat gelmektedir. Bu bu iki bakteriyel uygulamanın arasında ve pozitif kontrol ile istatistiksel açıdan fark görülememiştir (Tablo 4.24)(Şekil 4.48)(Şekil 4.49).



Şekil 4.49 . Sera koşullarında yapılan 3. denemeye ait görseller a) en başarılı olan 247 (KD 98/2) no'lu izolat b) Pozitif Kontrol c) Negatif Kontrol.

4.6.2.2 Üçüncü denemede verim etkisine yönelik bulgular

12. hafta sonunda domates bitkileri üzerinde oluşan meyveler toplanmıştır. Meyve verime yönelik değerlendirme yapılmıştır. Değerlendirme parametresi olarak bitki üzerinde oluşan meyveler sayısı, meyve ağırlığı ve meyve en ile boy (mm) ölçümleri üzerinden yapılmıştır. Elde edilen tek yönlü varyans analizi ve çoklu karşılaştırma için %95 güven ile Duncan çoklu aralık testi yapılmıştır.

Tablo 4.25. Verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait varyans analiz tablosu

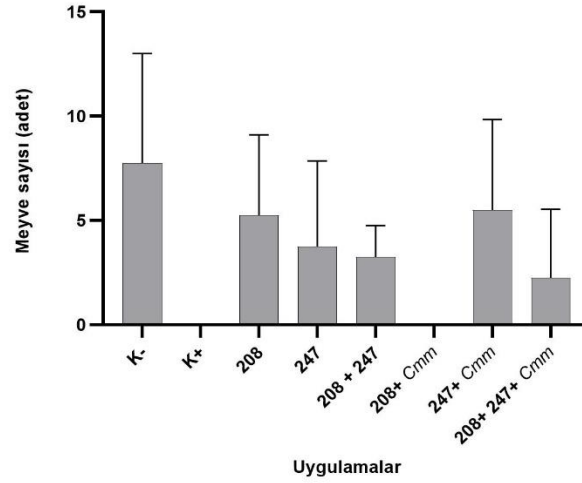
<u>MEYVE SAYISI</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	205.22	29.317	2.5609	0.04034 *
Hata	24	274.75	11.448		
<u>MEYVE AĞIRLIĞI</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	10698	1528.22	2.7365	0.03201 *
Hata	24	12844	558.46		
<u>MEYVE ENxBOY(mm)</u>	Df	$\sum_{i=1}^n x^2$	$\bar{X}^2$	F değ.	(Pr>F)
Uygulamalar	7	38519431	5502776	1.6287	0.1774
Hata	24	77710810	3378731		
Önemlilik dereceleri: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1					

Tablo 4.26. 3. Denemenin verime etkiye yönelik incelenen parametrelere ait çoklu aralık testi sonuçları.

UYGULAMA	MEYVE SAYISI		MEYVE AĞIRLIĞI		MEYVEDE ENxBOY	
	(Adet)	% Etki	(gr/adet)	% Etki	(mm ² /adet)	% Etki
208	5.25±3.86 ab	-32.26	46.15±13.70 a	7.11	2675.19 ±1629.76 ab	34.74
247	3.75±4.11 ab	-51.61	48.21±54.55 a	12.01	3264.43 ±4530.86 a	64.42
208+247	3.25±1.50 ab	-58.06	36.55±12.56 ab	-15.08	1915.66 ±774.45 ab	-3.51
208 +CMM	0.00±0.00 b	-100.00	0.00±0.00 b	-100.00	0.00 ±0.00 b	-100.00
247 +CMM	5.50±4.35 ab	-29.03	34.61±15.27 ab	-19.59	1548.39 ±503.59 ab	-22.01
208+247+CMM	2.25±3.30 ab	-70.97	21.79±25.54 ab	-49.37	1005.74 ±1161.35 ab	-49.34
K+	0.00±0.00 b	-100.00	0.00±0.00 b	-100.00	0.00 ±0.00 b	-100.00
K-	7.75±5.25 a	-	43.04±12.33 a	-	1985.42 ±775.31 ab	0.00

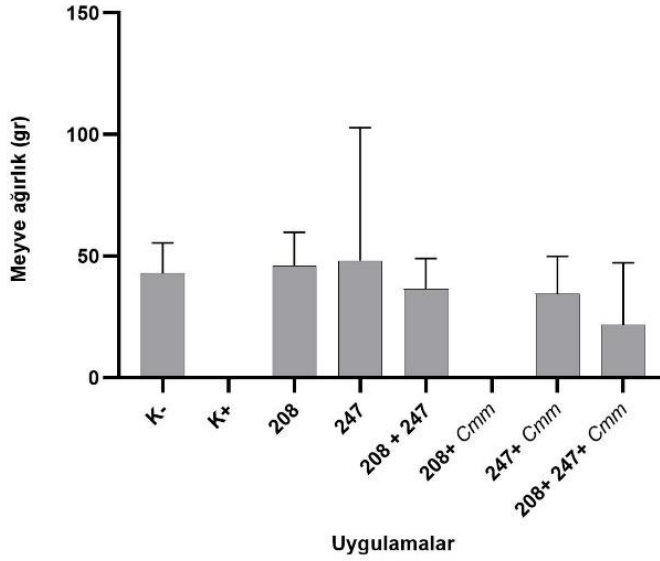
*Duncan test sonucuna göre half değeri aynı olan karakterler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir.

Meyve sayısına yönelik yapılan tek yönlü varyans analizi sonucunda uygulamalar arasındaki istatistiksel olarak meyve sayısı ve meyve ağırlığı bakımından önemli, meyve enxboy değeri bakımından az önemli görülmüştür (Tablo 4.25). Duncan test sonucuna göre meyve sayısı bakımından en yüksek sayı 7.75±5.25 adet ile negatif kontrol görülmüştür. Daha sonra 5.50±4.35 adet ile hastalık baskısı altında 247 (KD 98/2) no'lu izolat, 5.25±3.86 adet ile 208 (KD 80/1) no'lu izolat, 3.75±4.11 adet ile 247 (KD 98/2) no'lu izolat, 3.25±1.50 adet ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyonu ve 2.25±3.30 adet ile hastalık baskısı altında 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyonu gelmektedir. Bu uygulamalar arasındaki fark istatistiksel açıdan farklılık görülmemiştir. En az başarıyı gösteren 0.00±0.00 adet ile hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu izolat uygulaması ile pozitif kontrol görülmüştür (Tablo 4.21) (Şekil 4.50).



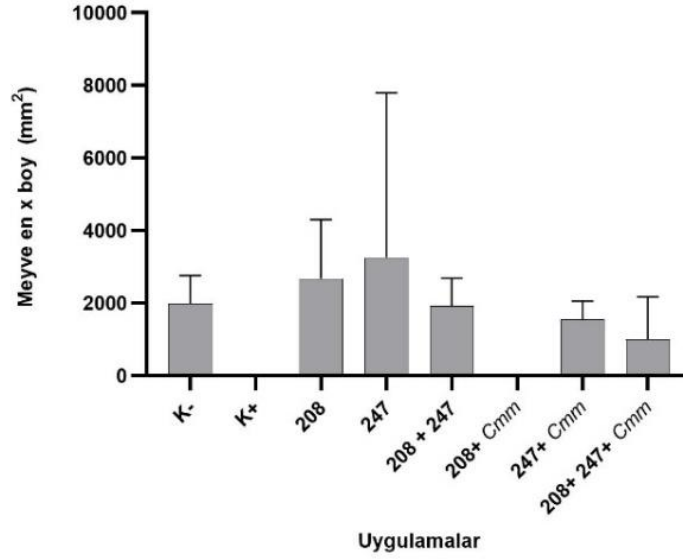
Şekil 4.50. 3. Denemenin meyve sayısına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.

Duncan testine sonucunda meyve ağırlığı bakımından en başarılı meyve başına ağırlığı 48.21 ± 54.55 gram ile 247 (KD 98/2) no'lu izolat, 46.15 ± 13.70 gram 208 (KD 80/1) no'lu izolat ve 43.04 ± 12.33 gram ile negatif kontrol uygulaması en başarılı görülmüştür. Bu uygulamalar arasındaki fark istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Daha sonra 36.55 ± 12.56 gram ile 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) izolatlarının kombinasyonu, 34.61 ± 15.27 gram ile hastalık baskısı altında 247 (KD 98/2) no'lu izolat ve 21.79 ± 25.54 gram ile hastalık baskısı altında 208 (KD 80/1) ve 247 (KD 98/2) izolatlarının kombinasyonu olduğu görülmüştür. Bu uygulamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olduğu görülmüştür. En az başarıyı gösteren 0.00 ± 0.00 gram ile hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu izolat uygulaması ile pozitif kontrol görülmüştür (Tablo 4.22) (Şekil 4.51).

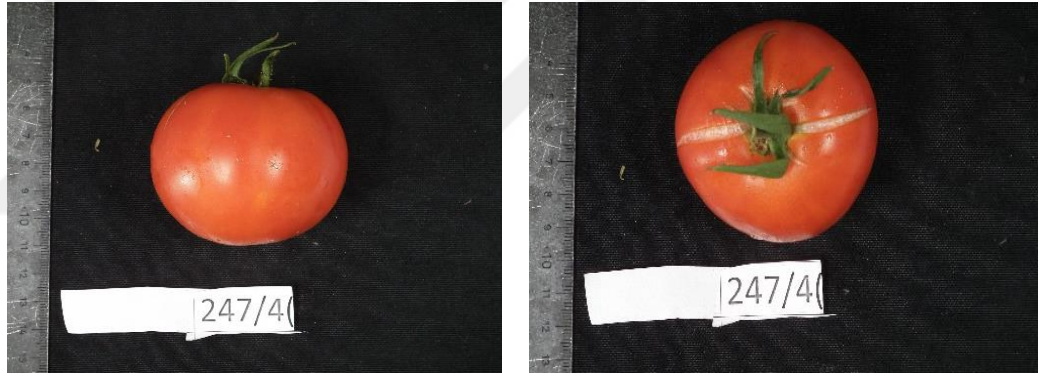


Şekil 4.51. 3. Denemenin meyve ağırlığına göre değerlendirilmesine yönelik grafik.

Duncan testine göre meyve en $\times$ boy ölçümü bakımından hastalık baskısı altında 247 (KD 98/2) no'lu uygulama meyve başına $3264.43 \pm 4530.86 \text{ mm}^2$ ile en yüksek başarıyı göstermiştir. Daha sonra 208 (KD 80/1) no'lu izolat $2675.19 \pm 1629.76 \text{ mm}^2$, negatif kontrol $1985.42 \pm 775.31 \text{ mm}^2$, 208 (KD 80/1) no'lu ile 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyonu $1915.66 \pm 774.45 \text{ mm}^2$, hastalık baskısı altındaki 247 (KD 98/2) no'lu bakteri uygulaması $1548.39 \pm 503.59 \text{ mm}^2$ ve hastalık baskısı altındaki 208 (KD 80/1) no'lu ile 247 (KD 98/2) no'lu izolatların kombinasyon uygulaması $1005.74 \pm 1161.35 \text{ mm}^2$ ile orta düzeyde başarı göstermiştir. Bu karakterler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsizdir. Hastalık baskısı altında 208 (KD 80/1) no'lu bakteri uygulaması ve pozitif kontrol $0.00 \pm 0.00 \text{ mm}^2$ ile en az başarıyı göstermiştir (Tablo 4.22) (Şekil 4.52) (Şekil 4.53).



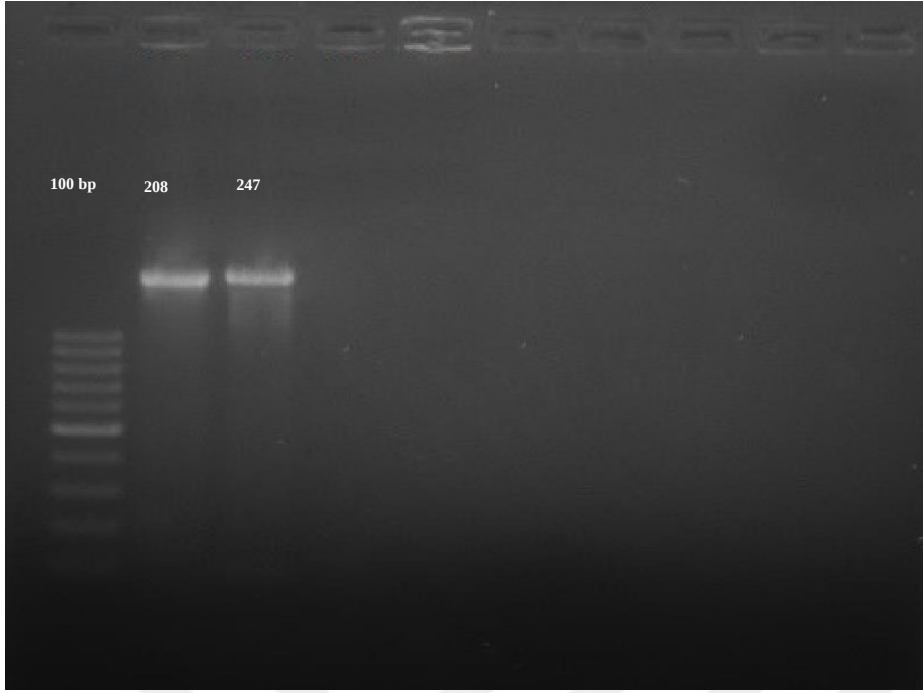
Şekil 4.52. 3. Denemenin meyve en ve boy uzunluğuna göre değerlendirilmesine yönelik grafik



Şekil 4.53. 3. Denemenin en başarılı uygulamanın meyve en ve boy uzunluğuna yönelik görsel

4.7 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Moleküler Tanısı

PCR aşaması için 16S ribozomal rDNA'yı amplike eden 11F/1492R primerleri kullanılarak sekans analizi yapılmıştır. Bunun için çizelge 1'de yer alan primer dizinde ve şartlarda gerçekleştirilen PCR işleminden sonra oluşan PCR ürünleri 1,5%'lük agaroz jelde 90V 60 mA 1 saat elektroforezde yürütülmüştür. UV transluminatör yardımıyla jel üzerindeki PCR ürünlerinin durumu ve kalitesi teyit edildikten sonra PCR ürünleri sanger sekans analizi için hizmet alımına gönderilmiştir (Şekil 4.54).



Şekil 4.54. 27F/1492R primer çiftleri ile yapılan amplifikasyon sonucu 1460 bp'deki jel görüntüsü

Hizmet alımında gelen sanger metodu ile hazırlanan izolatlara ait ham sekans sonuçları değerlendirilmiştir. Bunun için forward yönlü sekans, complementeri alınmış reverse yönlü sekans referans alınarak Bioedit 7.05.3 programı kullanılarak tek nükleotid polimorfizmleri (Single Nucleotid Polimorfism = SNP) kontrol edildi. Şüpheli olan nükleotidler, Chromas 2.2.6 yazılımı kullanılarak forward yönlü sekansın kromatografi ile karşılaştırılmıştır ve hatalı ve eksik olduğundan emin olunan nükleotid belirlenip düzenleme işlemi yapılmıştır. Daha sonra düzenlenen sekans verileri NCBI GenBank'ta yer alan BLAST uygulamasında taranarak tanısı yapılmıştır. Sonuç olarak 208 no'lu KD 80/1 izolatının *Pseudomonas putida*, 247 no'lu KD 90/2 izolatının *Pseudomonas fluorescens* olduğu saptanmıştır (Tablo 4.27).

Tablo 4.27. Başarılı bulunan yararlı bakteri izolatlarının tanı ve NCBI referans numaraları.

İzolat kodu	Bakteri Türü	Referans Benzerlik Oranı	Referans No	Erişim
208	<i>Pseudomonas putida</i> strain 42R-P6	96.16	MF062638.1	
247	<i>Pseudomonas fluorescens</i> strain SLr14	97.00	MG755765.1	

5. TARTIŞMA

Domates üretimini etkileyen en büyük sorunlardan biri olan bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı etmeni Cmm bu kültür bitkisinin en yıkıcı bakteriyel hastalığı olarak değerlendirilmekte olup ciddi kayıplara yol açmaktadır. Genel olarak enfekteli tohumlarla taşınan bu hastalık etmeni (Belgüzar ve ark., 2016) tohum başına 5 bakteri hücresi kadar düşük bir yoğunlukta bile fideleri hastalandırabilmektedir (Lelis et al., 2014). Hatta % 0.01 bulaşma oranında bile epidemiyeye yol açmaktadır (Chang et al., 1991). Ayrıca Cmm toprak kökenli bir hastalık etmeni olup bulaştıktan sonra bitki artıklarında ve toprakta 2 yıldan fazla bir süre canlılığını koruyabilmekte (Fatmi and Schaad., 2002) ve üretim sezonunda %99'a varan kayıplara neden olabilmektedir (David et al., 2001). Cmm, sistemik olarak ilerlemesinden dolayı kimyasal mücadele ekonomik anlamda etkili olamamaktadır (Belgüzar ve ark., 2016). Bu da Cmm'yi mücadelesi en zor olan patojenlerden biri yapmaktadır. Hastalığın kontrolünde etkili bir kimyasal mücadele yöntemi bulunmamasından dolayı kültürel ve karantina önlemleri dışında mücadele önerisi de yapılamamaktadır (Yılmaz, 2014).

Bu çalışmada domates tarımında verim ve kaliteyi olumsuz etkileyen bitki hastalıklarının başında gelen domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı'nın etmeni Cmm'nin biyokimyasal ve moleküler tanısı yapılmış, moleküler olarak genetik varyasyonu belirlenmiş ve bu hastalık etmeninin mücadelesinde yararlı bakterilerin yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Şu anda *Clavibacter michiganensis*'in konukçu bitkilerine göre yedi patojenik ait alttürü bilinmektedir. Ayrıca iki tane de patojenik olmayan alttürü vardır. Alttürü olan Cmm, domateste (*Solanum lycopersicum*) hastalık etmenidir (Strider 1967; Davis et al. 1984). Ayrıca son yıllarda tropikal bir bitki olan naranjilla'da da (*Solanum quitoense*, *Solanum pectinatum*) hastalık yaptığı bildirilmiştir. (Bolanos-carriel et al. 2017).

Koloni morfolojisi yönünden Cmm, Nutrient Agar besi yerinde 5 gün içerisinde düz kenarlı ve sarı renki koloniler oluşturmaktadır (Gitatis, 1991). Cmm için yarı seçici bir besiyeri olan SCM'de koyu gri ve çevresi açık renge sahip haleli

koloniler oluşturmaktadır. (Fatmi and Schaad, 1998). Çetinkaya-Yıldız (2007), tarafından yapılan çalışma da koloni morfolojisi yönünden NA besiyerinde etrafı düz sarı parlak renkte, YDC besi yerinde etrafı düz koyu sarı renkte ve SCM besiyerinde ise koyu gri renkte etrafı açık haleli bir morfoloji gözlemlenmiştir. Belgüzar (2014) yaptığı çalışmada Cmm izolatlar PSF, NA ve SCM besiyerlerine ekilerek koloni gelişimlerine bakılmıştır. Cmm izolatları PSF besiyerinde daha yoğun ve daha koyu sarı renkte oldukları, NA besiyerinde ise nispeten az yoğun ve açık sarı renkte oldukları gözlemlenmiştir. SCM besiyerinde ise koyu gri çevresi açık renkli haleli koloni morfolojisi gözlemlenmiştir. Bizim yaptığımız çalışma da da önceki yapılan çalışmalarda olduğu gibi Cmm izolatlarının hepsi KingB besi yerinde 48-72 saat arasında gelişme göstermiştir. Mukoid olmayan sarı renkli düz topolojiye sahip bir koloni yapısı oluşturmuşlardır. Cmm'ye yönelik semiselektive bir besiyer olan SCM'de ise koloni koyu gri çevresi daha açık renkte hale olan mukoid olmayan düz topolojiye sahip koloniler meydana gelmiştirlerdir.

Fenotipik karakterizasyon özellikleri yönünden bakıldığında Cmm, Gram (+) (Chalupowicz et al., 2012), 365 nm florasan ışıma yapmayan (Anonymus, 2015), SNA'da levan oluşturmeyen (Chalupowicz et al., 2012), Oksidaz testinde yönünden negatif (Chalupowicz et al., 2012), Pektolitik aktivite göstermeyen (Anonymus, 2015), karbonhidrat olan arjinin dehidrolize etmeyen (Anonymus, 2015), Tütün bitkisinde hipersensitif reaksiyona neden olan (Anonymus, 2015), Jelatinin sindirim bakımından ırka göre değişiklik gösteren (Burokiené et al., 2005), Aesculini hidrolize eden (Chalupowicz et al., 2012), Tyrosinase aktivitesi göstermeyen (Parte et al., 2012), Tartarate kullanan (Labadie and Hébraud, 1997), Nişastayı hidrolize eden (Chalupowicz et al., 2012), karbon kaynakları yönünden Mannitol, Glysine (Chalupowicz et al., 2012), Erythriol (Labadie and Hébraud, 1997), Sorbitol (Burokiené et al., 2005), kullanamayan ancak Cellobiose (Burokiené et al., 2005), Trehalose (Yasuhara-Bell, 2014), Mannose (Chalupowicz et al., 2012), Inositol (Yasuhara-Bell, 2014)'den yararlanabilen, Arabinose (Kolomiets et al., 2017) kullanımı konusunda ırka göre farklılık gösteren bir bakteri olarak belirtilmiştir. Bu çalışmada kullanılan Cmm ait izolatlar KOH testinde negatif sonuç vererek gram + olduğu görülmüştür. Aynı şekilde 366 nm dalga boyuna sahip UV ışık altında ışıma meydana getirmemiş olup florasan pigmente sahip olmadıkları görülmüştür. Levan oluşum testinde bütün patojen izolatlar SNA

ortamında kubbemsi bir koloni oluşturmamıştır. Oksidaz testinde mavimsi mürekkep rengi oluşmamış olup bu testi negatif olarak değerlendirilmiştir. Pektolitik aktivite testi sonucu ise bütün izolatlarda patatesta pektin yıkımı gözlenmemiştir. Arjinin dehidrolaz testinde patojen izolatların hiçbirinde renk değişimi meydana getirmemiştir. Tütünde hipersensitive reaksiyon testinde ise bütün patojen izolatlar tütün yaprağında nekrotik parçalanma meydana getirmiştir. Gelatin hidrolizi testinde ise bütün izolatların hidrolize edemediği görülmüştür. Aesculin hidrolizi testinde ise izolatlar negatif sonuç vermişlerdir. Nişasta hidrolizi testinde bütün izolatlar nişasta hidrolize etmiştir. Sadece Aesculin testi yönünden literatür ile uyuşmadığı görülmüş geri kalan testlerin literatürdeki sonuçlar ile uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Karbon kaynakları kullanımı konusunda izolatların durumları değerlendirdiğimizde; Arabinose kullanımı konusunda 15, 16 ve 22 no'lu patojen izolatlar bu karbon kaynağından yararlanabilmiş olup diğer izolatlar yararlanamamıştır. Cellobiose kullanımı konusunda, bu çalışmadaki bütün izolatlar bu karbon kaynağından yararlanmıştır. Eritritol kullanımı konusunda, Cmm'ye ait izolatlar yararlanamamışlardır. İnositol kullanımı konusunda, bütün izolatlar bu karbon kaynağından yararlanabilmişlerdir. Mannitol kullanımı konusunda, 15, 16, 22 ve 23 no'lu izolat bu karbon kaynağından yararlanabilmiş olup diğer izolatlar kullanamamışlardır. Glycine kullanımı konusunda 15, 16 ve 22'no'lu izolat bu karbon kaynağından yararlanmış olup diğer izolatlar kullanamamıştır. Mannose kullanımı konusunda, bütün izolatlar bu karbon kaynağından yararlanabilmişlerdir. Aynı şekilde trehalose kullanımı konusunda ise çalışmada kullanılan bütün izolatlar bu karbon kaynağını kullanabilmiştir. Literatürde olduğu gibi bu çalışmada da arabinose kullanımı izolata göre farklılık göstermiştir. Trehalose, Cellobioase ve İnositol'u literatürde olduğu gibi bu çalışma da karbon kaynağı olarak yararlanmış olup Eritritol'den yararlanamamıştır. Ancak Mannose kullanımı konusunda literatürde Cmm'nin bu karbon kaynağından yararlanmadığı belirtilmiştir sadece üç izolatın bundan yararlanabildiği görülmüştür.

Moleküler tanıma teknikleri, genel olarak PCR yöntemi kullanılarak primer ismi verilen spesifik nükleik asit dizilimleri yardımıyla DNA'nin amplike edilmesi ile tanılama yapmak olarak tanımlanmaktadır. Patojen olan etmenin virulenslikten sorumlu olan oligonükleotit dizilimlerinden tasarlanmalıdır. Cmm ile diğer

Clavibacter michiganensis alttürlerini birbirinden ayırt etmek için virulenslik faktörü olan *celA* ve *pat-1* tasarlanan primer çiftleri kullanılmaktadır. Bu bölgeden tasarlanan primer çiftleri virulent ve avirulent olan ırkları bile birbirinden ayırabilmektedir. Ancak dezavantaj olarak, PCR yöntemi canlı ile ölü hücreyi birbirinden ayıramamaktadır. Buna alternatif olarak Bio-PCR olarak isimlendirilen önce bakterinin petriye ekilerek kültüre alınması daha sonra petride gelişen saf kolonilerden üzerinden PCR yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem sayesinde 10,000'de 1 oranında hastalık içeren tohumda bile hastalık etmenini tespit etmeye olanak sağlamaktadır. Bu yöntemde de dezavantaj olarak sadece patojen yoğunluğu tespit edilemez sadece patojenin varlığı konusunda fikir edilebilmektedir (Sen et al., 2015). Cmm5-Cmm6, Cmm'yi tanılamada kullanılan spesifik bir primer çiftidir. pCM2 plazmidinde yer alan *pat-1* geni üzerinden tasarlanmıştır. Cmm'nin virulenslik gösteren ırklarında 614 bp uzunluğundaki bölgeyi amplike etmektedir. Bu primer çifti, 2×10^2 cfu/ml yoğunluk içeren infekteli bitkilerde bile tanılama yapabilmektedir. (Dreier et al., 1995). Bizim yaptığımız çalışmada da daha hassas tanılama yapılabilmesi için Bio-PCR yöntemi kullanılmıştır. Petri üzerinden gelişen kolonilerden tanılama yapılmıştır. Cmm5-Cmm6 primer çifti kullanılmıştır. Literatürde bahsedildiği gibi bu çalışmada kullanılan bütün izolatların yaklaşık 614 bp uzunluğunda pcr ürünü oluşturmuştur.

Yaptığımız patojenisite çalışmasında bütün izolatlar band vermesine rağmen hepsi virulenslik göstermemiş veya farklı virulenslik göstermiştir. Bu konuyu biraz açacak olursak. Cmm'nin virulensliği üretmiş olduğu exopolysaccarides (EPS)'ye bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Rai and Strobel, 1969). Ancak EPS üretimi inhibe edilmiş olan Cmm mutant ırklarında da yine de virulensliğin devam ettiği görülmüştür (Berpohl et al., 1996). Moleküler yöntemler kullanılarak yapılan çalışmalarda, virulent bir ırk olan Cmm382 (NCPB382)'de virulenslikten sorumlu pCM1(27 Kb) ve pCM2(70 kb) olarak bilinen iki tane plazmid belirlenmiştir. Her iki plazmide sahip olan ırkların virulens olduğu sadece bir tanesini taşıyan ırkların ise daha az virulensliğe sahip olduğu anlaşılmıştır. pCM1 ve pCM2 plazmidleri, patojenisiteden sorumlu *celA* ve *pat-1* genlerini kodlamaktadır. *celA* endo- β -1,4-glucanase'ı, *pat-1* ise serine protease'ın sentezinden sorumludur. Daha sonraki yapılan çalışmalarda Cmm'nin hastalık yapma yeteneğinden plazmidlerin yanında Cmm'nin kromozomal DNA'sındaki bölgelerin de sorumlu olduğu anlaşılmıştır

(Muniroh, 2018). pCM1 ve pCM2 plazmidleri alınmış mutant bir ırk olan *Cmm100*'da yapılan çalışmada, Cmm kromozomunun konukçuyu tanıma, enfeksiyon, baskılama ve konukçuda kolonizasyonun sorumlu genleri kodladığı görülmüştür. (Dreier et al. 1997; Jahr et al. 2000; Eichenlaub and Gartemann 2011). Cmm'de hem kromozom hem de plazmid tarafından kodlanan genlerin çoğalma, kolonizasyon ve virulensliğin sorumlu olduğu anlaşılmıştır. Cmm382 izolatında, *chp/TomA* bölgesi olarak adlandırılan bir patojenlikten sorumlu bir kısım mevcuttur. Bu kısım, bütün genom üzerindeki en düşük G:C (%65.5) oranına sahiptir. Solgunluk belirtisinin meydana gelebilmesi için *chp/TomA* bölgesinin varlığına ihtiyaç duyulmaktadır (Chalupowicz et al. 2010). *Chp/TomA* bölgesi susturulmuş olan Cmm27 mutant ırkının solgunluk belirtisi yapamadığı bildirilmiştir (Chalupowicz et al. 2012). Bu çalışmalar doğrultusunda *chp/tomA* bölgesinin bitkinin basal savunmasını baskıladığı, bitkide kolonize olmada sorumlu olduğunu anlaşılmıştır. Cmm genomunda virulenslikten sorumlu olan genler aynı zamanda serine protease sentezlenden sorumludurlar. Genom üzerindeki birçok gen ailesi serine protease sentezinde görev almaktadırlar (Gartemann et al. 2008). 10 farklı serine protease sorumlu genlerin ilk grubu *chp* ailesi olarak isimlendirilmektedir. Bunlardan 7 tanesi *chp/tomA* bölgesinde toplanmıştır ve diğer 3 tanesi ise pCM2 plazmidi (*pat-1*, *phpA* ve *phpB*) üzerindeki yer almaktadır. Bu gen ailesinden *chp/tomA* bölgesindeki *chpC*, etmenin kolonizasyonundan sorumludur (Stork et al. 2008). Virulenslikten sorumlu genlerin ikinci grubu ise chymotrysin ilişkili serine protease sentezinden sorumludur ve bu grup Ppa ailesi olarak isimlendirilmektedir (Gartemann et al. 2008). Bu grup 11 gen içermektedir bunlardan 10 tanesi kromozomal DNA üzerinde ve 1 tanesi de pCM1 plazmidi (*ppaJ*) üzerinde yer almaktadır. 10 kromozomal genden 6 tanesi PAI bölgesindeki geri kalanı ise iki farklı kromozomal locide yer almaktadır. Virulenslikten sorumlu genlerin üçüncü grubu ise subtilase protease sentezinden sorumludur. Bu grubun üzerilerindeki kromozomda yer almaktadır. Bunlardan *sbtA* geni PAI'nin *chp* bölgesindeki yer almaktadır. *sbtB* ve *sbtC* ise kromozomun diğer bölgesinde bulunmaktadır. PAI'de kodlanan pektinin parçalayan bir enzim olan pectate lyases (*PelA1* ve *PelA2*), bitki hücreyi duvarına etki eden önemli bir enzimdir (Savidor et al. 2012). Bu gruptaki genler hem kromozom hem de plazmiddeki genlerin birlikte aktive olması ile gerçekleşmektedir. *Chp/TomA* bölgesinin varlığı olmadığı zaman *celA* ve *pat-1* genlerinin ifadesinde önemli düzeyde azalma meydana gelmektedir.

Aynı şekilde *chp/TomA* bölgesindeki serine protease ifadesi virülenslikten sorumlu plazmidlerin yokluğunda azalma göstermektedir (Chalupowicz et al. 2010). Yaptığımız çalışma da 224 ve 181 no'lu izolatlar en fazla virülensliği göstermiştir. Bu izolatların literatürde bahsedildiği gibi pCM1 ve pCM2 plazmidlerine aynı anda sahip olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. 360, 227,210, 166 no'lu bakterilerin daha az virülenslik gösterdiği bunlardan pCM1 ve pCM2 plazmidlerinden birinin olmamasına bağlı olarak tomatinase veya serine protease gibi enzimlerin aktivitelerin düşüklüğü olarak düşünülmektedir. 16, 22, 23 no'lu izolatların virülenslik göstermemesi her iki plazmitten sahip olmaması olarak düşünülmektedir. Ayrıca *chp/TomA* bölgesinin etki gösterememesi kolonizasyon yapamamasına ve basal savunmayı baskılayamamasına neden olmuş olabilir. Ancak bu izolatlarda LOPAT testlerindeki pektolitik aktivite gözlenmemiştir. Bu da *PelA1* ve *PelA2* genlerinin ifade etmediğini düşündürmektedir.

Bakterilerin genetik varyasyonunun belirlenmesinde tekrarlı dizimleri kullanılmaktadır. Bu durumu biraz açacak olursak. Mikrobiyal genomların toplam genomunun %5'ini tekrarlı DNA dizimleri oluşturmaktadır (Ussery et al., 2004). Bu tekrarlı dizilim elementlerinin birçoğu bütün genomda yer alan intergenic ve extragenic bölgeler içerisinde rastgele olarak dağılım göstermektedir (Ishii and Sadowsky, 2009). Yakın zamanda yapılan çalışmaların doğrultusunda, bu tekrarlı DNA elementlerinin, DNA ve RNA sentezi ve yıkımını (Tobes and Ramos, 2005) veya genomun evrimi ile (Schmidt and Anderson, 2006) ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Bu tekrarlı elemanlar genel olarak; rRNA ve tRNA kodlayanlar, eklemeli dizi elementleri, transpozonlar, kısa polinükleotit tekrarları, mozaik tekrarlı elementler ve diğer tekrarlı veya palindromik sekanslar şeklinde gruplar şeklinde sınıflandırılmaktadırlar. (Sadowsky and Hur, 1998; Versalovic and Lupski, 1998). Bu rastgele dağılan tekrarlı elementlerin boyutları, 15 bp (üç nükleotit içeren beşli tekrarlar.vb)'dan başlarak yüzlerce baz çifti uzunluğa (RLEP elementi..vb) kadar değişiklik gösterebilmektedirler (Versalovic and Lupski, 1998). Bazı tekrarlı elementler, sınırlı sayıdaki bakteri gruplarını kullanılabildikleri (HRS1, RLEP.vb), extragenic palindromic tekrarlı DNA dizileri (REP: Repetitive extragenic palindromic) gibi tekrarlı diziler, birçok bakteri grubunun filogenetik olarak çeşitliliğinin belirlenmesinde kullanılabilmektedir (Sadowsky and Hur, 1998; Versalovic and Lupski, 1998; Tobes and Ramos, 2005). Bakteriyel genomun

analizinde tekrarlı elementler; mikrobiyal ekoloji, çevresel mikrobiyolojisi, moleküler tanılama ve teşhis ve epidemiyoloji çalışmalarında güçlü bir araç olarak kullanılmaktadır. Her mikrobiyal izolatin, genomunun belirli bölgelerinde tekrarlı diziler bulunduğu için bu kısımları amplike eden primerler kullanılarak yapılan PCR yapılabilmektedir. Bu PCR ile tekrarlı dizilerinin arasındaki genomik mesafeye bağlı olarak boyutları farklılık gösteren amplikonlar elde edilebilmektedir. Bu amplikonlar, elektroforez ile görüntülenerek DNA parmak izi olarak adlandırılan her bakteriyel izolata özgü olan bir desen elde edilir (Rademaker et al., 2008). Bu PCR türüne literatürde REP-PCR olarak adlandırılmaktadır (Ishii and Sadowsky, 2009). REP-PCR olarak isimlendirilen Bu DNA parmak izi analizinde en fazla kullanılan elementler; Polytrinucleotid tekrar dizimleri türüne ait olan (GTG)₅ elementi, palindromik sekanslar türüne ait olan 35-40 bp boyutlarındaki REP elementi, Büyük tekrarlı elementler türüne ait olan 124-127 bp boyutundaki ERIC elementi (Entrobacterial Repetitive Intergenic Consensus) ve mozaik tekrarlı elementler türüne ait olan 154 bp boyutundaki BOX elementidir (Versalovic et al., 1991; Versalovic et al. 1994; Rademaker et al., 2008). REP-PCR olarak adlandırılan DNA parmak izi analizinin uygulamalarına yönelik örnek verecek olursak. Bu yöntem ile *Rhizobium* ve *Bradyrhizoum* cinsine ait olan azot fikse eden bakterileri türlerinin genetik varyasyonu başarılı bir şekil ortaya konulabilmiştir (Sadowsky and Hur, 1998). Coğrafik ve ekolojik yönden farklı yerlerden izole edilmiş olan *Nitrobacter* ırkların filogenetik olarak ayrımı yapılabilmektedir (Vanparys et al., 2007). Bitki patojeni olan *Streptomyces* cinsi ile yapılan bir çalışma da, virulent ve avurilent olan ırklarını başarılı bir şekilde ayrılabilmiştir (Sadowsky et al., 1996). *Xanthomonas* cinsine ait bakterilerin patovar düzeyinde ayrımı ortaya konulabilmiştir (Rademaker et al., 2005). Cmm ile yapılan genetik varyasyon analizlerine bakacak olursak. De-Leon et al. (2009)'da yaptığı çalışmada, Kanarya adalarındaki 2002 ile 2007 yıllarında toplanan 54 adet Cmm izolatinın, REP-PCR'da REP, ERIC ve BOX elementleri RAPD-PCR, PCR-RFLP, AFLP ve 16-23S ITS yöntemleri ile genetik varyasyonu ortaya konulmaya çalışılmıştır. Çalışma sonucunda 19 izolatin genetik olarak farklılığı ortaya koyulmuştur. Kullanılan yöntemlerden REP-PCR'ın REP ve ERIC elementlerinde oluşan DNA parmak izi desenlerinde farklılık gözlenmemesine rağmen BOX elementinde, RAPD-PCR ve AFLP'de genetik varyasyon ortaya koyulabilmiştir. Quesada-Ocampo et al., (2012)'de yaptığı çalışma da Michigan eyalaeitndeki

domates alanlarından 1997 ve 1998 yılında toplanmış 718 izolat genetik yapısı yönünden değerlendirilmiştir. Genetik varyasyonu belirlemede sadece REP-PCR'ın BOX elementinden sonuç alınabilmektedir. Çalışma sonucunda Cmm'nin 4 farklı haploid tipine ayrılmıştır. Bu ayrımın domates alanlarının coğrafik yapısına ve virulenslik durumuna göre ayrıldığı gözlemlenmiştir. Wassermann et al.(2017), Arjentina'da 2000-2013 yılları arasında toplanan izolat, genetik varyasyonunun ortaya konulması için REP-PCR'ın REP, ERIC ve BOX elementlerinden yararlanılmıştır. Bu çalışma da REP ve ERIC elementlerinden herhangi bir sonuç alamamıştır. BOX elementinden genetik varyasyon ortaya konulabilmektedir. Bu çalışma sonucunda üç farklı haploid türü belirlenmiştir. Bu ilişkinin yıl, lokasyona göre ayrılmış göstermediği, ayrımın daha çok plazmitte yer alan *celA*, *pat-1* ve kromozomdaki *tomA*, *chpC*, *chpG* and *ppaA* gibi virulenslik genlerinin varlığı ile ilişkili olduğunu gözlemlemiştirler. Yaptığımız çalışmada da literatürde olduğu gibi REP-PCR'dan REP elementinin *Cm* türünde çalışmadığı görülmüştür. ERIC elementinin sadece alt tür düzeyinde türleri ayırabildiği ancak izolatların genetik varyasyonu yönünden sonuç vermediği gözlemlenmiştir. Literatürde olduğu gibi BOX elementinin bu çalışmada genetik varyasyonu başarılı bir şekilde ayırabildiği görülmüştür. Aynı şekilde Cmm izolatlarının yıl ve lokasyon durumundan ayrım görülmemiştir. Avirulent olan 16, 22 ve 23 no'lu izolatların aynı grupta yer alması ve yakın virulenslik gösteren 360, 227, 210 no'lu izolatların ise aynı küme içinde olması literatürde olduğu gibi bu çalışmada da daha çok virulenslik yönünden bir gruplandırma olduğu dikkati çekmiştir.

Tohum kaplama, tohumun görünümünü ve özelliklerini iyileştirmek ve/veya aktif bileşenleri (bitki büyüme düzenleyici, mikro elementler, mikroorganizmalar vb) vermek amacıyla tohum yüzeyine eksojen malzemelerin uygulanması yöntemidir. Genel olarak tohumu patojenlerden korumak, çimlenmesini ve gelişimini artırmak amacıyla yapılmaktadır (Halmer, 2008; Pedrini et al., 2017). Mikroorganizmaların tohuma kaplanması genel olarak; biyokömür ve chitosan, methyl cellulose gibi doğal veya yapay yapıştırıcılar, carboxymethyl cellulose, arap zıncığı, xanthan sakızı ve polysaccharide jel gibi maddeler kullanılabilmektedir (Rocha et al., 2019). Bu çalışmada tohum bakterizasyonu için kullanılan karboksimetil selüloz (CMC), stabil yapıya sahip, iyi çözünabilen, hidrofilik, sıcaklığa duyarlı, toksikolojik açıdan canlılara zarar vermeyen ve doğada kısa süre içerisinde

parçalanabilen bir kimyasaldır. Özellikle kağıt, tekstil, gıda ve kozmetik endüstrisinde kıvam artırıcı ve stabilizatör ve yüzey yapıştırıcısı olarak kullanılmaktadır (Bütün ve ark., 2010). Literatürde bahsedildiği gibi CMC kimyasal özelliklerinden dolayı Cmm etmenine testa üzerindeki tutumunu artırmasından kaynaklı vakum infiltrasyon yöntemine göre daha fazla başarı elde edildiği düşünülmektedir.

Domates bitkisinde sistemik olarak enfeksiyon yapması ve bitkinin son dönemlerine doğru hastalık belirtilerinin ortaya çıkmasından dolayı Cmm etmenine karşı çözümü güçleştirmektedir. Ana bulaşma kaynağı tohum olmasından dolayı hastalığın kontrolünde uygulanacak olan yöntemlerin tohum materyali üzerinden olması gerekmektedir (Özaktan, 1991). Tolerant ve dayanıklı çeşit kullanımı, toprak dezenfeksiyonu, sıcak su uygulamaları, bakırlı bileşiklerin kullanılması ve inorganik/organik asitlerle tohum dezenfeksiyonu gibi uygulamalar bu hastalığa karşı kullanılan yöntemler arasında yer almaktadır. Ancak hastalığın kontrolü için belirtilen yöntemler ve tohum uygulamaları da Cmm'ye karşı çoğu zaman etkili olamamaktadır (Thyr et al., 1973; Shoemaker and Echandi, 1976). Ayrıca hastalığın kontrolünde tavsiye edilen sıcak su uygulaması ve inorganik/organik asit uygulamaları tohum çimlenmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Fatmi and Schaad, 1988). Hastalığı durdurması amacıyla kullanılan bakırlı bileşikler ve mancozeb+bakır karışımı preparatlar ise ksilem üzerinden bu hastalık etmenine mücadelesinde etkili olamamaktadır (Hausbeck et al, 2000). Bahsedilen bu nedenlerden dolayı son yıllarda Cmm'nin mücadelesinde alternatif olarak biyolojik mücadele etmenlerinin kullanımı gündeme gelmiştir. Bu amaçla yararlı bakterilerin biyolojik savaşta kullanımına yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Ülkemizde domates meyvesinin fermantasyonu sırasında elde edilen yararlı bakterilerinin Cmm etmenine olan etkisinin incelendiği (Özaktan 1991), domates bitkisinden izole edilen bitki gelişimi artıran kök bakterilerinin bu hastalık etmenine karşı kullanıldığı (Çetinkaya-Yıldız 2007; Akat, 2008; Mohammadi, 2018) çalışmalar yürütülmüştür. Türkiyede domates meyve etinin fermantasyon sıvısından, fermantasyon sırasında izole edilen antagonistik bakterilerin Cmm'e olan etkisinin araştırıldığı (Özaktan 1991), domates bitkilerinden izole edilen kök bakterilerinin Cmm'e karşı kullanıldığı (Çetinkaya-Yıldız 2007; Akat ve Özaktan 2011) konusunda yayınlar bulunmaktadır.

Bitki patojenlerine karşı yapılan biyokontrol çalışmaları, yararlı mikroorganizmanın izolasyon, *in-vitro* olarak biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerin karakterizasyonu ve bunları antagonistik ve biyokontrol mekanizmaların tespit edilmesine yönelik gerçekleştirilmektedir (Kavitha and Umesha, 2007). Bu çalışmada bu bahsedilen sürece göre planlanmıştır. Çalışma sonucunda 40 farklı bölgeden toplanan 127 domates örneğinden elde edilen 303 epifit ve endofit karakterli bakteri izole edilmiştir. Bu bakterilerin tanısına yönelik testlere baktığımızda; izole edilen lokasyon bakımından %60.13' ü İzmir iline, %21.30'u Aydın iline, %18,56'sı Manisa iline aittir. İzole edildiği bitki kısmı yönünden bakıldığında elde edilen bakterilerin % 60.14'ü kök kısmından, % 20.96'sı gövde kısmından %18.90'ı yaprak kısmından izole edilmiştir. Bakterilerin kolonizasyon durumu yönünden değerlendirildiğinde %52.23'si endofitik, % 47.76'sı epifitik karaktere sahip olduğu tespit edilmiştir. Gram testi sonucuna göre baktığımızda %81.10'unun Gram-, %18.90'ının ise Gram + bakteri olduğu görülmüştür. Koloni morfolojisi yönünden bakıldığında bakterilerin %47.07'si krem, %27.14'ü krem/mukoid, %6.87'si beyaz pudramsı, %5.15'i açık sarı/mukoid, %4.81'i sarı, %4.46'sı sarı/mukoid, % 2.06'sı krem/pudramsı, %1.03'u açık sarı, %0.34'ü kremimsi sarı ve %0.34'ü şeffaf krem koloni morfolojisine sahiptir. 366 nm dalga boyundaki UV altında florasan pigmentasyon durumuna göre değerlendirildiğinde %59.45 florasan pigmentasyonu gözlenmemiş olup % 40.55'inde florasan pigmentasyonu gözlemlenmiştir. 366 nm dalga boyundaki UV altında florasan pigmentasyon veren bakterilerin %72.88'i yeşil renkte, %27.12 ise mavi renkte ışığa gözlemlenmiştir. Levan oluşumu yönünden baktığında %83.50'si levan oluşumu gözlemlenmemiş olup %16.50'sinde levan oluşumu gözlemlenmiştir. Oksidaz aktivitesi yönünden baktığında %56.35'i negatif, %43.64'ü pozitif yönde reaksiyon vermiştir. Pektolitik aktivitesi yönünden değerlendirildiğinde %95.53'ü pektolitik aktivite göstermemiş olup %4.47'si pozitif reaksiyon göstermiştir. Tütün bitkisinde hipersensitif reaksiyon göstermesi duruma göre bakıldığında %93.13'ü reaksiyon vermemiş olup, %6.87'si pozitif reaksiyon vermiştir. Pektolitik aktivite testi, karasal bitkilerin birincil hücre duvarlarında bulunan yapısal bir heteropolysaccharide olan pektini parçalayan pektin metil esteraz, endopolimetilgalakturonaz, endopolygalakturonaz, ekzopolimetilgalakturonaz, endopolygalakturonaz, pektin transeliminaz ve pektik asit transeliminaz enzimlerinin aktivitesini belirlemek için yapılmaktadır (Schaad et al., 2001).

Hipersensitive reaksiyon, patojenle karşı karşıya geldikten sonra bitkilerde ortaya çıkan savunma mekanizmalarından biri de aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Patojen hücre duvarından girdikten sonra hücre çekirdeğinin ve protoplazmasının yapısı hızlı bir şekilde bozularak hücre ölür. Böylece patojenin orada gelişerek çevredeki hücreleri etkilemesi önlenmiş olur. Yani bir patojenin efektör protein salgılamasına karşı, bitkide patojenin etrafındaki hücrelerin öldürülmesini programlayan dayanıklılık genleri tarafından kodlanan (R) proteini harekete geçer. Bunun sonucunda bakteriyel etmenin ölü hücrede lokalizasyonunu sağlayan aşırı duyarlılık reaksiyonu (hipersensitif reaksiyon - HR) meydana gelir (Schaad et al., 2001). Bu iki test özellikle bitkiler açısından patojenik özellikte olma potansiyeli olan bakterilerde görülen bir durumdur. Bu çalışmada toplam izolatların yaklaşık olarak %11.22'si kadarı pektolitik aktivite ve/veya tütünde hipersensitivite testinde pozitif sonuç verdikleri için elenmiştir.

Çalışma sırasında biyokontrol ajanı adayı olarak izole edilen ve ön tanımlama testlerinden sonra elenen 276 izolatı izolata *in-vitro* PGPR ve biyokontrol testleri uygulanmıştır. Bu çalışmada PGPR aktivitesi yönünden siderofor üretimi, IAA üretimi, Fosfataz aktivitesi, ACC-deamilaz aktivitesi, HCN aktivitesi ve *in-vitro* biyokontrol aktivitesini belirlemek için ikili kültür testi yapılmıştır. Bu çalışmadaki *in-vitro* testlerin doğrultusunda tartılı derecelendirme yöntemine göre sırasıyla 56 no'lu KD 17/2, 224 no'lu KD 86/1, 121 no'lu KD 40/3, 15 no'lu KD 4/6, 83 no'lu KD 26/1, 61 no'lu KD 19/1, 247 no'lu KD 98/2, 263 no'lu KD 105/1, 128 no'lu KD 42/1, 21 no'lu KD 6/3, 96 no'lu KD 31/1, 208 no'lu KD 80/1, 34 no'lu KD 10/4, 87 no'lu KD 27/3, 209 no'lu KD 80/1, 34 no'lu KD 10/4, 87 no'lu KD 27/3, 209 no'lu KD 80/2, 65 no'lu KD 19/5, 35 no'lu KD 10/5 ve 76 no'lu KD 24/3 seçilmiştir. Bu izolatlardan 56 no'lu KD 17/2, 83 no'lu KD 26/1, 96 no'lu KD 31/1 ve 208 no'lu KD 80/1 HCN yönünden pozitif vermiştir. Hidrojen siyanür (HCN), kök bakterisi olarak nitelendirilen birçok bakteri cinsi tarafından sentezlenen ve canlı organizmalar üzerinde güçlü bir etkiye sahip uçucu bir sekonder metabolittir. HCN, hücre içerisinde elektron taşınımı sekteye uğratarak hücredeki enerji transfer mekanizmasını inhibe eder. Bu da canlı hücrenin ölümüne yol açmaktadır. *Bacillus*, *Rhizobium* ve *Pseudomonas* cinsine ait türler dahil olmak üzere birçok bakteriyel türde HCN sentezleme yeteneği mevcuttur. Hidrojen siyanür (HCN), birçok rizobakteri tarafından sentezlenen ve birçok organizma üzerinde güçlü bir etkiye

sahip olan uçucu bir ikincil metabolittir. HCN, elektron taşınmasını inhibe eder ve hücredeki enerji mekanizmasını bozar, bu da canlı organizmaların ölümüne yol açar. *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* türleri de dahil olmak üzere birçok bakteri cinsi HCN üretme yeteneğine sahiptir. (Abd El-Rahman et al., 2019). Patojen organizmalara karşı güçlü bir antimikrobiyal metabolit olsa da bitki gelişimine de olumsuz etkileri söz konusudur. Tez çalışmada bakterilerin bitki üzerindeki olumsuz etkisinin anlaşılması için *in-vitro* test sonucunda başarılı olan bakteriler tohum çimlenmesine olan etkilerine bakılmıştır. Bu çalışma sonucunda uygulama yapılan bakterilerin vigor indeksi değerlerin uygulama yapılmayan daha başarılı olduğu görülmüştür. Bu nedenle bu tez çalışmasında HCN üreten bakteriler elenmemiştir ve *in-vivo* çalışmaya geçilmiştir.

In-vitro PGPR ve biyokontrol testi sonunda seçilen ve tohum çimlendirme testi ile sağlaması yapılan 18 aday yararlı bakteri izolatı hastalık şiddeti yönünden *in-vivo* koşullarda değerlendirilmiştir. 18 bakteriyel izolat bitkiye tohum bakterizasyonu şeklinde uygulanmıştır. Bu izolatları içerisinde 247 no'lu KD 98/2 ve 208 no'lu KD 80/1 domates bitkisinde Cmm'nin neden olduğu bakteriyel solgunluk belirtisinin baskılanmasında yeteneğine sahip olduğu anlaşılmıştır. İnhibasyon zonu oluşumu, bakteriyel izolatın antibiyotik veya antimikrobiyal birleşik üretimi yoluyla gerçekleşmektedir (Raza et al., 2016) ve öncelikli biyokontrol mekanizmalarından birisidir (Talibi et al., 2014). Bu çalışmada *In-vitro* koşullar da yapılan araştırmada Cmm'ye karşı 247 no'lu KD 98/2 izolatının 5.23 mm 208 no'lu KD 80/1 izolatının 8.62 mm gibi geniş bir inhibasyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir. Tartılı derecelendirme ile seçilen aday 18 yararlı bakteri etmeni; biyokontrol aktivitesi yanı sıra, fosfat çözünürlüğü, IAA ve siderafor üretimi gibi bitki gelişimini artıran özelliklerde göstermiştir. Siderafor üretimi ve fosfat çözünürlüğü, bitkilerde besin alınımları kolaylaştırıp patojen olarak organizmanın besinden yararlanmasını zorlaştırırken, IAA üretimi bitkinin gelişiminin desteklenmesinde yardımcı olmaktadır (Kashyap et al. 2019). Bu iki izolat içerisindeki 247 no'lu KD 98/2 siderafor aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan blue CAS agarda 3.50 mm yarıçap boyutunda sarı-turuncu zon oluşturarak siderafor üretme yeteneği açısından daha başarılı bulunmuştur. Bitki gelişimi teşvik eden yararlı bakteriler, indol asetik asit ve sitokinin gibi (Arkhipova et al., 2005, Sandhya, 2017) bitki büyümesini artıran metabolitlerin üretimi ile

biyokütle artışını teşvik etmektedirler. Ayrıca bu bakteriler, etilen hormonunun öncülü olan 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC)'den azot kaynağı olarak amonyak ve a-ketobütirat üretimi sağlayan ACC-deamilaz enzimi sentezleyebilmektedirler. Böylece azot içeriğinin sınırlı olduğu yerlerde de bitki büyümesini teşvik edebilmektedirler (Sun et al., 2009). Yapılan tez çalışmasında 247 no'lu KD 98/2 bakteri izolatının *in-vitro*'da 2172.67 ppm gibi çok yüksek bir oranda IAA üretme aktivitesi gösterdiği, ACC deamilaz üretme yeteneğinde olduğu, 3.50 mm fosfataz aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle *in-vivo* biyokontrol etkilerinin araştırma çalışmasında hem hastalık şiddeti bakımından en düşük olması hem de biyomass sonuçların da yine en başarılı elde etmesindeki aktif rol oynadığı düşünülmektedir.

In-vivo çalışma için seçilen aday 18 yararlı bakteri hem biyokontrol hem de bitki gelişimi açısından değerlendirildiğinde 247 no'lu KD 98/2 izolatı en başarılı olarak seçilmiştir. Tohum bakterizasyonu uygulamasında 1. denemede % 64.65, ikinci denemede ise % 85.19 başarı göstemiş olup kümülatif olarak %76.38 başarılı olmuştur. Aynı şekilde sera koşulunda gerçekleştirilen 12. Haftalık 3 yinelemeli deneme kurulmuştur. Birinci deneme de 247 no'lu KD 98/2 izolatı %18.75 $\pm$ 23.93 hastalık şiddeti ve %57.14 etkililik, ikinci denemede 12.50 $\pm$ 25.00 hastalık şiddeti ile % 81.81 etkililik ve üçüncü denemede ise %6.25 $\pm$ 12.50 hastalık şiddeti ve % 93.75 etki etkililik görülmüştür. Üç tekrarlı yapılan sera koşullarındaki deneme de verim parametrelerine bakıldığında meyve sayısı yönünden önemli bir farka neden olmamasına rağmen meyve ağırlığı bakımından %12.01 ile %98.44 arasındaki bir artış sağlamıştır. Meyve boyutu bakımından ise %11,55 ile %150.36 arasındaki bir büyüme artışı sağladığı olduğu gözlemlenmiştir. Bu bakteriyel izolat 16S rRNA bölgesinin amplike etmek için tasarlanmış olan 27F/1492R evrensel primerleri ile gerçekleştirilen moleküler tanıda *Pseudomonas fluorescens* türüne ait olduğu saptanmıştır.

Pseudomonas fluorescens türünde içinde yer aldığı floranslar pseudomonaslar, su, toprak ve bitki yüzeyinde kolonize olabilen patojenik özellik göstermeyen bir bakteri grubudur. Bu grubun içinde yer alan bakteriler, hem bitki gelişimini artırarak hem de bitkideki patojenlerinin sebep olduğu enfeksiyonları önledikleri için birçok çalışma da iyi bir biyokontrol etmeni oldukları görülmüştür

(Wei et al. 1996). Bunun nedeni ise bu bakteri grubunun antibiyotik, HCN ve siderofor gibi sekonder metabolitleri salgıları için düşünülmektedir (O'Sullivan and O'Gara 1992). Ayrıca bu bakterilerin konukçu bitki üzerindeki hızlı bir kolonize olmaları ve patojen mikorganizmalar ile rekabet etmelerinden dolayı bitki hastalıklarının biyokontrolündeki başarısında önemli bir faktör olarak görülmektedir (Hass and Defago, 2005). *Fluorescent pseudomonas*ların ürettiği sekonder metabolitler arasında 2,4-diacetyl phloroglucinol (DAPG) biyokontrol mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır (Delany et al. 2000). *P. fluorescens*'in F113 ırkının Şeker pancarında, *Pythium ultimum*'a karşı (Shanahan et al. 1992), PFM2 ırkının Buğday'da *Septoria tritici*'ye karşı (Levy et al. 1992), CHAO ırkının *Peronospora parasitica* etmenine karşı (Ryu et al., 2004) , Q2-87 ırkının *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* etmenine karşı (Weller et al., 2004) DAPG metabolitinin rol oynadığı belirtilmiştir. En fazla DAPG metabolitinin rol oynadığından bahsedilse de başka antibiyotiklerin de rol oynayabilmektedir. Bunlara örnek olarak, *P. fluorescens* kullanılarak *Macrophomina phaseolina*'nın gelişimi engellenmiştir. Bunun sebebinin ise bir antibiyotik birleşik olarak pirolnitril sentezi olduğu tespit edilmiştir (Karunanithi et al. 2000). *P. fluorescens* 2-79 ırkının bir antibiyotik birleşik olarak phenazine-1-carboxylic acid salgılayarak *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* etmenini baskıladığı bildirilmiştir (Thomashow et al. 1990). *P. fluorescens* Hv37a ırkının, arpa bitkisinde *Pythium ultimum*'a karşı Oomycin A antibiyotik bileşiği sentezleyerek etkili olduğu bildirilmiştir (Gutterson et al. 1986). *P. fluorescens* Pf-5 ırkının pamuk bitkisinde *Rhizoctonia solani* ve *Pythium ultimum* etmenlerine karşı Pyoluteorin antibiyotik birleşigi üreterek etki gösterdiği belirtilmiştir (Howell and Stipanovic 1979). *P. fluorescens* DR54 ırkının şeker pancarında *Rhizoctonia solani* ve *Pythium ultimum* etmenlerine karşı Viscosinamide antibiyotik birleşigi salgılayarak baskı sağladığından bahsedilmiştir (Nielsen et al. 1998). Bu tez çalışmasında da özgün olarak izole edilen ve başarılı bulunana *Pseudomonas fluorescens* izolatının başarısının altında literatürde bahsedilen antibiyotikler olduğu düşünülmektedir. Bu izolatın *in-vitro* testlerde 2172.67 ppm düzeyindeki IAA'nın belirlenmiştir. B tez çalışmasındaki meyve ağırlığı ve meyve büyüklüğü parametrelerinin artışının nedeninde IAA sentezi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gerek besin rekabeti gerekse antagonistik rekabette biyokontrol ajanlarının etkinliğinin belirleyen faktör mikroorganizmanın hızlı çoğalması ve konukçu bitkide hızlı bir şekilde

kolonizasyonu sağlamasıdır. Bu nedenle florasın pseudomonas ırkları biyokontrol konusunda eşsiz bir gruba oluşturmaktadırlar. Bunların rekabetçi özellikleri bitki hastalıklarının biyokontrolunda çığır açıcı bir sayfa açmıştır. Campbell, 20 yıl öncesinde bitki hastalıklarının biyokontrol çalışmalarının geleceğini florasans pseudomonas gruplarının belirleceğini ön görmüştür (Kotan ve Şahin, 2002).

Pseudomonas fluorescens KD98/2 izolatu bu çalışmadaki toplanan domates bitkilerinin kök bölgesinden izole edilmiş olan endofit karakterli bir bakteridir. Epifit karakterdeki bakteriler ile karşılaştırıldığı zaman endofit karakterli mikroorganizmalar konukçu bitkideki savunma sisteminde patojen gibi algılanmadan bitki ile simbiyotik bir ilişkiye girdiklerinden, bulundukları konukçulara çok kolay bir şekilde giriş yapabilirler ve kolonize olabilirler. Ayrıca endofitik mikroorganizmalar, bitki dokusunun içerisinde hayatta kalabilmek için enfeksiyona neden olabilecek patojenik özellikteki organizmalar ile sürekli mücadele halindedirler. Bu neden ile, bitki dokusunda kolonize olmuş endofitik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmaların kolonizasyonunu engellediği düşünülmektedirler (Martinez-Klimova et al. 2017). Endofit karakterli bakterilerin doku içerisindeki yoğunlukları; bitki genotipi, abiyotik ve biyotik koşullardan etkilenebilmektedir (Mahaffee and Kloepper, 1997). Bitki içerisindeki bakteriyel hücre yoğunlukları yönünden değerlendirildiğinde, patojenik özellikte olmayan endofitlerin bitki içerisindeki yoğunlukları, patojenik özellikteki bakterilerin yoğunluk seviyelerine ender olarak ulaşabilmektedir. Genel olarak birçok bitki türü için dokudaki endofitik karakterli bakteri yoğunluğu 10^3 ile 10^5 cfu/g arasında değişiklik göstermektedir (Quadt-Hallmann and Kloepper, 1996). Yapılan tez çalışmasında, tohum bakterizasyonu sırasında tohum üzerindeki bakteri kolonizasyonu 247 (KD 98/2) no'lu uygulamada tohum başına ortalama $2,00 \times 10^3$ cfu/gr görülmüştür. 1. Kotiledon yaprak ile 3. Gerçek yaprak dönemleri arasında $6.84 \times 10^4 - 2.40 \times 10^5$ cfu/gr bir bakteriyel yoğunluk belirlenmiştir. Patojen inokulasyonundan sonra $7,69 \times 10^4$ cfu/gr olarak belirlenen yararlı bakteri yoğunluğu inokulasyondan 3. hafta sonunda hızlı bir şekilde artış göstererek $2,14 \times 10^8$ cfu/gr seviyelerine yükselmiştir. Cmm izolatının yoğunluğu ise inokulasyonu sırasında $1,17 \times 10^6$ cfu/gr iken 3. Hafta sonunda $1,87 \times 10^2$ cfu/gr gibi çok düşük seviyelere inmiştir. Genel olarak *Pseudomonas fluorescens* KD 98/2 patojenin varlığından ve yokluğunda başarılı bir şekilde bitki dokusunda kolonize

olabilmiştir. Cmm'nin kolonizasyonunu başarılı bir şekilde engellemeyi başarmıştır. Pamuk bitkisinde yüzey dezenfeksiyonu yapılmış olan tohumlarda endofit karakterli bakteri yoğunluğu $10^3 - 10^6$ cfu/gr, petiolllerinde $10^1 - 10^4$ cfu/gr olarak ve kök kısmında 104-106 cfu/gr olarak belirlenmiştir (McInroy and Kloepper, 1995). Yonca bitkinin ksilem dokusunda kolonize olmuş olan endofitik karakterli bitkilerin popülasyonu $6.0 \times 10^3 - 4.3 \times 10^4$ cfu/gr düzeyinde olduğu bildirilmiştir (Gagné et al., 1987). *In-vivo* koşullarda yapılan çalışmalarda, bakterinin inokulum yoğunluğu, sıcaklık, nem, bitkinin türü ve genotipi gibi parametreler bakterilerin endofitik kolonizasyonunu etkilemektedir (Pillay and Nowak, 1997). Ayrıca çalışmalardaki örnekleme zamanı, konukçunun fenolojik aşamasıda, bakterilerin hücre yoğunluğunun değiştirebileceği bildirilmiştir. (McInroy and Kloepper, 1994). Yaptığımız tez çalışmasında tohum aşamasındaki yoğunluk literatürdeki bahsedildiği gibi aynı olmasına rağmen bitkinin son aşamasında 10^8 cfu/ gr gibi literatürde bahsedilen sayıların üzerinde bir yoğunluk tespit edilmiştir. Bunun sebebinin literatürde bahsedildiği gibi çalışmada kullanılan test bitkisinin genotipi ve/ya çalışmanın çevre koşullarıa bağlı olduğu düşünülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tez çalışmasının tamamlanması ile domates bitkilerinden izole edilerek elde edilen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e ait olan izolatların biyokimyasal ve moleküler tanısı yapılmış, genetik varyasyonu moleküler olarak ortaya konulmuş, konukçu üzerindeki virulensliği ve simptomları incelenmiştir. Daha sonra bu patojen etmene karşı etkili biyokontrol ajanı bulmak için çalışma ortaya konulmuştur. Bu tez çalışması ile elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

1. Domateste bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in biyokimyasal ve moleküler tanısı yapılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda Aesculin testinin Cmm' için çok belirleyici olmadığı, karbon kaynakları testinin de substrata bağlı olarak farklılık gösterdiği saptanmıştır. Kesin tanıda Cmm5-Cmm6 primerinin etkili olduğu hem güvenilirlik ve hem maliyet açısından moleküler tanılama yöntemlerinin klasik tanılamaya oranla daha avantajlı olduğu söylenebilir.
2. Moleküler olarak Cmm izolatlarının genetik varyasyonunun belirlenmesinde REP-PCR yöntemine ait REP elementinin kullanılmadığı, ERIC elementinin yeterli olmadığı görülmüştür. BOX elementinin tür içi genetik varyasyonu başarılı bir şekilde ayırabildiği görülmüştür. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatları arası genetik varyasyonun izolatların virulenslikleri ile ilişkili olduğu sonucu çıkmıştır. Bu sonuç; avirulent ve/veya hipervirulent ırkları ayırabilecek spesifik markör tasarısına yönelik çalışmalarda değerlendirilmelidir.
3. Bitki hastalıklarına karşı biyolojik savaş etmeni araştırma süreci yoğun emek ve zaman gerektiren bir çalışmadır. Elde edilecek olarak yararlı bakterilerde siderafor üretme, bitki büyüme hormonları salgılama, besin maddelerini yarayışlı hale getirme, bitki savunmasını uyarma ve hedef patojen mikroorganizmanın gelişimi azaltacak antagonistik aktivite göstermeleri beklenmektedir. Bu neden ile bitki denemelerine geçilmeden önce *in-vitro* testler ile bakterilerin elenmesi bu süreci kısaltmaya fayda

sağlamaktadır. Yapılan tez çalışmasında doğadan elde edilen 303 adet izolat *in-vitro* testler ile elenerek 18 izolatın etkili olabileceği belirlenmiş ve bu hipotemizin etkili bir seçim paramatresi olduğu *in vivo* testlerce de onaylanmıştır.

4. HCN üretimi bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyen bir parametre olsa da antagonistik aktivite açısından çok önemli bir faktördür. *In-vitro* testler açısından HCN üreten bakteriler dikkate alınmalıdır. Bu bakteriler tohum çimlendirme testi yardımıyla bitki üzerindeki olumsuz etkileri değerlendirilmelidir. Elde edilen sonuç doğrultusunda elenmeli veya *in-vivo* denemede test edilmek üzere seçilmelidir. Bu çalışmada *Pseudomonas putida* KD 80/1, HCN üreten bir bakteri olmasına rağmen çalışma sonucunda yüksek başarı gösteren ve bitkiye toksik etkisi olmayan bakterilerinden biri olmuştur.
5. *In-vivo* testler ve üretim koşullunda yapılan çalışmalar sonucunda *P. fluorescens* KD 98/2 izolatının hastalık etmeninin ciddi anlamda baskılanmasında ve meyve verimini artırmada etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışma ile bahsedilen izolatın Cmm'ye karşı etkileri ilk kez ortaya konulmuştur.
6. Endofitik karakterli bakterilerin bitki içerisinde kolonize olabilme yeteneğine sahip olmalarından dolayı sadece epifitik karaktere sahip olan bakterilere göre uzun süre hayatta kalmayı sınırlayan sıcaklık, osmotik stres, UV ışınlar gibi çevre koşullarından korunmalarına olanak sağlamaktadır. Bu özellikleri fazla başarı göstermelerine neden olmaktadır. Bu çalışma sonucunda elde edilen en başarılı iki bakteri olan *P. putida* KD 80/1 ve *P. fluorescens* KD 98/2 endofitik karakterli olduğu görülmüştür.
7. Tez çalışması sonucunda en başarılı bulunan *P. fluorescens* KD 98/2 izolatının antimikrobiyal etki mekanizmaları daha iyi detaylandırılmalı, bu izolatın biyofarmulasyon üretim süreci belirlenmeli, insan, çevre sağlığı ve hedef dışı organizmalara olan olumsuz olabilecek potansiyel etkileri

araştırılmalı, elde edilecek biyoformulasyonun üretim koşulunda hem hastalık etmenine hem verime olan etkilerinin değerlendirmelidir .

8. *Pseudomonas fluorescens* KD 98/2 izoladı biyogübre / biyopestisit olarak tarım sektörüne kazandırmalı ve ticari yönden potansiyeli incelenmelidir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abak, K.**, 2016, Türkiye’de domatesin dünü, bugünü ve yarını, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 17, 8-13 ss.
- Abd El-Rahman, A. F., Shaheen, H. A., Abd El-Aziz, R. M. and Ibrahim, D. S.** S., 2019, Influence of hydrogen cyanide-producing rhizobacteria in controlling the crown gall and root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, *Egypt J Biol Pest Control*, 29: 41-52 pp
- Akat, S. ve Özaktan, H.**, 2011, Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığıyla [*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* (Smith) Davis et al.] biyolojik mücadelede bakteriyel antagonistlerin etkinliğinin araştırılması, *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 2 (1), 3-18 pp.
- Akat, S.**, 2008, Domates Bakteriyel Leke veya Kanser (*Clavibacter Michiganensis Subsp. Michiganensis*) Hastalığı’na Karşı Biyolojik Mücadele Yöntemleri, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 95s.
- 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*, 28:1-10 pp
- Aksoy, H. M., Kaya, Y., Ozturk, M., Secgin, Z., Onder, H. and Okumus, A.**, 2017, *Pseudomonas putida* - induced response in phenolic profile of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.) infected by *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, *Journal of Biological Control*, 105(1):6-12 pp.
- Allaire, J.**, 2012, RStudio: integrated development environment for R. *Boston, MA*, 770(394), 165-171 pp.
- Almeida, H. O., Teixeira, F. R., Romeiro, R. S., Silva, D. J. H., Pereira, P. R. G., Fontes, E. P. B. and Baracat-Percira, M. C.**, 2008. Antimicrobial activity of peptide extracts of eggplant leaves in the inhibition of *Ralstonia solanacearum* and *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* growth. *Summa, Phytopathologica*, 34(1): 62-64 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Anonim**, 2021, Domates Hastalık ve Zararlıları ile Mücadele; T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı ve Karantina Daire Başkanlığı Matbaası, Ankara, 64 s.
- Anonymus**, 2015, https://wiki.bugwood.org/Clavibacter_michiganensis_subsp._michiganensis (Erişim tarihi: 21.01.2021)
- Arkhipova T., Veselov S., Melentiev A., Martynenko E., and Kudoyarova G.**, 2005, Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants, *Plant Soil.*, 272: 201–209 pp.
- Bakker, A. W. and Schippers, B.**, 1987. Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* sp. mediated plant growth stimulation. *Soil. Biochem.*, 19: 451-457p
- Basım, E., Basım, H., Dickstein, E. R. ve Jones, J. B.**, 2004, Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey, *Plant Disease*, 88(9): 1048-1049 pp.
- Baysal, O., Giirsoy, Y. Z., Omek, H. and Duru, A.**, 2005. Enhanced tomato resistance to bacterial canker by application of turtle oil, *Journal of General Plant Pathology*, 71: 204-210 pp.
- Baysal, O., Soylu, E. M., and Soylu, S.**, 2003, Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. *Plant Pathol.*, 52:747-753 pp.
- Belgüzar, S.**, 2014, Tokat Yöresinde Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)’nin Tanılanması ve Epidemiyolojisi Üzerine Araştırmalar, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Tokat, 158 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Belgüzar, S., Yanar, Y. ve Aysan, Y.**, 2016, Intensity of bacterial wilt disease of tomato in Tokat and identification of disease agent (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(2), 34-40 ss.
- Bermpohl, A., Dreier, J., Bahro, R. and Eichenlaub, R.**, 1996, Exopolysaccharides in the pathogenic interaction of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* with tomato plants, *Microbiol Res.*, 151:391–399 pp.
- Bloch-Dano, E.**, 2008, *La Fabuleuse Histoire des Legumes*, Grasset, Paris, 192 p.
- Bolanos-carriel, C., Gallegos, P., Ochoa, J. B. and Insuasti, M.**, 2017, Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in naranjilla in Ecuador. *Biotechnología Vegetal*, 17:221–227 pp.
- Bora, T., ve Özaktan, H.**, 1998,. Bitki hastalıklarıyla biyolojik savaş, Prizma Matbaa, 159 s.
- Bric, M.J., Bostock, R.M. and Silverstone S.E.**, 1991. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane, *Appl Environ Microbiol*, 57, 555-538 pp.
- Burokiene D.**, 2006. Early detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seedlings, *Agronomy Research*, 4, 151-154 pp.
- Burokienė, D., Sobiczewski, P. and Berczyński, S.**, 2005, Phenotypic characterization of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* isolates from Lithuania. *Phytopathologia Polonica*, (38), 63-77 pp.
- Bütün, S., İnce, F. G., Ekicia, S., Öztürka, A., Ilgıma, P., Aktaşd, N. ve Şahiner, N.**, 2010, İlaç Salınımı Sistemi İçin Tek basamakta Karboksimetil Selüloz Esaslı Polimerik Partiküller. 24. Ulusal Kimya Kongresi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, 29 Haziran-2 Temmuz 2010, Zonguldak

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Chalupowicz, L., Cohen-Kandli, M., Dror, O., Eichenlaub, R., Gartemann, K. H., Sessa, G., Barash, I. and Manulis-Sasson, S.,** 2010, Sequential expression of bacterial virulence and plant defense genes during infection of tomato with *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Phytopathol*, 100: 252–261 pp
- Chalupowicz, L., Zellermann, E. M., Fluegel, M., Dror, O., Eichenlaub, R., Gartemann, K. H. and Manulis-Sasson, S.,** 2012, Colonization and movement of GFP-labeled *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* during tomato infection, *Phytopathology*, 102(1), 23-31 pp.
- Chang, R. J., Ries, S. M. and Pataky, J. K.,** 1991, Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants, *Phytopathology*, 81, 1276-1281 pp.
- Chang, R. J., Ries, S. M., and Pataky, J. K.,** 1992, Effect of temperature, plant age, inoculum concentration, and cultivar on the incubation period and severity of bacterial canker of tomato, *Plant Diseases*, 76:1150-1155 pp.
- Çetinkaya-Yıldız, R.,** 2007, Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.)'nin Tanımlanması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakterler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana, 191 s.
- David, M., Francis, ve Eileen K.,** 2001, Resistance to bacterial canker in tomato (*Lycopersicon hirsutum* LA407) and its progeny derived from Crosses to *L. Esculentum*, *Plant Dis.*, 85, 1171-1176 pp.
- Davis, M. J., Gillaspie, A. G., Vidaver, A. K., Harris, R.W.,** 1984, *Clavibacter* : a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov. pathogens that cause, *Int J Syst Bacteriol*, 34:107–117 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- De Leon, L., Siverio, F., and Rodriguez, A.,** 2006, Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds using immunomagnetic separation., *J. Microbiol. Methods*, 67:141-149 pp.
- De Mendiburu, F.,** 2014, Agricolae: statistical procedures for agricultural research. *R package version*, 1(1).
- Delany, I., Sheehan, M.M., Fenton, A., Bardin, S., Aarons, S. and O'Gara, F.,** 2000, Regulation of production of the antifungal metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol in *Pseudomonas fluorescens* F113: genetic analysis of ph1F as a transcriptional repressor, *Microbiol Reading*, 146: 537–546 pp
- De-León, L., Rodriguez, A., Llop, P., López, M. M. and Siverio, F.,** 2009, Comparative study of genetic diversity of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* isolates from the Canary Islands by RAPD-PCR, BOX-PCR and AFLP., *Plant Pathology*, 58(5): 862-871 pp.
- Denham, T.,** 2014, Tomatoes: Origins and Development. In: Smith, C. (eds) Encyclopedia of Global Archaeology. Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0465-2_2191
- Dreier, J., Bermpohl, A. and Eichenlaub, R.,** 1995, Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Phytopathology*, 85(4), 462-468 pp.
- Dreier, J., Meletzus, D. and Eichenlaub, R.,** 1997, Characterization of the plasmid encoded virulence region pat-1 of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Mol Plant-Microbe Interact.*, 10:195–206 pp.
- Duman, İ.,** 2016, Sanayilik domates yetiştiriciliği, *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 2(1: 18-21 ss.
- Durmuş, M.,** 2018, Domates Bitkisinde Biyoteknolojik Çalışmalar ve GDO Tanısı, Yüksek Lisans Tezi Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 117 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Durmuş, M., Yetgin, Ö., Abed, M. M., Haji, E. K. ve Akcay, K.,** 2018, Domates bitkisi, besin içeriği ve sağlık açısından değerlendirmesi. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(2), 59-74 ss.
- Eichenlaub, R. and Gartemann, K. H.,** 2011, The *Clavibacter michiganensis* subspecies: molecular investigation of Gram-positive bacterial plant pathogens. *Annu Rev Phytopathol* , 49:445–464 pp.
- El- Abyad, M. S., El-Sayed, M, A., El-Shanshoury A. R. and El-Sabbagh, M.,** 1992, Towards the Biological Control of Fungal and Bacterial Diseases of Tomato Using Antagonistic *Streptomyces* spp, *Plant and Soil* 149: 185 -195 pp.
- Elphinstone, J. and O'Neill, T.,** 2010, Bacterial wilt and canker of tomato (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), Horticultural Development Company, Warwickshire, 8 p.
- EPPO** ,2016, PM 7/42 (3) *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 46(2): 202-225 pp.
- FAO,** 2022, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim tarihi: 14 Aralık 2022)
- Fatmi, M. and Schaad N. W.,** 1988, Semiselective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from tomato seeds, *Phytopathology*, 78: 121 -126 pp.
- Fatmi, M. and Schaad, N. W.,** 2002, Survival of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in infected tomato stems under natural field conditions in California, Ohio and Morocco, *Plant Pathol.*, 51, 149-154 pp.
- Fatmi, M., Schaad, N.W. and Bolkan, H. A.,** 1991, Seed treatments for eradicating *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from naturally infected tomato seeds, *Plant Disease*, 75: 383-385 pp.
- Fatmi, M., Walcott, R. R. and Schaad, N. W.,** 2017, Detection of plant-pathogenic bacteria in seed and other planting material (No. Ed. 2), American Phytopathological Society Press, USA, 372 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gagné, S., Richard, C., Rousseau, H., and Antoun, H.,** 1987, Xylem residing bacteria in alfalfa roots., *Can. J. Microbiol.*, 33: 996–1000 pp.
- Gartemann, K. H., Abt, B., Bekel, T., Burger, A., Engemann, J., Flugel, M., Gaigalat, L., Goesmann, A., Grafen, I., Kalinowski, J., Kaup, O., Kirchner, O., Krause, L., Linke, B., McHardy, A., Meyer, F., Pohle, S., Ruckert, C., Schneiker, S., Zellermann, E-M., pühler, A., Eichenlaub, R., Kaiser, O. and Bartels, D.,** 2008. The genome sequence of the tomato-pathogenic actinomycete *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* NCPPB382 reveals a large island involved in pathogenicity, *Journal of Bacteriology*, 190: 2138-2149 pp
- Gerami, E., Hassanzadeh, N., Abdollahi, H., Ghasemi, A. and Heydari, A.,** 2013, Evaluation of some bacterial antagonists for biological control of fire blight disease, *Journal of Plant Pathology*, 95(1):127–134 pp.
- Gerhardson, B., Alstrom S. and Ramert, B.,** 1985. Plant reactions to inoculation of roots with fungi and bacteria. *J. Phytopathol.*, 114: 108-117 pp.
- Girish, N. and Umesha, S.,** 2005, Effect of plant growth promoting rhizobacteria on bacterial canker of tomato, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 38(3): 235-243 pp.
- Gitaitis, R.D. and Beaver, R.W.,** 1990. Characterization of fatty acid methyl ester content of *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, *Phytopathology*, 80: 318- 321 pp.
- Gitaitis, R.D.,** 1991, Compendium of Tomato Disease, APS press, USA, 26p
- Gleason, M. L., Gitaitis, R. D. and Ricker, M.,** 1993, Recent progress in understanding and controlling bacterial cancer of tomato in Eastern North America Plant, *Plant Disease*, 77(11):1069-1076.
- Gutterson, N. I., Layton, T. J., Ziegler, J. S. and Warren, G. J.,** 1986, Molecular cloning and genetic determinants for inhibition of fungal growth by a fluorescent pseudomonad, *J. Bacteriol.*, 165: 696–703 pp.
- Gül, A.,** 2019. Topraksız Tarım . Meta Basım Yayım, İzmir. 160 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gültekin, M.**, 2018, Potasyum Nitratın Tuz Stresinde Yetişen Domates Bitkisinin Fizyolojik Gelişimine ve Verime Etkisi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 34s (Yayınlanmamış)
- Hadas, R., Kritzman, G., Kletman, F., Gefen, T. and Manulis, S.**, 2005, Comparison of extraction procedures and determination of the detection threshold for *Clavibacter michiganensis ssp. michiganensis* in tomato seeds, *Plant Pathology*, 54: 643-649 pp.
- Hallmann, J., Quadt-Hallman, A., Mahafee, W.F. and Kloepper, J.W.**, 1997, Bacterial endophytes in agricultural crop, *Canadian Journal of Microbiology*, 43, 37-42 pp.
- Halmer, P.**, 2008, Seed technology and seed enhancement, *Acta Hort.*, 771, 17–26 pp.
- Hass, D. and Defago, G.**, 2005, Biological control of soil born pathogens by fluorescent Pseudomonads, *Nature Rev Microbiol.*, 3: 307–319 pp.
- Hausbeck, M. K., Bell, J., Meddina-Mora, C., Podolsky, R. and Fulbright, D. W.**, 2000, Effect of bactericides on population sized and spread of *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* on tomatoes in the greenhouse and on disease development and crop yield in the field, *Phytopathology*, 90. 39 -44 pp.
- Heiser, B., H.**, 1973, Seed to Civilization: The Story of Man's Food, W. H. Freeman and Company, San Francisco, 243 p.
- Heuvelink, E.**, 2018, Tomatoes (Vol. 27). CABI. doi: 10.1079/cabicompndium.31837.
- Howell, C. R. and Stipanovic, R. D.**, 1979, Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium., *Phytopathology*, 69: 480–482 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hwang, I. S., Oh, E. J., Song, E., Park, I. W., Lee, Y., Sohn, K. H. and Oh, C. S., 2022.** An apoplastic effector Pat-1Cm of the gram-positive bacterium *Clavibacter michiganensis* acts as both a pathogenicity factor and an immunity elicitor in plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 888290
- Ishii, S. and Sadowsky, M. J., 2009,** Applications of the rep-PCR DNA fingerprinting technique to study microbial diversity, ecology and evolution. *Environmental microbiology*, 11(4), 733-740 pp.
- Jahr, H., Bahro, H., Burger, A., Ahlemeyer, J., and Eichlaub, R., 1999.** Interaction between *Clavibacter michiganensis* and its host plants, *Environmental Microbiology*, 1(2): 113-118 pp.
- Jahr, H., Dreier, J. and Meletzus, D., 2000,** The endo- β -1, 4-glucanase CelA of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* is a pathogenicity determinant required for induction of bacterial wilt of tomato. *Mol plant-microbe Interact.*13:703–714 pp.
- Jetiyanon, K. and Kloepper, J.W., 2002,** Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases, *Biological Control*, 24(3):285–291 pp.
- Johnson, M., Zaretskaya, I., Raytselis, Y., Merezuk, Y., McGinnis, S. and Madden, T. L., 2008,** NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic acids research*, 36(2), 5-9 pp.
- Jones Jr, J. B., 2007,** Tomato plant culture: in the field, greenhouse, and home garden. CRC press. 400 p.
- Jung, W. J., Mabood, F., Souleimanov, A., Whyte, L. G., Niederberger, T. D. and Smith, D. L., 2014,** Antibacterial activity of antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* DJM-51 against phytopathogenic *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* ATCC 7429 in vitro. *Microbial pathogenesis*, 77, 13-16 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kabelka, E., W. Yang, and Francis, D. M.,** 2004, Improved tomato fruit color within an inbred backcross line derived from *Lycopersicon esculentum* and *L. hirsutum* involves the interaction of loci. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(2): p. 250-257 pp.
- Kahveci, E. ve Gürcan, A.,** 1993. Antalya ilinde domateslerdeki bakteriyel hastalıkların tespiti, *Bitki Koruma Bülteni*, 33(3-4): 147-151 pp.
- Kane, M. D., L. K. Poulsen, and D. A. Stahl.,**1993, Monitoring the enrichment and isolation of sulfate-reducing bacteria by using oligonucleotide hybridization probes designed from environmentally derived 16S rRNA sequences, *Appl. Environ. Microbiol.*, 59:682-686 pp.
- Karunanithi, K, Muthusamy, M and Seetharaman, K.,** 2000, Pyrolnitrin production by *Pseudomonas fluorescens* effective against *Macrophomina phaseolina*, *Crop Res Hiasr*, 19: 368–370 pp.
- Kashyap, B. K., Solanki, M. K., Pandey, A. K., Prabha, S., Kumar, P. and Kumari, B.,** 2019, Bacillus as plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a promising green agriculture technology. In Plant health under biotic stress Springer, Singapore. 219-236 pp.
- Kassambara, A. and Mundt, F.,** 2017, Factoextra: extract and visualize the results of multivariate data analyses, *R package version*, 1(5), 337-354 pp.
- Kavitha, R. and Umesha, S.,** 2007, Prevalence of bacterial spot in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. *Crop protection*, 26(7), 991-997 pp.
- Kawaguchi, A., Tanina, K. and Inoue, K.,** 2010, Molecular typing and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouses in Japan, *Plant Pathol.*, 59:76-83 pp.
- King, E.O., Ward, M.K. and Raney, D.,** 1954, Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin, *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44:301-307 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Klement, Z., Mavridis, A., Rudolph, K., and Vidaver, A.**, 1990, Methods in Phytobacteriology (Edts: Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D.C.), Akadémiai Kiadó, Budapest, 568p.
- Kolomiets, J. V., Grygoryuk, I. P. and Butsenko, L. M.**, 2017, Bacterial diseases of tomato plants in terms of open and covered growing of Ukraine. *Annals of Agrarian Science*, 15(2), 213-216 pp.
- Kotan, R. ve Sahin, F.**, 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 31(1), 111-119 pp.
- Labadie, J. and Hébraud, M.**, 1997, Purification and characterization of a collagenolytic enzyme produced by *Rathayibacter* sp. strains isolated from cultures of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Journal of applied microbiology*, 82(2), 141-148 pp.
- Lanteigne C., Gadkar V. J., Wallon T., Novinscak A. and Fillion M.**, 2012, Production of DAPG and HCN by *Pseudomonas* sp. LBUM300 contributes to the biological control of bacterial canker of Tomato, *Journal of Phytopathology* 102(1): 967-973 pp.
- Lazar, I. and Lazar, I.**, 2010, Gel Analyzer 2010a: Freeware 1D gel electrophoresis image analysis software.” <http://www.gelanalyzer.com> (Erişim tarihi: 27 Ocak 2022)
- Lê, S., Josse, J. and Husson, F.**, 2008, FactoMineR: an R package for multivariate analysis. *Journal of statistical software*, 25(1), 1-18 pp.
- Lecko, K.**, 2015, Reisetomate, <https://www.amifellows.org/post/reisetomate> (Erişim tarihi: 11 Aralık 2022).
- Lelis, F. V., Czajkowski, R., Souza, R., Ribeiro, D. and Wolf, J.**, 2014, Studies on the colonization of axenically grown tomato plants by a GFP tagged strain of *C. michiganensis* subsp. *Michiganensis*, *Eur. J. Plant Pathol.*, 139: 53-66 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lelliot, R. and Stead, D.**, 1987. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants.. s.l.:Oxford: Blackwell Scientific Publications, 216 p.
- Leon, L., Siverio, F. and Rodriguez, A.**, 2006. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds using immunomagnetic separation, *Journal of Microbiological Methods*, 67, 141-149 pp.
- Levy, E., Gough, F. J., Berlin, K. D., Guiana, P.W. and Smith, J. T.**, 1992, Inhibition of *Septoria tritici* and other phytopathogenic fungi and bacteria by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotics, *Plant Pathol.*, 41: 335–341 pp.
- Louws, F. J., Bell, J., Medina-Mora, C. M., Smart, C. D., Opgenorth, D., Ishimaru, C. A., Hausbeck, M. K., de Bruijn, F. J. ve Fulbright, D. W.**, 1998, Rep-PCR—Mediated Genomic Fingerprinting: A rapid and effective method to identify *Clavibacter michiganensis*, *Phytopathology*, 88: 862-868 pp.
- Lue, Y.S., Deng, W.L., Wu, Y.F., Cheng, A.S., Hsu, S.T., and Tzeng, K.C.**, 2010, Characterization of *Xanthomonas* associated with bacterial spot of tomato and pepper in Taiwan., *Plant Pathol. Bull.*, 19:181-190 pp.
- Mahaffee, W.F. and Kloepper, J.W.**, 1997, Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with fieldgrown cucumber (*Cucumis sativus* L). *Microb Ecol* 34:210–223
- Martinez-Klimova, E., Rodríguez-Peña, K., and Sánchez, S.**, 2017, Endophytes as sources of antibiotics, *Biochem. Pharmacol.*, 134, 1-17 pp.
- McInroy, J. A. and Kloepper, J. W.**, 1994, Studies on indigenous endophytic bacteria of sweet corn and cotton, In: *Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms. Biotechnology and the Release of GMOs.* O’Gara, F., Dowling, D. N., and Boesten, B., Eds., VCH, Verlagsgesellschaft mbH, Germany, pp. 19–28.
- McInroy, J. A. and Kloepper, J. W.**, 1995, Population Dynamics of endophytic bacteria in field-grown sweet corn and cotton, *Can. J. Microbiol.*, 41: 895–901pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Milijasevic, S., Todorovic, B., Potocnik, I., Rekanovic, E. and Stepanovic, M.,** 2009 .Effects of Copper-based compounds, antibiotics and a plant activator on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouse tomato seedlings. *Pestic. Phytomed.*, 24, 19-27 pp.
- Minoia, S., Petrozza, A., D'Onofrio, O., Piron, F., Mosca, G., Sozio, G. and Carriero, F.,** 2010. A new mutant genetic resource for tomato crop improvement by TILLING technology. *BMC research notes*, 3(1), 1-8 pp.
- Mohammadi, P.,** 2018, Domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* Subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.)'nin biyoajan bakteriler kullanılarak mücadele imkanlarının araştırılması, Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 125 s.
- Mraz, I, Beran, P. and Kokoskova, B.,** 2011. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from tomato plants and seeds using ELISA, IF and PCR with commercial and own primers, *Acta Horticulturae*, 914: 57-60 pp.
- Muniroh, M. N. M.,** 2018, Different approaches of combating bacterial canker in tomato: in pursuit of resistance. PhD Thesis , Wageningen University, Holland, 145 p.
- Nautiyal, C. S.,** 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170, 265-270 pp.
- Nielsen, M. N., Sorensen, J., Fels, J. and Pedersen, H. C.,** 1998, Secondary metabolite- and endochitinase-dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere, *Appl. Environ. Microbiol.*, 64: 3563–3569 pp.
- Novinscak, A., Gadkar, V. J., Joly, D. L. and Filion, M.,** 2016, Complete genome sequence of *Pseudomonas brassicacearum* LBUM300, a disease-suppressive bacterium with antagonistic activity toward fungal, oomycete, and bacterial plant pathogens, *Genome Announcements*, 4(1): 1623-1638 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Nunes, C., Usall, J., Teixido, N. and Vinas, I.**, 2001, Biological control of postharvest pear diseases using a bacterium, *Pantoea agglomerans* CPA-2, International journal of food microbiology, 70(1-2): 53-61 pp.
- O'Sullivan, D.B. and O'Gara, F.**, 1992, Traits of fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens, *Microbiol Rev*, 56(1): 662–676 pp.
- Ozaktan H, Çakır B, Gül A, Yolageldi L, Akköprü A, Fakhraei D and Akbaba, M.**, 2015. Isolation and Evaluation of Endophytic Bacteria Against *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* Infecting Cucumber Plants. *Austin J Plant Biol* - 1 (1): 1-6 pp.
- Öktem, Y.E.**, 1984, Domates bakteriyel solgunluğu (*Corynebacterium michiganense*)’nun Ankara İlindeki yayılışı, etmenin toprak ve bitkiden izolasyonu ile bitki artıklarında yaşama süresi üzerine çalışmalar, Türkiye’de Sertifikalı ve Kontrollü Tohumluk Üretim ve Dağıtım Sorunları Sempozyumu, 8-10 Şubat, İzmir, 27 s.
- Öktem, Y. E. ve Benlioğlu, K.**, 1993. Orta Anadolu Bölgesi’nde Domates Ekim Alanlarında Bakteriyel Hastalıklar Üzerinde Ön Çalışmalar, Bitki Koruma Bülteni, 33(1-2), 1-7 ss.
- Özaktan, H.**, 1991, Domates Bakteriyel Solgunluğu (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* (Smith) Davis et al) ile savaşım olanakları üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 99 s.
- Parte, A., Whitman, W. B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H. J., Trujillo, M. E. and Suzuki, K. I.**, 2012 . *Bergey's manual of systematic bacteriology: volume 5: the Actinobacteria*. Springer Science & Business Media, 1283 p.
- Pedrini, S., Merritt, D. J., Stevens, J., Dixon, K.**, 2017, Seed coating: science or marketing spin?, *Trends Plant Sci.*, 22, 106–116 pp.
- Petro-Turza, M.**, 1986, Flavor of tomato and tomato products, *Food Reviews International*, 2(3): 309-351 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pillay, V. J. and Nowak, J.**, 1997, Inoculum density, temperature and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium., *Can. J. Microbiol.*, 43:354–361 pp.
- Quadt-Hallmann, A. and 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 pp.
- Quesada-Ocampo, L. M., Landers, N. A., Lebeis, A. C., Fulbright, D. W. and Hausbeck, M. K.**, 2012, Genetic structure of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* populations in Michigan commercial tomato fields. *Plant disease*, 96(6), 788-796 pp.
- Rademaker, J. L. W., Louws, F. J., Schultz, M. H., Rossbach, U., Vauterin, L., Swings, J., and de Bruijn, F. J.**, 2005, A comprehensive species to strain taxonomic framework for *Xanthomonas*, *Phytopathology*, 95: 1098–1111 pp.
- Rademaker, J.L.W., Louws, F.J., Versalovic, J.V., and de Bruijn, F.J.**, 2008, Characterization of the diversity of ecologically important microbes by rep-PCR genomic fingerprinting. In *Molecular Microbial Ecology Manual*. Kowalchuck, G.A., de Bruijn, F.J., Head, I.M., Akkermans, A.D.L., and van Elsas, J.D. (eds). Dordrecht, the Netherlands: Springer, pp. 611–644 pp.
- Rai, P. and Strobel, G.**, 1969, Phytotoxic glycopeptides produced by *Corynebacterium michiganense*. II. Biological properties, *Phytopathology*, 59:53-57 pp.
- Raiola, A., Rigano, M. M., Calafiore, R., Frusciante, L. and Barone, A.**, 2014, Enhancing the health-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. *Mediators of inflammation*, 1: 1-16
- Raza, W., Ling, N., Yang, L., Huang, Q., and Shen, Q.**, 2016, Response of tomato wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* to the volatile organic compounds produced by a biocontrol strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-9. *Sci Rep*, 6:1–13 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rick, C., M.**, 1976, Tomato. In *Evolution of Crop Plants*, N.W. Simmonds (Ed), London and New York, 268-273
- Ricker, M. D. and Riedel, R. M.**, 1993, Effect of secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on yield of northern processing tomatoes, *Plant Diseases*, 77: 364-366 pp.
- Rocha, I., Ma, Y., Souza-Alonso, P., Vosátka, M., Freitas, H. and Oliveira, R. S.**, 2019, Seed coating: a tool for delivering beneficial microbes to agricultural crops, *Frontiers in Plant Science*, 10, 1357- 1373 pp.
- Roy A. A., Pasichnyk L. A., Tserkovniak L. S., Khodos S. F. and Kurdish L. K.**, 2012, Influence of bacteria of *Bacillus* genus on the agent of bacterial cancer of tomatoes, *Mikrobiologichni Zhurnal*, 74(5): 74-80 pp.
- Ryu, C. M., Farag, M. A., Hu, C. H., Reddy, M. S., Kloepper, J. W., and Paré, P. W.**, 2004, Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*, *Plant Physiol.*, 134:1017-1026 pp.
- Sadowsky, M. J., Kinkel, L. L., Bowers, J. H., and Schottel, J. L.**, 1996, Use of repetitive intergenic DNA sequences to classify pathogenic and disease-suppressive *Streptomyces* strains, *Appl Environ Microbiol.*, 62: 3489–3493 pp.
- Sadowsky, M.J., and Hur, H. G.**, 1998, Use of endogenous repeated sequences to fingerprint bacterial genomic DNA. In *Bacterial Genomics: Physical Structure and Analysis*. de Bruijn, F.J., Lupski, J.R., and Weinstock, G.M. (eds). New York, NY, USA: Chapman & Hall, pp. 399–413 pp.
- Sandhya, V.**, 2017, Endophytes from maize with plant growth promotion and biocontrol activity under drought stress. *Russ. Agric. Sci.*, 43:22–34 pp.
- Santos, M. S., Cruz, L., Norskov, P. and Rasmussen, O. F.**, 1997. A rapid and sensitivedetection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds by polymerase chain reaction. *Seed Science and Technology*, 25(1):581-584 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Saravanakumar, D. and Samiyappan, R.**, 2007, ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants, *Journal of Applied Microbiology*, 102(5):1283–1292 pp
- Savidor A, Teper D, Gartemann KH, Eichenlaub R, Chalupowicz L, Manulis-Sasson S, Barash I, Tews H, Mayer K, Giannone RJ, Hettich RL, Sessa G.**, 2012, The *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*-tomato interactome reveals the perception of pathogen by the host and suggests mechanisms of infection, *J Proteome*, 11(2):736-50
- Schaad N. W., Jones J. B., and Chun W.**, 2001, Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, American Phytopathological Society Press, USA, 373 p.
- Schmidt, A.L., and Anderson, L.M.**, 2006, Repetitive DNA elements as mediators of genomic change in response to environmental cues, *Biol Rev*, 81: 531–543 pp.
- Seçgin, Z., Arvas, Y. E., Ssendawula, S. P. and Yilmaz, K.**, 2018, Selection of Root-Knot Nematode Resistance in Inbred Tomato Lines Using CAPS Molecular Markers, *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(1), 10-16 pp.
- Sen Y., Wolf, J. V. D, Visser, R. G. F. and Heusden, S. V.**, 2015, Bacterial canker of tomato: Current Knowledge of Detection, Management, Resistance and Interactions, *Journal of Plant Disease*, 99(1): 4-13 pp.
- Serçe, S. ve Görgülü, Ö.**, 2009, Yapay Bir Veri Seti İle Tartılı Derecelendirme Yönteminin Yeniden Değerlendirilmesi, *Alatarım*, 8(2):43–50 ss.
- Shanahan P, O’Sullivan D. J., Simpson, P., Glennon, J.D. and O’Gara, F.**, 1992, Isolation of 2,4-diacetylphloroglucinol from a fluorescent pseudomonad and investigation of physiological parameters influencing its production, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58:353–358 pp.
- Sherf, A. F. and Macnab, A. A.**, 1986. Vegetable diseases and their control. A Wiley Interscience Publication, New York, 711 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shoemaker, P. B. and Echandi, F.**, 1976, Seed and plant bed treatment for bacterial canker of tomato. *Plant Dis. Rep.* 60: 163 -166 pp.
- Slusarski, C.**, 2004, Evaluation of chemical and biological control methods for their potential to reduce bacterial canker of tomato in a greenhouse stonewool cultivation system. *Acta Horticulture*, 698, 299-304 pp.
- Smart, R. E. and Bingham, G. E.**, 1974, Rapid estimates of relative water content, *Plant physiology*, 53(2), 258-260.
- Soykan, Ö.**, 2010. Bazı Bitki Aktivatörleri ile Organik ve İnorganik Gübrelerin Domateste Bakteriyel Solgunluk Hastalığına Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 69 s.
- Stork, I., Gartemann, K. H., Burger, A. and Eichenlaub, R.**, 2008, A family of serine proteases of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: chpC plays a role in colonization of the host plant tomato. *Molecular Plant Pathology*, 9(5), 599-608 pp.
- Soylu, S., Baysal, O. ve Soylu, E.M.**, 2003, Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings, *Plant Science*, 165, 1069-1075 pp.
- Sönmez, K. and Ellialtıoğlu, Ş. Ş.**, 2014, Domates, karotenoidler ve bunları etkileyen faktörler üzerine bir inceleme. *Derim*, 31(2): p. 107-130 ss.
- Strider, D.**, 1967, Survival studies with the tomato bacterial canker organism. *Phytopathology*, 57:1067–1071 pp
- Sun J., Yu J., Liu Z., Wang H., Yan J., and Zhao B.**, 2012, Identification and activity determination of an anti-bacterial canker of tomato marine actinomycete, *Journal of Jilin Agricultural University*, 34(4): 391-394 pp.
- Sun Y., Cheng Z., Glick B.R.**, 2009, The presence of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase deletion mutation alters the physiology of the endophytic plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN., *FEMS Microbiol. Lett.*, 296:131–136 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Talibi, I., Boubaker, H., Boudyach, E.H., and Ait Ben Aoumar, A., 2014.** Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. *J. Appl. Microbiol.*, 117, 1-17 pp.
- Talibi, L., Amkraz, N., Askarne, L., Msanda, F., Saadi, B., Boudyach, E.H., Boubaker, H., Bouizgarne, B. and Ben Aoumar, A., 2011,** Antibacterial activity of moroccan plants extracts against *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, the causal agent of tomatoes' bacterial canker, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(17), 4332-4338 pp.
- Tanovic, B., Milijasevic, S. and Obradovic, A., 2007,** In-vitro effect of plant essential oils on growth of some soil-borne pathogens. *Acta Horticulturae*, 729, 467-470 pp.
- Thomashow, L.S., Weller, D.M., Bonsall, R.F. and Pierson, L.S., 1990,** Production of the antibiotic phenazine-1-carboxylic acid by fluorescent pseudomonas species in the rhizosphere of wheat. *Appl Environ Microbiol*, 56: 908–912 pp.
- Thyr, B. D., E., Webb, C. A., Jaworski and Rateliffe, T. J., 1973,** Tomato bacterial canker: control by seed treatment, *Plant Dis. Rep.*, 57: 974-977 pp.
- Tobes, R., and Ramos, J.-L., 2005,** REP code: defining bacterial identity in extragenic space. *Environ Microbiol*, 7: 225–228 pp.
- Tokgönül, S., 1998.** Ticari domates tohumlarında bakteriyel solgunluk etmeni (*Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*)'ninsaptanması ve etmene karşı mücadele olanakları üzerine araştırmalar. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora, Tezi, Adana, 93s (Yayınlanmamış)
- Townsend, G. R., 1943,** Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments, *Plant Disease Reporter*, 27, 340-343 pp.
- TUİK, 2022,** <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim tarihi: 14 Aralık 2022)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ussery, D.W., Binnewies, T.T., Gouveia-Oliveira, R., Jarmer, H., and Hallin, P.F.,** 2004, Genome update: DNA repeats in bacterial genomes. *Microbiology*, 150: 3519–3521 pp.
- Utkhede, R. and Koch, C.,** 2004. Biological treatments to control bacterial canker of greenhouse tomatoes, *BioControl*, 49: 305-313 pp.
- Vanparys, B., Spieck, E., Heylen, K., Wittebolle, L., Geets, J., Boon, N., and De Vos, P.,** 2007, The phylogeny of the genus *Nitrobacter* based on comparative rep-PCR, 16S rRNA and nitrite oxidoreductase gene sequence analysis, *Syst Appl Microbiol.*, 30: 297–308 pp.
- Versalovic, J., and Lupski, J. R.,** 1998, Interspersed repetitive sequences in bacterial genomes. In *Bacterial Genomics: Physical Structure and Analysis*. de Bruijn, F.J., Lupski, J.R., and Weinstock, G.M., 38-48 pp.
- Versalovic, J., Kapur, V., Koeuth, T., Mazurek, G. H., Whittam, T. S. and Musser, J. M.,** 1995, DNA fingerprinting of pathogenic bacteria by fluorophore-enhanced repetitive sequence-based polymerase chain reaction, *Arch Pathol Lab Med* , 19(1): 23–29 pp.
- Versalovic, J., Koeuth, T. and Lupski, J. R.,** 1991, Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes, *Nucleic Acids Res*, 19(1): 6823-6831 pp.
- Versalovic, J., Schneider, M., de Bruijn, F.J., and Lupski, J.R.,** 1994, Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence based PCR (rep-PCR), *Methods Cell Mol Biol.*, 5: 25–40.
- Wassermann, E., Montecchia, M. S., Correa, O. S., Damián, V. and Romero, A. M.,** 2017, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* strains virulence and genetic diversity. a first study in Argentina. *European Journal of Plant Pathology*, 149(1), 35-42 pp.
- Wei, G., Kloepper, J. W. and Tuzun, S.,** 1996, Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*. 86(2):221-224 pp

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Weller, D. M., Van Pelt, J. A., Mavrodi, D. V., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M., and Van Loon, L. C.,** 2004, Induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG)-producing *Pseudomonas fluorescens*., *Phytopathology*, 94:108-109 p
- Yang, X. E., Long, X. X., Ni, W. Z., Ye, Z. Q., He, Z. L., Stoffella, P. J., and Calvert, D. V.,** 2002, Assessing copper thresholds for phytotoxicity and potential dietary toxicity in selected vegetable crops, *J. Environ. Sci. Heal. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, 37:625-635 pp.
- Yasuhara-Bell, J. H.,** 2014, Establishment and validation of loop-mediated amplification for specific detection of tomato bacterial pathogen *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, Doctoral dissertation, University of Hawaii at Manoa, USA. 214 p
- Yıldız, R. Ç.,** 2007. Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.)'nin Tanınması ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması.(Doktora Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı, Adana. 194s.
- Yılmaz, M.,** 2014, Bazı uçucu yağların domates bakteriyel kanser ve solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) etmeninin kontrolündeki etkinliğinin belirlenmesi ve bu yağların film kaplamada kullanımı”, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Akdeniz Üniversitesi Antalya.
- Yılmaz, K, Faten, A. R., Arvas, Y. E. ve Durmuş, M.,** 2018, Domates Bitkisi Ve in Vitro Mikro Çoğaltımı (Tomato Plant and Its In Vitro Micropropagation), *Journal of Engineering Technology and Applied Sciences*, 3(1), 57-73 pp.
- Yogev, A., Raviv, M., Kritzman, G., Hadar, Y., Cohen, R., Kirshner, B. and Katan, J.,** 2009, Suppression of bacterial canker of tomato by composts. *Crop Protection*, 28, 97-103 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Zhang, W., Yang, W., Meng, Q., Li, Y. and Liu, D.,** 2010, Screening and identification of antagonistic *Streptomyces* spp. against *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* from tomato rhizosphere, *Frontiers of Agriculture in China*, 4: 159-164 pp.
- Zhao, W. I., Chen, H. Y., Zhu, S. F., Xia, M. X. and Tan, T. W.,** 2007, One-step detection of *Clavibacter michiganensis subsp. michigonensis* in symptomless tomato seeds using a tagman probe, *Journal of Plant Pathology*, 89 (3), 349-351 pp.
- Zimbro, M.J., Power D.A., Miller S.M., Wilson, G.E. and Johnson, J.A.,** 2009, Difco & BBL Manual: Manual of Microbiological Culture Media, 2nd ed, Becton Dickinson and Company, Sparks, 686p.

TEŞEKKÜR

Bu Doktora tez çalışmam deneyimlerinden yararlandığım, fikirleri ve katkılarıyla bana rehberlik eden, değerli bilgilerini ve zamanını benimle paylaşan, her zaman hoşgörölü ve sabırlı yaklaşımıyla destek olan birlikte çalışmaktan büyük onur duyduğum sayın hocam Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezin oluşumu sırasında geçen süreç içerisinde katkılarından dolayı tez izleme komitesi üyesi hocalarım Prof. Dr. Ayşe GÜL ve Dr. Öğr. Üyesi Nedim ÇETİNKAYA'ya ayrıca tezin değerlendirmesinde katkı sunan tez jürisi hocamolarım Prof. Dr. Kubilay Kurtuluş BAŞTAŞ ve Doç. Dr. Fırat PALA'ya teşekkürler ederim.

Çalışmamının uygulama aşamasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Gizem ERYİĞİT, Dr. Sercan PAZARLAR, Arş. Gör. Nihan GÜNEŞ ve Zir. Yük. Müh. Zeliha Ayyüce KARAKUŞ başta olmak üzere katkı sağlayan herkese teşekkür ederim.

İzolat temininde ve tezin uygulaması sırasındaki verdiği katkılardan dolayı Doç. Dr. Ümit ÖZYILMAZ'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi olarak her türlü desteği esirgemeyen babam Mehmet ŞANVER, annem Emine Gürcan ŞANVER ve abim Umut ŞANVER'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu doktora tezi, Öğretim Üyesi Yetiştirme Programı (ÖYP) kapsamında Ege Üniversitesi ÖYP koordinasyon birimi tarafından desteklenmiştir.

04 / 09 / 2023

Utku ŞANVER

ÖZGEÇMİŞ

Uku ŞANVER İlk ve Orta öğrenimi Salihli Altınordu İlköğretim Okulunda, lise öğrenimini Salihli Sekine Evren Anadolu Lisesinde tamamladı. 2007 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği programında eğitime başladı. 2012 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünden Yüksek Onur derecesiyle mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Entomoloji Programında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2014 yılında Entomoloji programındaki yüksek lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Entomoloji Programında doktora eğitiminde başladı. 2015 yılında dahil olduğu TÜBİTAK 1001 projesindeki proje bursiyerliği pozisyonundan dolayı Ankara Üniversitesi Bitki Koruma Bölümüne geçiş yaptı. 2016 yılında Öğretim Üyesi Yetiştirme programı kapsamında Siirt Üniversite Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandı. Anabilim Dalı değişikliği nedeniyle entomoloji programındaki doktora eğitimi tamamlayamadı ve ÖYP kapsamında 2016 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı Fitopatoloji Programında tekrardan doktora eğitimine başladı. 2017 yılında 2547 sayılı kanunun 35. Maddesi gereğince Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandı. Halen bu bölümde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya devam etmektedir.