

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ

**DOMATES BAKTERİYEL SOLGUNLUK HASTALIĞI ETMENİ
[*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.]’NİN
TANILANMASI VE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOMATES BAKTERİYEL SOLGUNLUK HASTALIĞI ETMENİ [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.]’NİN TANILANMASI
VE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK
MÜCADELE OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ
DOKTORA TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

**Bu Tez 25/12/2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği
ile Kabul Edilmiştir.**

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Doç. Dr. Yeşim AYSAN	Prof. Dr. Özden ÇINAR	Prof. Dr. Hikmet SAYGILI
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

İmza.....	İmza.....
Doç. Dr. Pervin KINAY	Doç. Dr. Soner SOYLU
ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi ve TUBİTAK Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2005D5 (Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi) ve 105 O 465 (TUBİTAK)

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

DOKTORA TEZİ

**DOMATES BAKTERİYEL SOLGUNLUK HASTALIĞI ETMENİ
[*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.]’NİN
TANILANMASI VE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI**

Danışman : Doç. Dr. Yeşim AYSAN

Yıl : 2007, Sayfa: 173

Jüri : Doç. Dr. Yeşim AYSAN

Prof. Dr. Özden ÇINAR

Prof. Dr. Hikmet SAYGILI

Doç. Dr. Pervin KINAY

Doç. Dr. Soner SOYLU

Bu çalışmada Adana ve Mersin illerinde yetiştiriciliği yapılan domates üretim alanlarında yapılan sürveylerin yanı sıra Antalya, Artvin, Bursa ve İzmir illerinden temin edilen hasta domates bitkilerinden toplam 57 bakteri izolatu morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, serolojik (indirekt ELİZA), moleküler (PCR) ve yağ asit metil ester analiz yöntemleri sonucunda domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (**Cmm**) olarak tanımlanmıştır.

Tanımlama çalışmalarının yanı sıra hastalıkla kimyasal mücadeleye alternatif olarak bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerin (**Plant Growth Promoting Rhizobacter**, PGPR) kullanıma olanakları da araştırılmıştır. Adana, Antalya, Hatay, Osmaniye, Mersin ve Muğla illerinden temin edilen 39 farklı toprak örneğinden 499 adet aday PGPR bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlar arasında en fazla fosforu çözme, azotu bağlama özelliklerine sahip 30 izolat aday PGPR olarak seçilmiş olup, bu izolatlar arasında en etkili olan 8 izolatın **Cmm** tarafından neden olunan hastalığı baskılayabilme potansiyelleri *in vivo* saksı çalışmaları ile belirlenmiştir. Saksı çalışmaları sonucunda 3 izolat ve kombinasyonları ile tohum denemeleri, 2 izolat ve kombinasyonları ile tarla çalışmaları yürütülmüştür. Çalışmalarda bitki aktivatörü olan ISR 2000 adlı ticari preparatta PGPR uygulamalarıyla karşılaştırılmak amacı ile kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre PGPR izolatları ile muamele görmüş domates bitkilerinde **Cmm** tarafından neden olunan hastalık şiddetinin tarla koşullarında ortalama %43 oranında azaldığı belirlenmiştir. Hastalık etmeninin bulunmadığı koşullarda PGPR izolatları bitki büyümesini (bitki boyu, gövde çapı, dal sayısı, bitki yaş ağırlığı ve kuru ağırlığı, kök boyu ve verim) değişen oranlarda artırmışlardır.

Anahtar Kelimeler: Domates, *Clavibacter*, tanı, biyolojik mücadele, PGPR

ABSTRACT

PhD THESIS

IDENTIFICATION OF TOMATO BACTERIAL WILT DISEASES AGENT [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.] AND RESEARCH ON THEIR BIOLOGICAL CONTROL BY USING PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA

Raziye ÇETİNKAYA YILDIZ

UNIVERSITY OF ÇUKUROVA
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor : Associated Prof. Dr. Yeşim AYSAN

Year : 2007 Page: 173

Jury : Associated Prof. Dr. Yeşim AYSAN

Prof. Dr. Özden ÇINAR

Prof. Dr. Hikmet SAYGILI

Associated Prof. Dr. Pervin KINAY

Associated Prof. Dr. Soner SOYLU

In this study, 57 bacterial strains were isolated from tomato plants growing in surveyed field located in Adana and Mersin provinces and also infested plants which were sent from Antalya, Artvin, Bursa and İzmir provinces. All bacterial strains were identified as *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (**Cmm**), causal agent of tomato bacterial wilt disease by using morphological physiological, biochemical, serological (indirect ELISA), molecular (PCR) fatty acid methyl ester analyses methods.

In addition to identification studies, possible use of plant growth promoting rhizobacteria (**PGPR**) was also investigated as an alternative method to chemical control of disease caused by **Cmm**. Totally 499 putative bacterial strains were isolated from 39 different rhizosphere-associated soils from different tomato grown fields in Adana, Antalya, Hatay, Osmaniye, Mersin and Mugla provinces. Among these strains, 30 putative bacterial strains were initially selected as PGPR which solubilized phosphorus and fixed nitrogen. The most efficient eight putative PGPR strains were further assessed to suppress disease caused by **Cmm** *in vivo* conditions. Following these experiments, 3 PGPR strains and combinations for seed treatments, two PGPR and combinations for field experiments were used to suppress disease occurrence. For comparison ISR 2000, as a commercial plant activator, was also included in these studies.

Field experiments revealed that disease severity was significantly suppressed at 43% by PGPR strains used. In the absence of the pathogen, PGPR strains have also promoted plant growth (i.e., plant length, stem diameter, branch number, plant fresh and dry weight, root length and yield) at varying ratios.

Key Words: Tomato, *Clavibacter*, identification, biological control, PGPR

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve bana “Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı Etmeni [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al.]’nin Tanılanması Ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanaklarının Araştırılması” konulu doktora tezini veren yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile bana daima yol gösteren danışman hocalarım Sayın Prof. Dr. Özden ÇINAR ve Doç. Dr. Yeşim AYSAN’a sonsuz teşekkürler.

Doktora Tez İzleme Komitesi üyesi Sayın Prof. Dr. Hikmet SAYGILI’ya çalışmamın tüm aşamalarında yönlendirici ve olumlu katkılarından dolayı teşekkür ederim. Doktora tezi jüri üyelerinden Sayın Doç Dr. Pervin KINAY’a ve Sayın Doç Dr. Soner SOYLU’ya yapıcı ve yönlendirici fikirleriyle katkıda bulundukları için teşekkürlerimi sunarım.

Tezim süresince bana destek veren Adana Tarım İl Müdürü Sayın Abdullah KESKİN’e, İl Müdür Yrd. Sayın Y. İzzet IŞIK’a ve Bitki Koruma Şube Müdürü Sayın Ahmet GÜNEŞ’e, ayrıca Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Ahmet KUŞDEMİR ve Fitopatoloji Şube Şefi Sayın Seral YÜCEL’e teşekkür ederim.

Doktora çalışmam içerisinde yer alan yağ asit metil ester analizleri için Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı olanaklarından yararlanmamı sağlayan, engin bilgi ve deneyimini paylaşan Sayın Prof. Dr. Fikrettin ŞAHİN’e şükranlarımı sunarım.

Doktora çalışmalarım esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı’na, maddi destek veren Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne (Proje no: ZF2005D5) ve Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TUBİTAK)’na (Proje no: TOVAG 105 O 465) içten teşekkürlerimi sunarım.

PCR çalışmalarımnda yardımcı olan ve Viroloji laboratuvar olanaklarından yararlanmamı sağlayan Prof. Dr. Mehmet Asil YILMAZ’a, Prof. Dr. Saadettin BALOĞLU’na, Yrd. Doç. Dr. Muharrem KAMBEROĞLU’na, Arş. Gör. Gökmen KOÇ’a ve Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR’a, teşekkür ederim.

Aday PGPR izolatlarının sıvı ortamda çözdüğü fosfor miktarının belirlenmesinde Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü laboratuvarı olanaklarından yararlanmamı sağlayan Doç. Dr. Ayfer Torun'a, bu çalışmalar sırasında emeği geçen Arş. Gör. Halil ERDEM'e ve saksı çalışmasında kullandığım toprağın analizini yapan Arş. Gör. Ebru KARNEZ'e içten teşekkürlerimi sunarım.

İklim odası çalışmalarında Mikoloji laboratuvarı olanaklarından yararlanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Ali ERKILIÇ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında emeği geçen değerli arkadaşlarım Dr. Mustafa MİRİK'e, Dr. Mustafa KÜSEK'e, Dr. Derya ŞENAL'a, Zir. Yük. Müh. Hatice ÖRNEK'e, Zir. Yük. Müh. Sencan ÜNLÜ'ye, Zir. Müh. Fatma SELÇUK'a ve Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama Parseli'ndeki çalışmalarında emekleriyle katkıda bulunan Talip OKUTUCU, Bekir DAL ve Cemal YILDIZ'a çok teşekkür ederim. Saksı ve tarla denemelerimde bana yardımcı olan lisans öğrencilerimizden Nihal ARICI, Menfo ÖNEN, Birgül DERYAOĞLU, Sıddıka ERFEN ve Özgür YALÇIN'a teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım esnasında manevi desteklerini sürekli yanımda hissettiğim Adana Tarım İl Müdürlüğü Bitki Koruma Şubesi elemanlarına teşekkürlerimi sunarım. Sayın Şükrü ABAY, Semra ÇELTİK ve Gürkan YAŞAR'a tezimin yazım aşamalarında gösterdikleri sabır için teşekkür ederim. Çalışmalarım esnasında beni her konuda destekleyen Sayın Ali ÖZER'e, Hüseyin ARICI'ya ve özellikle Hatice YİĞİTHAN'a sonsuz teşekkürler.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi; doktora çalışmalarım esnasında da manevi desteğini ve sevgisini hiç esirgemeyen, zorluklarla savaştıkça daha güçlü olacağımı öğreten sevgili annem ve babam iyi ki varsınız. Sevgisiyle daima yanımda olan ve benim birlikte olamadığım her an oğlumu sevgiyle kucaklayan kız kardeşim Rana'ya yürekten sonsuz teşekkürler.

Doktora çalışmam sırasında manevi desteği, sevgisi ve sonsuz sabrı ile daima yanımda olan ve beni her konuda destekleyen sevgili eşim Suat YILDIZ ve canım oğlum ŞÜKRÜ BERKAY YILDIZ'a kalpten teşekkürler.....

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	V
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR	XVI
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
2.1. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> İle İlgili Yapılan Epidemiyolojik Çalışmalar..	7
2.2. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> 'in İzolasyonu ve Tanısı İle İlgili Çalışmalar.	13
2.3. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> 'in Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar	18
3. MATERYAL VE METOD	31
3.1. Materyal	31
3.2. Metod	31
3.2.1. Hasta Domates Bitkilerinin Toplanması	31
3.2.2. Domateste Bakteriyel Solgunluk Etmeninin İzolasyonu	31
3.2.3. Domates Bitkilerinin Yetiştirilmesi	32
3.2.4. Patojenite Testi	32
3.2.5. Bakteri Populasyonunun Belirlenmesi	33
3.2.6. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> 'in Tanı Testleri	33
3.2.6.1. Koloni Gelişimi	33
3.2.6.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)	34
3.2.6.3. Akşamsafası (<i>Mirabilis jalapa</i>) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu	34
3.2.6.4. Domates Kotiledon Testi	34
3.2.6.5. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> İzolatlarının Bakır Sülfat'a Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi	35
3.2.7. Tanıyı Destekleyici Geleneksel Testler	35

3.2.7.1 <i>C. m. subsp. michiganensis</i> İzolatlarının İndirekt ELISA Testi İle Tanısı	35
3.2.7.2. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> İzolatlarının PCR Tekniği İle Tanısı	37
3.2.7.3. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> İzolatlarının Yağ Asit Profillerinin Belirlenmesi	40
3.2.8. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> 'in Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar	41
3.2.8.1. Aday PGPR Bakterilerin İzolasyonu	41
3.2.8.2. Aday PGPR İzolatlarının Seçimi.....	43
3.2.8.3. Seçilen Aday PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etkilerinin Belirlenmesi	45
3.2.8.4. Çalışmada Kullanılacak Patojen Konsantrasyonunun Belirlenmesi	46
3.2.8.5. Aday PGPR'ların Domates'te Bakteriyel Solgunluk Hastalığının Gelişimi Üzerine Etkisi.....	47
3.2.8.6. Aday PGPR'ların Enfekteli Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Büyümesine Etkisi.....	49
3.2.8.7. Aday PGPR'ların Sağlıklı Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi.....	50
3.2.1. Bitki Örneklerinin Toplanması ve Muhafazası	37
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	53
4.1. Hasta Domates Bitkilerinin Toplanması.....	53
4.2. Domateste Bakteriyel Solgunluk Etmeninin İzolasyonu.....	57
4.3. Patojenite Testi.....	60
4.4. Patojenin Populasyonunun Belirlenmesi	61
4.5. <i>C. m. subsp. michiganensis</i> 'in Geleneksel Tanı Testleri.....	62
4.5.1. Koloni Gelişimi	62
4.5.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)	63
4.5.3. Akşamsafası (<i>Mirabilis jalapa</i>) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu.....	63

4.5.4. Domates Kotiledon Testi.....	64
4.5.5. <i>C. m</i> subsp. <i>michiganensis</i> İzolatlarının Bakır'a Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi	65
4.6. Geleneksel Tanıyı Destekleyici Testler	66
4.6.1. <i>C. m</i> subsp. <i>michiganensis</i> İzolatlarının Indirekt-ELISA Testi İle Tanısı	66
4.6.2. <i>C. m.</i> subsp. <i>michiganensis</i> İzolatlarının PCR Testi İle Tanısı	68
4.6.3. <i>C. m.</i> subsp. <i>michiganensis</i> İzolatlarının Yağ Asit Profillerinin Belirlenmesi	70
4.7. <i>C. m.</i> subsp. <i>michiganensis</i> 'in Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar	
4.7.1. PGPR'ların İzolasyonu ve Aday PGPR İzolatlarının Seçimi.....	72
4.7.2. Aday PGPR İzolatlarının Seçimi	73
4.7.3. Seçilen Aday PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etkilerinin Belirlenmesi.....	91
4.7.4. Çalışmada Kullanılacak Patojen Konsantrasyonunun Belirlenmesi..	92
4.7.5. Aday PGPR'ların Domates'te Bakteriyel Solgunluk Hastalığının Gelişimi Üzerine Etkisi	93
4.7.6. Aday PGPR'ların Enfekteli Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi.....	102
4.7.7. Aday PGPR'ların Sağlıklı Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi.....	126
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	151
KAYNAKLAR.....	153
ÖZGEÇMİŞ.....	168
EKLER.....	169

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 3.1. Dreier ve ark ile Santos ve ark.,'nın dizayn ettiği primerler kullanılarak yapılan PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği.....	38
Çizelge 3.2. PCR işlemi için kullanılan programlar	39
Çizelge 4.1. Domates bitkilerinden elde edilen izolatlar ve izole edildikleri yerler.....	59
Çizelge 4.2. <i>Cmm</i> izolatlarını tanılama test sonuçları	64
Çizelge 4.3. <i>Cmm</i> izolatlarının bakır sülfat'a karşı dayanıklılıkları.....	65
Çizelge 4.4. ELISA plate okuyucusunda <i>Cmm</i> izolatlarının okunan absorban değerleri	67
Çizelge 4.5. <i>Cmm</i> izolatlarından elde edilen yağ asitleri, bunların bulunma oranları (%) ve bu yağ asitlerine sahip izolat sayısı.....	70
Çizelge 4.6. Toplam 499 adet aday PGPR İzolatının Listesi ve Yapılan Testler.....	75
Çizelge 4.7. Aday PGPR izolatları ve spektrofotometre'de 400 nm dalga boyunda ölçüm değerleri	87
Çizelge 4.8. Toprakta izole edilen aday PGPR bakterilerinin katı NBRIP besi yerinde ortalama koloni ve zon çapları ile indeks değerleri	88
Çizelge 4.9. Jensen seçici besiyerinde gelişim gösteren izolatlar	89
Çizelge 4.10. Seçilen 30 izolatın sıvı NBRIP besi yerinde çözdüğü fosfor miktarı.....	90
Çizelge 4.11. PGPR izolatlarının saksı çalışmasında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme oranları	94
Çizelge 4.12. PGPR izolatlarının tohumda domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme oranları	97
Çizelge 4.13. PGPR izolatlarının tarla çalışmasında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme oranları	101
Çizelge 4.14. PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi.....	107

Çizelge 4.15. PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinin bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına olan etkisi.....	108
Çizelge 4.16. Aday PGPR izolatlarının enfekteli domates bitkilerinin saksıda dal sayısına etkisi	109
Çizelge 4.17. PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen bitkilerin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi.....	115
Çizelge 4.18. PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarına olan etkisi.....	116
Çizelge 4.19. Aday PGPR izolatlarının enfekteli domates bitkilerinin viyolde dal sayısına etkisi	117
Çizelge 4.20. PGPR izolatlarının tarla koşullarında enfekteli domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi.....	123
Çizelge 4.21. PGPR izolatlarının tarla koşullarında enfekteli domates bitkilerinin dal sayısı ve kök boyuna olan etkisi.....	123
Çizelge 4.22. Köklere daldırma şeklinde uygulanan aday PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates bitkilerinde verime olan etkisi.....	124
Çizelge 4.23. PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi.....	131
Çizelge 4.24. PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinin bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına etkisi	132
Çizelge 4.25. PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinin bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına etkisi	134
Çizelge 4.26. GPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen bitkilerin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi.....	139
Çizelge 4.27. PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarına olan etkisi	140
Çizelge 4.28. Aday PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen bitkilerin dal sayısına olan etkisi.....	142
Çizelge 4.29. PGPR izolatlarının tarlada sağlıklı domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi.....	147

Çizelge 4.30. PGPR izolatlarının tarlada sağlıklı domates bitkilerinin dal sayısı ve kök boyuna olan etkisi	147
Çizelge 4.31. PGPR izolatlarının tarlada sağlıklı domates bitkilerinin verimine olan etkisi.....	149

Şekil 1.1. Domates bitkisinde <i>Cmm</i> 'in iletim demetlerinde meydana getirdiği kahverengileşme.....	3
Şekil 1.2. <i>Cmm</i> 'in domates bitkisinin yapraklarında oluşturduğu nekrozlar	4
Şekil 2.1. Dünya üzerinde <i>Cmm</i> 'in yayılımı	8
Şekil 3.1. Toprak ve kök örneklerinden aday PGPR izolatlarının eldesinin şematik görünümü	42
Şekil 3.2. Çözülebilir fosfat indeksinin hesaplanması	44
Şekil 3.3. Aday PGPR izolatlarının ve hastalık etmeninin petri kabındaki ekim deseni	46
Şekil 4.1. Domates üretimi yapılan bir tarlanın genel görünüm.....	53
Şekil 4.2. Domateslerde yan dallarda tek taraflı solgunluk yanıklık	54
Şekil 4.3. Domateslerde gövde üzerinde kahverengi –beyaz renkli siğiller	54
Şekil 4.4. Domates bitkilerinde iletim demetlerinde kahverengilik ve tek taraflı solgunluk.....	55
Şekil 4.5. İlerleyen dönemde domates bitkilerinde tüm özün kahverengileşmesi, yapraklarda sararma nekrotik alanlar ve içe doğru kıvrılma.....	56
Şekil 4.6. <i>Cmm</i> 'in domates üretim alanındaki yaygınlığı	57
Şekil 4.7. YDC besi yerinde gelişen sarı renkte koloniler	58
Şekil 4.8. King B besi yerinde gelişen sarı renkte koloniler	58
Şekil 4.9. Domates bitkilerinde yapılan patojenite çalışmaları sonucunda inokulasyon bölgesinde kahverengilikler, yapraklarda ve dallarda solgunluk.....	60
Şekil 4.10. Domates bitkilerinde yapılan patojenite çalışmaları sonucunda iletim demetlerinde ve özde oluşan kahverengileşme.....	61
Şekil 4.11. <i>Cmm</i> izolatının -5 seyreltmesinde koloni gelişimi.....	61
Şekil 4.12. <i>Cmm</i> izolatının NA besi yerinde, YDC Agar besi yerinde ve SCM agar besi yerinde koloni gelişimleri	62

Şekil 4.13. Akşamsafası bitkisinde inokulasyon noktasında aşırı duyarlılık reaksiyonu.....	63
Şekil 4.14. Domates kotiledon testi sonucunda oluşan beyaz siğilimsi yapılar	64
Şekil 4.15. Domates izolatlarına yapılan Indirekt ELISA testi sonucunda plakaların görünümü.....	67
Şekil 4.16. Dreier ve ark. (1995)'nın primeri kullanılarak yapılan PCR işleminde oluşan bantlar	69
Şekil 4.17. Santos ve ark. (1997)'nın primeri kullanılarak yapılan PCR işleminde oluşan bantlar	69
Şekil 4.18. Yağ asit profillerine göre küme analizi sonucu izolatların farklılık oranları.....	71
Şekil 4.19. PGPR izolasyonu için Mersin ili Erdemli ilçesinde toprak örneği alınan bir domates tarlasından görünüm.....	72
Şekil 4.20. Toprakтан izole edilen aday PGPR'ların King B besi yerinde geliştirdikleri koloniler	73
Şekil 4.21. Sıvı NBRIP besi yerinde aday PGPR izolatlarının oluşturduğu renk açılması.....	74
Şekil 4.22. Toprakтан izole edilen bakterilerin katı NBRIP besi yerinde fosforu çözmesinden dolayı oluşan zon ve bakteri kolonileri	88
Şekil 4.23. Jensen's besi yerinde gelişen aday PGPR izolatları.....	89
Şekil 4.24. Aday PGPR izolatının 80 µM FeCl ₃ içeren King B besi yerinde <i>Cmm</i> 'in gelişimini engelleyememesi	92
Şekil 4.25. Ç. Ü. Bitki Koruma Bölümü iklim odasında ve Ç. Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında saksı denemesinin görünümü	93
Şekil 4.26 .Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksı koşullarında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme yeteneği.....	95
Şekil 4.27. İklim odasında tohum denemesinin genel görünümü	96
Şekil 4.28. Pozitif kontrolde hasta domates fidesinin görünümü.....	96
Şekil 4.29. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının domates tohumlarında bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme yeteneği.....	97

Şekil 4.30. Domates fidelerinin aday PGPR izolatlarına ve ISR 2000 süspansiyonlarına daldırılması.....	99
Şekil 4.31. Tarla denemesinden genel bir görünüm	99
Şekil 4.32. Tarla denemesinde hasta domates bitkisi	100
Şekil 4.33. Tarla denemesinde enfekteli domates bitkilerinin görünümü	100
Şekil 4.34. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarla koşullarında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme yeteneği.....	101
Şekil 4.35. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde bitki boyuna olan etkisi.....	103
Şekil 4.36. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde gövde çapına olan etkisi.....	104
Şekil 4.37. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde bitki yaş ağırlığına olan etkisi	105
Şekil 4.38. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde bitki kuru ağırlığına olan etkisi	106
Şekil 4.39. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde dal sayısına olan etkisi.....	110
Şekil 4.40. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki boyuna olan etkisi	111
Şekil 4.41. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde gövde çapına olan etkisi	112
Şekil 4.42. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki yaş ağırlığına olan etkisi	113
Şekil 4.43. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki kuru ağırlığına olan etkisi	114

Şekil 4.44. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde dal sayısına olan etkisi	118
Şekil 4.45. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin bitki boyuna olan etkisi	119
Şekil 4.46. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin gövde çapına olan etkisi	120
Şekil 4.47. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin dal sayısına olan etkisi	121
Şekil 4.48. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin kök boyuna olan etkisi	122
Şekil 4.49. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin verimine olan etkisi	125
Şekil 4.50. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki boyuna olan etkisi.....	127
Şekil 4.51. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki gövde çapına olan etkisi.....	128
Şekil 4.52. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki yaş ağırlığına olan etkisi	129
Şekil 4.53. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki kuru ağırlığına olan etkisi	130
Şekil 4.54. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki dal sayısına olan etkisi	133
Şekil 4.55. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki boyuna olan etkisi.....	135

Şekil 4.56. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde gövde çapına olan etkisi.....	136
Şekil 4.57. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki yaş ağırlığına olan etkisi	137
Şekil 4.58. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki kuru ağırlığına olan etkisi	138
Şekil 4.59. Domates tohumlarına uygulanan aday PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde dal sayısına olan etkisi	141
Şekil 4.60. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates bitki boyuna olan etkisi	143
Şekil 4.61. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates gövde çapına olan etkisi	144
Şekil 4.62. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates dal sayısına olan etkisi	145
Şekil 4.63. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates kök boyuna olan etkisi	146
Şekil 4.64. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates verimine olan etkisi.....	148

SİMGELER VE KISALTMALAR

bp	: Baz çifti
°C	: Santigrat derece
dak.	: Dakika
Cmm	: <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>
ddH ₂ O	: Bidestile su
dev.	: Devir
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzim bağlı immunolojik deney (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
FAME	: Yağ Asit Metil Ester (Fatty acid methyl ester)
g	: Gram
GSPB	: Göttingen Sammlung Phytopathogener Bakterien
kb	: Kilo baz
King B	: King's medium B
KOH	: Potasyum Hidroksit
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
NA	: Nutrient Agar
NBRIP:	: National Botanical Research Institute's phosphate growth medium
P	: Fosfor
PBS	: Fosfat Buffer-tuz Tamponu
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PGPR	: Bitki büyümesini teşvik eden Rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonu
ppm	: Milyonda bir kısım
pv.	: Pathovar
sp.	: Tür
spp.	: Türler
SCM	: <i>Clavibacter michiganensis</i> için seçici besi yeri
TAE	: Tris-Acetate-EDTA
YDCA	: Yeast Ekstrakt Kalsium Karbonat Agar

1. GİRİŞ

Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) yüksek vitamin ve mineral içeriği ile dünyada ve ülkemizde tüketimi oldukça yoğun olan sebzelerden biridir. Dünyada ve ülkemizde en fazla tüketilen sebzelerin başında gelen domatesin üretimi, bu ihtiyacı karşılamak amacı ile her geçen yıl artış göstermektedir. Ekolojik koşulların uygunluğu ülkemizde sebze üretiminin yoğun olarak yapılmasına olanak sağlamıştır. 2005 yılı verilerine göre ülkemizde toplam 20.753.000 ton sebze üretimi gerçekleştirilmiştir. Domates üretimi ise toplam sebze üretiminin 10.050.000 tonluk kısmını oluşturarak birinci sırada yer almaktadır. Domates iç piyasada taze olarak tüketilmesinin yanı sıra gıda endüstrisinde de ham madde olarak kullanılmakta, dış pazarlara ise taze olarak veya işlenerek ihraç edilmektedir (Anonymous, 2005).

Ülkemizin farklı iklim bölgelerine sahip oluşu hem açık alanda hem de örtü altında sofralık ve sanayi domatesinin üretilmesine olanak sağlamaktadır. Ülkemizde sofralık domates üretimi en fazla Akdeniz bölgesinde kış ayları boyunca örtü altında, yaz aylarında ise açık alanda yapılmaktadır.

Domateslerde fungal ve viral hastalık etmenlerinin yanı sıra pek çok bakteriyel etmende önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Karaca ve Saygılı, 1982). Bu bakteriyel hastalıklardan biride *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.'in (Cmm) neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığıdır.

C. michiganensis subsp. *michiganensis*; Prokaryota alemi, *Firmicutes* bölümü, *Thallobacteria* sınıfı, *Microbacteriaceae* familyası, *Clavibacter* cinsi içerisinde yer almaktadır (Agrios, 2005)

Etmen Erwin F. Smith tarafından ilk olarak *Bacterium michiganense* daha sonra *Aplanobacter michiganense* olarak isimlendirmiştir. *Pseudomonas michiganensis*, *Phytomonas michiganensis* ve *Mycobacterium michiganensis*'i içeren ilave isimlendirme girişimlerinden sonra terminolojik isimlendirme kabul edilmiş ve yaklaşık 50 yıl *Corynebacterium michiganense* olarak adlandırılmıştır. 1980'lerde patojenin hücre duvarı yapısı ile ilgili yeni bilgilere dayanılarak *Clavibacter* sınıfı

içerisinde yeniden sınıflandırma yapılmış ve *Cmm* olarak isimlendirilmiştir (Gleason ve ark., 1993).

Etmen ilk kez 1909 yılında Amerika Birleşik Devletlerinin Michigan eyaletinde domates üretim alanlarında saptandığından beri dünyanın domates yetiştirilen bütün bölgelerinde rapor edilmiştir (Gleason ve ark., 1993). Ülkemizde ise bakteriyel solgunluk hastalığının varlığı Tokgönül (1998)'ün bildirdiğine göre ilk olarak İç Anadolu bölgesinde (Bremer ve Özkan, 1950) saptandıktan sonra , Güney Doğu Anadolu (Bremer ve ark.,1952), Marmara (Karahan, 1965) ve Ege bölgesinde (Karaca ve Saygılı 1977) tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda etmen Doğu Akdeniz (Çınar, 1980), Batı Akdeniz (Basim ve ark., 2004) ve Doğu Anadolu (Sahin ve ark., 2002) bölgelerinde domates üretim alanlarında belirlenmiştir.

Hastalık belirtileri sistemik veya lokalize olmuş enfeksiyonlardan meydana gelmelerine göre farklılık göstermektedir. Enfeksiyon tohum veya açılan yaralar yolu ile direkt iletim demetleri dokusu içerisine taşınan inokulumdan meydana gelirse sistemik enfeksiyonun belirtileri oluşur ve hastalık ilk olarak solgunluk ile kendini göstermeye başlar. Bitkiler sistemik olarak enfektelendiği zaman genç fideler hızla solar ve çöker, yaşlı bitkilerde ise solgunluk belirtileri yavaş ve aşama aşama gerçekleşir. Enfekteli gövdelerde iletim demetleri sarımsı bir renk bozulması gösterir, daha sonra kahverengiye döner, özellikle dikey çatlak gövdelerde ki boğumlarda bu durum açıkça görülebilir. Hastalık adını spesifik koşullar altında gelişen gövde solgunluklarından alır. Patojen ksilemden yanındaki floem ve parankima hücrelerine yayıldığı için hasta gövdede ve petiollerde açık sarı-kahverengi çizgiler şeklinde belirti oluşturur. Bu çizgiler gittikçe koyulaşır ve bazen çatlaklar açılır, koyu kahverengi yapılar öz ve kortekste büyük nekrozların açığa çıkması ile sonuçlanır (Şekil 1.1).

Eğer patojen hidatodlar gibi doğal açıklıklar veya tüylerin kırılması ile açılan yaralardan giriş yapmışsa, ilk olarak nekrozlar ve yaprak lekeleri ile kendini gösteren lokalize olmuş belirtiler görülür. Yaprakçıkların kenar nekrozları genellikle lokalize olmuş enfeksiyonların ilk belirtileridir. Bazen “yanmış faz” olarak belirtilen bu görünüm ilk olarak kahverengilik, alt yaprakçık kenarlarının kuruması olarak başlar, bazen de ince, sarı bir doku ile çevrilerek yeşil kısımdan ayrılır.

Nekrotik alan gittikçe genişler, yaprağın ve zamanla bütün gövdenin büzülmesine neden olur (Şekil 1.2). Meyvelerde kuş gözü lekesi olarak bilinen ve taze olarak tüketilen meyvenin pazar değerini düşüren küçük (0.3 cm çapından daha küçük), beyaz hale ile çevrili kahverengimsi lezyonlar etmenin lokalize olmuş enfeksiyonunda görülmektedir. Enfeksiyonun ilerleyen aşamalarında ise meyve iletim demetlerinde sarılaşma ve kahverengileşme görülebilmektedir.



Şekil 1.1. Domates bitkisinde *Cmm*'in iletim demetlerinde meydana getirdiği kahverengileşme



Şekil 1.2. *Cmm*'in domates bitkisinin yapraklarında oluşturduğu nekrozlar

Lokalize olmuş bir enfeksiyon zamanla, iletim demetlerine ilerleyerek uygun koşullar altında sistemik bir enfeksiyonu başlatabilir. Belirli yer ve zamanda simptomların oluşumu bitkinin yaşı, enfeksiyon alanı, çeşit duyarlılığı ve çevresel koşullar gibi pek çok etmen tarafından belirlenmektedir (Gleason ve ark., 1993).

Etmen *Solanaceae* familyasından domates (*Lycopersicon esculentum* L.), biber (*Capsicum annum* L.), patlıcan (*Solanum melongena*) ve *L. hirsutum*, *L. pimpinellifolium* gibi türlerde hastalık oluştursa da domates ekonomik anlamda

önemli olduğu tek kültür bitkisidir (Gleason ve ark., 1993; Forster ve Echandi, 1973).

Cmm domates bitkisinde hem kalite hemde kantite de azalmaya neden olmaktadır. Sherf ve Macnab (1986) bakteriyel solgunluk hastalığını domatesin en korkulan ve yıkıcı hastalıklarından biri olarak tanımlamakta ve 1960 yılında Kuzey Carolina, Kenya ve Ontario'da %60-80'nin üzerinde ürün kayıpları ile sonuçlanan epidemiler oluşturduğunu bildirmektedirler. Chang (1992a) fidelerin tarlaya şaşırtılması esnasında enfektelenen domates bitkilerinde %31-83 oranında enfeksiyon oluştuğunda, ortalama meyve ağırlığında 13 g, toplam ürün miktarında ise %46 oranında azalma olduğunu bildirmiştir. Etmen Amerika Birleşik Devletlerinin Midwest (1930'lu ve 1980'li yıllar), Ontario (1960'lı ve 1980'li yıllar) ve Kuzey Carolina (1960'lı yıllar) eyaletlerinde çeşitli yıllarda meydana getirdiği epidemilerde üretici bazında %80'nin üzerinde, bölgesel olarak ise %5-10 oranında ürün kaybına neden olmuştur (Gleason et al., 1993). Ricker ve Riedel (1993) yaptıkları çalışmada, fideler tarlaya şaşırtılmadan önce etmen tarafından enfektelendiğinde çevre şartlarına bağlı olarak ürün miktarının %63-93 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

Bitki hastalıkları ile mücadelede yoğun biçimde kullanılan kimyasalların insan sağlığı ve doğa üzerine olan olumsuz etkilerinin ortaya çıkması, düşük dozlarda ve çevreye dost kimyasal kullanımının hızla artan bir gereklilik olması, özellikle bakteriyel patojenlerin kimyasallara karşı dayanıklılık oluşturmaları, bunlara karşın bakteriyel solgunluk hastalığına karşı yeterli ve etkili bir mücadele yönteminin olmayışı biyolojik mücadeleyi de kapsayan alternatif yöntemlerin çalışılmasını öncelikli konular haline getirmiştir.

Yaklaşık 60 yıldır üzerinde bilimsel olarak çalışılan ve kısaca PGPR olarak adlandırılan bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) hem bitkilerde hastalık oluşturan pek çok bakteriyel, fungal ve viral etmene karşı bitkide bulunan doğal dayanıklılığı teşvik ederek koruma sağlamakta hemde bitki büyümesini artırıcı özelliklerinden dolayı tercih edilmektedir (Backman ve ark., 1997; Weller, 1988; Wei ve ark., 1996).

PGPR'lar genel olarak *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinsleri içerisinde yer almakta olup genellikle bitkinin kök bölgesine yerleşerek toprak kökenli patojenlerin gelişimini sınırlamaktadırlar (Montesinos 2002; Çakmakçı 2005).

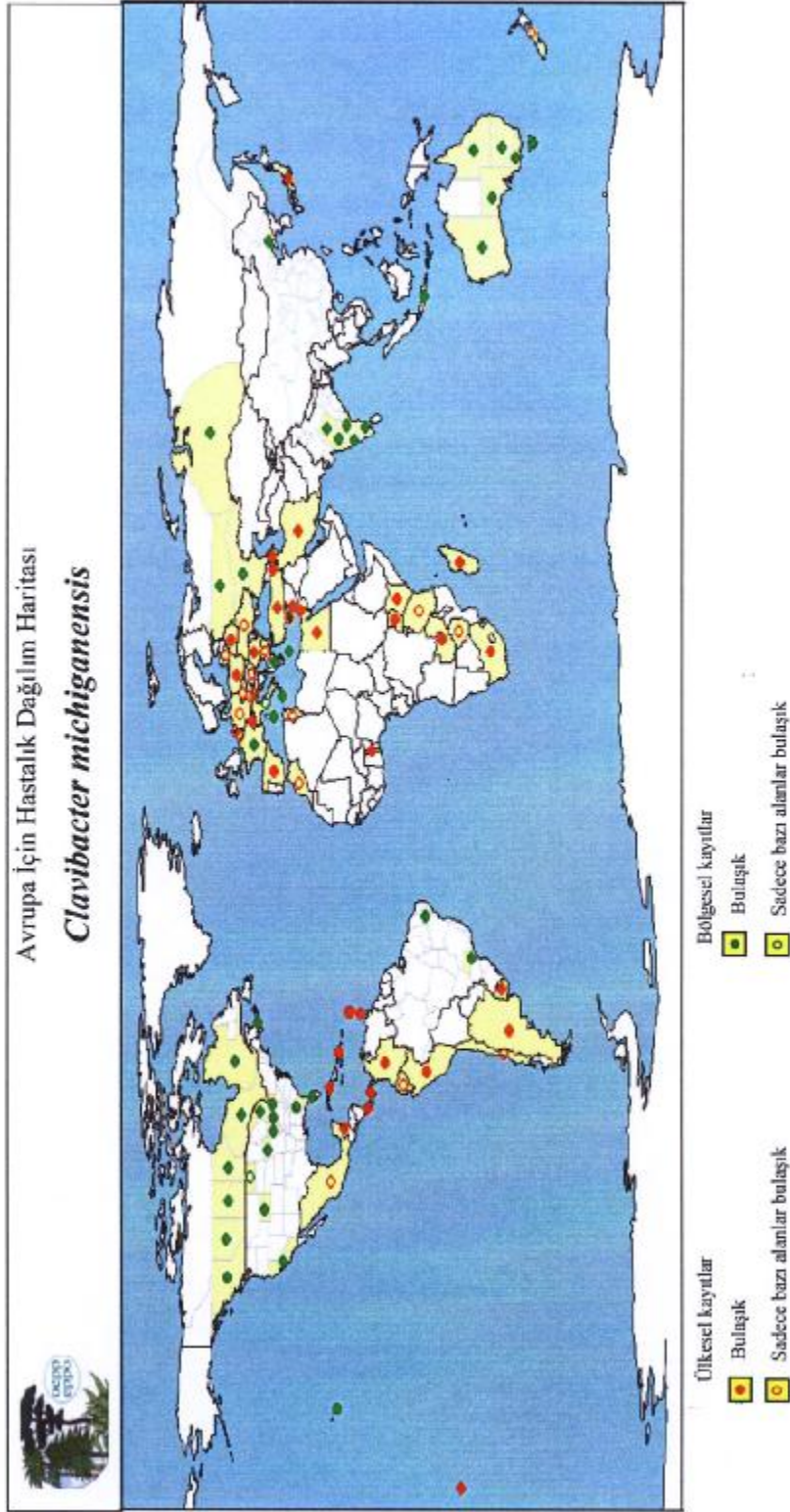
Rizobakteriler yaşam alanı ve besin için rekabet, patojen gelişimini engelleyici kimyasalların üretimi, siderefor üretimi ve bitkide teşvik edilmiş dayanıklılığın harekete geçirilmesi gibi bir takım mekanizmaları kullanarak hem bitkinin gelişimini artırmakta hemde patojenlere karşı bitkide koruma sağlamaktadırlar (Compant ve ark., 2005). PGPR'lar özellikle sağlıklı bitkiye uygulama yapıldığında sistemik dayanıklılığı harekete geçirerek kimyasal uygulamalardan, özelliklede bakırlı bileşik uygulamalarından daha etkin sonuçlar vermektedir (Kuc 2001). PGPR'ların bitki gelişimini teşvik ettiği laboratuvar ve tarla denemeleriyle ortaya konulmuştur. Kök bakterilerinden *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas fluorescens* kanola, marul ve domatese uygulandığında kök ve gövde boyunu artırmıştır (Hall ve ark., 1996; Glick ve ark., 1997). Benzer şekilde *Pseudomonas* uygulaması şeker pancarında kök ve şeker verimini artırmış (Çakmakçı ve ark., 2001), ıspanakta ise gelişmeyi teşvik etmiştir (Urashima ve Hori 2003).

Çukurova bölgesinde son beş yıl içerisinde gerek yaptığımız arazi sürveylerinde, gerekse laboratuvarımıza üreticiler tarafından getirilen hasta domates bitkilerinden yapılan izolasyonlarda domates bitkilerinin yoğun biçimde *Cmm* etmeni ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Bu doktora çalışması kapsamında Adana ve Mersin illerindeki domates üretim alanları gezilerek domates bitkilerinde solgunluk ve iletim demetlerinde renklenmeye neden olan bakteriyel hastalık etmenin izolasyonu, elde edilen izolatların morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal testleri, serolojik (İndirekt ELISA), moleküler (PCR) ve yağ asit metil ester (Fatty Acid Methyl Ester: FAME) analizleri ile tanısı amaçlanmıştır. Hastalıkla mücadelede etkin bir yöntemin olmayışı bizi alternatif yöntemleri araştırmaya yönlendirmiş olup, bu kapsamda domates bakteriyel solgunluk hastalığının PGPR'lar ile mücadele olanakları araştırılmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *C. m. subsp. michiganensis* İle İlgili Yapılan Epidemiyolojik Çalışmalar

Domates üretimini dünya çapında sınırlayan en önemli bakteriyel etmenlerden biri olan *Cmm* ilk kez 20. yüzyılın başında Amerika Birleşik Devletlerinde saptandıktan sonra (Gleason ve ark., 1993), 1950'li yılların başında ülkemizde de rapor edilmiştir. EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), *Cmm*'in yayıldığı alanları gösteren bir harita ortaya koymuştur (IMI, 1996-www. eppo.org; Şekil 2.1). Etmen dünyada domates üretiminin yapıldığı hemen hemen her alanda görülmektedir. Avusturya, Beyaz Rusya, Belçika, Bulgaristan, Çek Cumhuriyeti, Mısır, Finlandiya (doğrulanmamış bilgi), Fransa, Almanya, Yunanistan, Macaristan, İrlanda Cumhuriyeti, İsrail, İtalya (Sardinya ve Sicilya), Lübnan, Litvanya, Fas, Hollanda, Norveç (yok edilmiş), Polonya, Portekiz (yok edilmiş), Romanya, Rusya (Avrupa ve Sibirya kısmı), Slovenya, İspanya, İsviçre, Tunus, İngiltere (geçmişte bulunmuş ama daha sonra tespit edilememiş), Ukrayna, Ermenistan, Azerbaycan, Çin (geçmişte bulunmuş ama daha sonra tespit edilememiş), Hindistan (Madhya ve Pradesh bölgeleri), İran, Japonya, Kenya, Kuzey Afrika, Tunus, Togo Cumhuriyeti, Uganda, Zambia, Zimbabve, Kanada, Amerika Birleşik Devletleri (California, Florida, Georgia, Hawaii, Iowa, Illinois, Indiana, Michigan, Kuzey Dakota, Ohio, Wyoming), Meksika, Kosta Rika, Küba Dominik Cumhuriyeti, Grenada, Panama Cumhuriyeti, Arjantin, Brezilya, Şili, Kolombiya, Peru, Uruguay, Avusturalya, Tonga Krallığı ve Yeni Zelanda'da *Cmm*'in varlığı rapor edilmiştir. Etmenin varlığı son olarak 1999 yılında Tanzanya'da (Black ve ark., 1999), 2000 yılında Kıbrıs'da (Ioannou ve ark., 2000), 2004 yılında ise Endonezya'da (Anwar ve ark., 2004) bildirilmiştir.

Şekil 2.1. Dünya üzerinde *Cmm*'in yayılımı (www.eppo.org)

Ülkemizde etmen Tokgönül (1998)'ün bildirdiğine göre ilk olarak Bremer ve Özkan (1950), Bremer ve ark. (1952), Karahan (1965) ve Karaca ve Saygılı (1977) tarafından sırası ile İç Anadolu, Güney Doğu Anadolu, Marmara ve Ege Bölgelerinde saptanmıştır. Doğu Akdeniz bölgesinde ise Çınar (1980) açıkta ve örtü altında yetiştirilen domates bitkilerinde *Cmm*'in neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığını gözlemlemiştir. Araştırmacı hasta domates bitkilerinin yaprak, yaprak sapı, gövde ve meyvelerinden elde ettiği bakteriyel izolatları biyokimyasal yöntemlerle *Cmm* olarak tanılamıştır. Sahin ve ark., (2002) Doğu Anadolu bölgesinde Oltu, İspir ve Yusufeli ilçelerinde Target çeşidi ticari domates üretimi yapılan 6 farklı üretim alanında hastalık yaygınlığının %100 olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri izolatları yaptıkları biyokimyasal testler ve yağ asit metil ester analizleri sonucunda *Cmm* olarak tanılamışlardır. Isparta ili ve çevresinde örtü altı domates üretim alanların bakteriyel hastalıklar yönünden incelenmesi sonucunda 40 seranın *Cmm*, 25 seranın *Pseudomonas corrugata* ve 2 seranında *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* ile bulaşık olduğu saptanmıştır (Basım, 2002). Basım ve ark., (2004) Batı Akdeniz bölgesinde Isparta (Keçiborlu, Çandır ve Şeyhler ilçeleri) ve Antalya (Serik, Aksu, Kumluca, Demre ve Kınık ilçeleri) illerinde örtü altı domates yetiştiriciliği yapılan üretim alanlarını %26 ile %65 arasında değişen oranlarda *Cmm* ile bulaşık olarak saptamışlardır. Hastalığın görüldüğü seralarda Selin, Astona, 198 RN, Malike ve Tülin çeşidi domates yetiştiriciliği yapıldığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri izolatları patojenite, SCM (semiselective medium for *C. michiganense*) besi yerinde koloni morfolojisi, PCR testi ve yağ asit metil ester analizleri ile *Cmm* olarak tanılamışlardır. Özdemir 2005 yılında yayınladığı çalışmasında NDM 447 çeşidi domates bitkilerinin meyvelerinde etmen tarafından oluşturulan kuşgözü belirtilmelerini saptamıştır. Araştırmacı etmen tarafından hastalandırılmış bitkilerin gövde ve meyvelerinden elde ettiği izolatları *Cmm* olduğunu akşamsafası bitkisinde aşırı duyarlılık ve patojenite testleri ile doğrulamıştır.

Chang ve ark., (1992a) yaptıkları çalışmada domateslerde *Cmm*'in neden olduğu hastalık şiddetini sıcaklık, bitki yaşı, inokulum yoğunluğu ve bitki çeşidinin etkilediğini bildirmişlerdir. Orta derecede dayanıklı çeşitler, düşük inokulum konsantrasyonu, ileri dönemdeki bitki ve serin hava koşulları altında inkübasyon

periyodunun uzamasının yanı sıra symptom gelişiminin azaldığı saptanmıştır. Araştırmacılar ortam şartlarına bağlı olarak inokule edilen petiollerin kenarında simptomlar görülmeden önce 12-34 günlük bir periyodun gerekli olduğunu bildirmişlerdir.

Cmm ekonomik anlamda zarar oluşturduğu tek bitki olan domates (*Lycopersicon esculentum* L.)'ler de hem kalite hemde kantite de azalmaya neden olmaktadır. Etmenin Amerika Birleşik Devletlerinin Midwest (1930'lu ve 1980'li yıllar), Ontario (1960'lı ve 1980'li yıllar) ve Kuzey Carolina (1960'lı yıllar) eyaletlerinde çeşitli yıllarda meydana getirdiği epidemilerde üretici bazında %80'nin üzerinde, bölgesel olarak ise %5-10 oranında ürün kaybına neden olduğu saptanmıştır (Forster ve Echandi, 1973; Gleason ve ark., 1993)

Chang (1992b) fidelerin tarlaya şaşırtılması esnasında enfektelenen domates bitkilerinde %31 -83 oranında enfeksiyon oluştuğunda, ortalama meyve ağırlığında 13 g, toplam ürün miktarında ise %46 oranında azalma olduğunu bildirmiştir. Ricker ve Riedel (1993) yaptıkları çalışmada, fideler tarlaya şaşırtılmadan önce etmen tarafından enfektelendiğinde çevre şartlarına bağlı olarak ürün miktarının %63 -93 oranında azalma görüldüğünü saptamışlardır.

Nedumaran ve Vidhyasekaran (1982, 1982a) Hindistan'ın farklı bölgelerinden elde ettikleri domates tohumları ile yaptıkları çalışmada *Cmm* ile doğal bulaşıklılığın ciddi bir tehlike oluşturduğunu saptamışlar ve bununla ilgili geniş çalışmaların acil olarak başlaması gerektiğini bildirmişlerdir. Ayrıca enfekteli domates tohumlarından etmenin elde edilmesi ve tanılanması için çeşitli yöntemleri araştırmışlardır. Etmenin tohumdan fideye taşınmasının epidemi oluşumundaki öneminin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada ise tohumdan fideye %0.01 oranında taşınan *Cmm*'in tarlada önemli bir epideminin başlangıcı olabileceği belirlenmiştir (Chang ve ark., 1991). Özaktan (1991)'ın bildirdiğine göre Byran (1930) etmenin iletim sistemi yardımı ile tohumları sistemik olarak enfekte ettiğini ve embiryoda bulunduğunu belirlemiştir. Ayrıca çalışmada doğal enfekteli tohumlarda bakterinin tohuma geçiş oranının %1 -5, yapay enfekteli tohumlarda ise %21 -40 oranında olduğu belirlenmiştir. Patino-Mendez (1964) yaptığı çalışmada *Cmm*'in tohumları tohum kabuğu veya tohum zarından geçerek enfekte ettiğini,

tohum zarının en içte bulunan hücrelerine doğru hareket ettiğini, ancak embriyoya giremediğini saptamıştır. Walker (1969) ise etmenin enfekteli meyve etinin ekstraksiyon işlemi sırasında tohumları yüzeysel olarak bulaştırabildiğini ve tohum kabuğundan kotiledon yapraklara daha sonra ise iletim sistemine yayıldığını belirtmiştir.

Cmm'in topraktaki yaşam süresinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada inokulasyondan 8 ay sonra hava ile kurutulmuş topraktan etmen geri izole edilemezken, 2°C'deki nemli toprakta 18-30 ay süre ile canlı ve virulent kalabildiği saptanmıştır (Strider, 1967). Özaktan (1991)'ın bildirdiğine göre Byran (1930) *Cmm*'in inokulum kaynaklarından birinin toprak olduğunu ve patojenin toprakta belirli koşullarda yaşamını sürdürebildiğini saptamıştır. Ayrıca Ciccarone ve Carili (1948)'de yaptıkları çalışmada İtalya'da etmenin toprakta dört yıl süreyle yaşayabildiğini belirlemişlerdir. Grogan ve Kendrick (1953) ise yaptıkları çalışma sonucunda tarla toprağında yaşayan patojenin epidemi oluşumunda önemli olmadığını bildirmişlerdir.

Gleason ve ark. (1991) toprak yüzeyinde kalan bulaşık bitki artıklarında etmenin en az 24 ay boyunca canlı kalabildiğini fakat toprağa gömülen bulaşık bitki artıklarında sadece 7 ay boyunca canlılığını sürdürdüğünü belirlemişlerdir. Ayrıca araştırmacılar kışı bulaşık bitki artıklarında geçiren epifitik *Cmm* popülasyonunun primer inokulum kaynağı olarak rol oynayabileceğini bildirmektedirler. Chang ve ark., (1992c) patojenin toprak yüzeyinde kalan bulaşık bitki artıklarında, toprağa gömülen bulaşık bitki artıklarına göre daha uzun süreyle canlılığını koruyabildiğini belirlemişlerdir. Gitaitis ve ark., (1989) domates bakteriyel solgunluk hastalığının esas inokulum kaynaklarının topraktaki artıklar, yabancı otlar, bulaşmış odunsu parçalar, enfekteli bitkiler ve enfekteli tohumlar olduğunu bildirmişlerdir. Etmenin latent periyodunun uzun olması, hasta ve sağlıklı fide ayrımının yapılmasını güçleştirmektedir. Bu yüzden araştırmacılar hızlı tanıda yarı seçici besi yeri kullanımını önermekte ayrıca akşamsafası (*Mirabilis jalapa*) bitkisinde etmen tarafından oluşturulan aşırı duyarlılık reaksiyonunun hızlı tanıda güvenilir bir kriter olabileceğini bildirmektedirler.

Trevors ve Finnen (1990) ise organik maddeler içeren kumlu, killi yapıdaki steril olmayan toprağa 12 patojenik *Cmm* izolatu inokule etmişlerdir. 30 gün boyunca yaptıkları izolasyonlarda başlangıçta etmeni %90 seviyelerinde geri izole ederken 30. günde bu oran %10'un altına düşmüştür. Araştırmacılar patojenin bazı izolatlarının toprakta canlılığını devam ettirebildiğini bir kısmının ise zayıf canlılık gösterdiğini saptamışlardır. Patojenin düşük yoğunlukta elde edilmesinin, etmenin izolasyonundaki zorluklardan kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir.

Fatmi ve Schaad (2002) farklı coğrafik bölgeler de *Cmm*'in bulaşık bitki artıklarında canlılığının belirlenmesi üzerine araştırmalar yapmışlardır. Çalışmalarını Amerika Birleşik Devletlerinin California ve Ohio eyaletlerinde Fas'ın ise Melk Zhar ve Ait Melloul bölgelerinde sürdürmüşlerdir. Araştırmacılar patojenin toprak yüzeyine bırakılan domates gövdelerinde Ohio ve California'da 314 gün boyunca, Melk Zhar ve Ait Melloul'da sırası ile 194 ve 132 gün boyunca canlılığını devam ettirdiğini saptamışlardır. Toprağa gömülen gövdelerde ise etmenin Ohio'da 314 gün, California'da 240 gün, Ait Melloul ve Melk Zhar'da 60 gün boyunca yaşamını sürdürdüğünü belirlemişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri bu bilgiler ışında *Cmm*'in bitki artıklarındaki yaşam süresinin hem coğrafik bölgeye göre, hem de bitki artıklarının toprak yüzeyinde veya toprak içerisinde gömülü olmasına bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir.

2.2. *C. m. subsp. michiganensis*'in İzolasyonu ve Tanısı İle İlgili Çalışmalar

Bolkan (1987) etmenin izolasyonunda yarı seçici ortam olan SCM (semiselective medium for *C. michiganense*)'nin başarı ile kullanılabileceğini bildirmiştir. Fatmi ve Schaad (1988) SCM besi yerinin *Cmm*'in izolasyonunda kullanılan CNS (selective medium for *C. nebraskense*), YDS (Yeast extract dextrose selective medium) ve NBY (Nutrient broth yeast extract) besi yerlerine göre yüksek oranda duyarlılık gösterdiğini bildirmiştir. Gleason (1993)'ün bildirdiğine göre daha sonra yapılan çalışmalarda çeşitli araştırmacılar SCM besi yerinin içeriğinden Potasyum telluriti azaltarak yada tamamen elimine ederek ve/veya sukroz ile mannoz'u yer değiştirerek SCM besi yerinin duyarlılığını geliştirmişlerdir. Ayrıca patojen için yarı seçici özellik gösteren diğer bir besi yeri olan KBTS besi yerinin daha hızlı koloni gelişime olanak verdiğini (6-13 gün) ve SCM besi yerinden daha duyarlı olduğunu bildirmiştir. Fakat patojenin hem SCM hemde KBTS besi yerinde birden fazla koloni tipinde gelişmesi ve koloni tiplerinin izolatlar arasında çeşitlilik göstermesi bu besi yerlerinin dezavantajıdır. Kaaya ve Mortensen (1993) *Cmm*'in domates tohumlarından izolasyonunda önce tohumları 3 saat 5°C'de inkübe etmişler ardından 1 saat süreyle çalkalamışlardır. Daha sonra süzerek santrifüj etmişler ve elde ettikleri pelleti KB, PF, PFCC, NA, NAD, CKTM ve SCM besi yerlerine yaymışlardır. Yapılan çalışmada SCM besi yeri en duyarlı besi yeri olarak saptanmıştır. Ayrıca araştırmacılar elde ettikleri izolatları Das-ELISA yardımı ile de *Cmm* olarak teyit etmişlerdir. Kado ve Heskett (1970) *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* türlerini içeren patojenlerin izolasyonu için D serisi adını verdikleri 5 farklı seçici besi yeri geliştirmişlerdir. *Corynebacterium* için dizayn edilen D2 seçici besi yeri, direkt izolasyonlarda seçici olmayan besi yerine göre %27.1'lik, topraktan yapılan izolasyonlarda ise %79.8 oranında etkinlik göstermiştir.

Gitaitis (1990) etmenin patojenik olan izolatlarının akşamsafası (*Mirabilis jalapa*) ve tütün (*Nicotiana tabacum* L) bitkilerinin yaprak damar aralarına inokule edildiğinde aşırı duyarlılık benzeri, sınırlı lokal lezyonların oluştuğunu bildirmiştir. Yine aynı araştırmacı denemesinde tütün yapraklarında yapılan aşırı duyarlılık testinde

izolatlar arasında fark gözlemiş ve ayrıca test sonucunun ortamın sıcaklığına bağlı olarak değişim gösterdiğini saptamıştır. Oysa akşamsafası bitkisinde patojen olan bütün izolatların pozitif reaksiyon oluşturduğu ve elde edilen bu sonucun ortam sıcaklığı ile herhangi bir ilişkisinin bulunmadığını belirlemiştir. Etmenin patojenik izolatlarının belirlenmesinde akşamsafası bitkisinin kullanımını önermiştir. Alarcon ve ark., (1998)'da *Cmm*'in akşamsafası (*Mirabilis jalapa*) ve tütün (*Nicotiana tabacum* L) bitkilerinde aşırı duyarlılık oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Chaldecott ve Preece (1983) ise yaptıkları çalışmada, dört günlük domates fidelerinin tam gelişmiş kotiledon yapraklarına, en az 10^5 hücre/ml yoğunlukta hazırlanan *Cmm* solüsyonu pamuklu bir çubuk yardımıyla sürüldükten sonra, 26°C 'de yaklaşık %50 -70 nisbi nem içeren iklim odası koşullarında 3-4 gün inkübe edildiğinde yapraklarda beyazımsı siğil benzeri yapıların oluştuğunu bildirmişlerdir.

Etmenin tanınmasında serolojik bir yöntem olan ELISA testi de kullanılmaktadır. ELISA yöntemi ile etmen 10^3 - 10^4 hücre/ml gibi düşük oranlarda bile saptanabilmektedir. Ayrıca antiserum ile kaplanmış ELISA çukurlarına direkt bitki gövdesinden özsuynun sıkılması veya gövdenin batırılması yöntemleri kullanılarak simptomsuz bitkilerde *Cmm*'in varlığı belirlenebilmektedir. Fakat bu çalışmaların patojenin canlılığı konusunda bilgi vermemesi ve sonuçları teyit etmek için kültür olmaması çalışmaların sınırlayıcı yönü olarak bildirilmiştir (Gleason, 1993). Benzer şekilde Gitaitis ve ark., (1995)'da simptomsuz bitkilerde *Cmm*'in varlığının ELISA testi ile belirlenebileceğini bildirmişlerdir.

Nario ve ark., (2001) yaptıkları çalışmada ELISA testinde patojenin son sulandırma noktasını 10^3 hücre/ml yoğunluk olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar domates tohumlarından ve bulaşık topraktan elde ettikleri izolatları ELISA yöntemini kullanarak tanılamışlardır. Omer (2002) ise Agdia marka polikonal antipodi ve alkalın fosfatazla etiketli konjugat kullanarak yaptığı DAS-ELISA yönteminde, DAS-ELISA tespit sınırı 10^7 hücre/ml olarak saptamıştır.

Vaerenberg ve Chauveau (1987) etmenin domates tohum partilerinden aranmasında immunofluorescence (IF) yönteminin kullanılabileceğini bildirmiştir. İmmunoizolasyon adı verilen ve seroloji ile agar ortamı üzerinde gelişmenin birleştirildiği bir diğer yönteminde, diğer bitki patojenlerinde olduğu gibi *Cmm*'in

izolasyonunda da yüksek seçicilik ve duyarlılık gösterdiği saptanmıştır (Gleason, 1993).

Patojenik olan izolatların PCR testi ile saptanması amacı ile Santos ve ark., (1997) tarafından CM₃ -5'CCT CGT GAG TGC CGG GAA CGT ATC 3' ve CM₄ - 5' CCA CGG TGG TTG ATG CTC GCG AGA T 3' primer çifti, Louws ve ark., (1999) tarafından ise CMM-5 (GCGAATAAGCCCATATCAA) ve CMM-6 (CGTCAGGAGGTTCGCTAATA) primer çifti geliştirilmiştir. Omer (2002) Bio-PCR testi ile hastalık simptomu görülmeden bile patojenin tespit edilebileceğini bildirmiştir. Bitkinin erken gelişme devrelerinde özellikle bitki simptom göstermediğinde ve ürün tohum üretimine yönelik olduğunda patojenin tespit edilmesi için BIO-PCR yöntemini önermiştir. Hadas ve ark., (2005) ise 10.000'de 1 bulaşık tohumun Bio-PCR tekniği ile saptanabileceğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Burokiene (2006) domates fidelerinde *Cmm*'in neden olduğu enfeksiyonun erken dönemde tanılanabilmesi için Bio-PCR'ın kullanım olanaklarını araştırmıştır. Araştırmacı CMM-5 ve CMM-6 primerlerini kullandığı Bio-PCR çalışması sonucunda bu tekniğin seçiciliğinin yüksek, hızlı ve güvenilir olduğunu, sağlıklı domates bitkilerine patojenin yayılmasını erken dönemde önlemede kullanılabileceğini bildirmiştir.

Jahr ve ark., (1999) yaptıkları çalışmada *Cmm*'in patojenik özelliklerinin yaklaşık 1500 nükleotid'den oluşan *pat-1*'geni üzerinde toplandığını belirlemişlerdir. *Pa-tl* genine sahip olan *Cmm* izolatları virulent sahip olmayanlar ise avirulent olarak ayrılmıştır. Tanı çalışmalarında virulent *Cmm* izolatlarını ayırt etmek için PCR testinde kullanılan primer dizilerinin *pat-1* geni üzerinde bulunan baz dilimlerine göre dizayn edildiğini bildirmişlerdir. Garterman ve ark., 2003 yılında yaptıkları çalışmada pCM1 ve pCM2 plazmidine sahip olan *Cmm* izolatlarının virülenslik gösterebildiklerini diğerlerinin ise virulent izolatlar olmadığını ortaya koymuşlardır. pCM1'de selüloz kodlayan *celA* geni, pCM2 üzerinde ise serin proteazı kodlayan *pat-1* geni yer almaktadır. Bach ve ark., (2003) ise fitopatojenik *C. michiganensis* alt türlerinin farklılıklarının ve niteliklerinin belirlenmesi için TaqMan-PCR protokolü oluşturmuşlardır.

Geylani (2005), çeşitli firmalardan temin edilen 75 tohum örneğini ISTA (International Seed Testing Association) prosedürlerine göre testlemiş ve elde ettiği izolatları biyokimyasal testler, PCR testi ve Immunofloresan boyama testi ile *Cmm* olarak saptamıştır.

Ozdemir (2005a) *Cmm* ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* için sırası ile *pat-1* genlerinden elde edilen 614 bp'lik CMM5 ve CMM6 primer çifti ile *hrp* genlerinden elde edilen 840 bp'lik RST2 ve RST3 primer çiftlerini kullanarak multiplex-PCR kullanımı olanaklarını araştırmıştır. Bu çalışma ile tek bir PCR tüpünde *Cmm* ile *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın sırası ile CMM5 ve CMM6 ile RST2 ve RST3 primerlerinin en iyi 0.2:0.4 µM primer konsantrasyonlarında çoğalabilecekleri ve en iyi bağlanma sıcaklığının da 58.5 ile 59.5 °C olduğu belirlenmiştir. Ayrıca araştırmacı multiplex-PCR kullanılarak zamandan, iş gücünden ve reaksiyon maliyetlerinden tasarruf edilebileceğini bildirmektedir.

Rep-, Eric- ve Box-PCR kullanılarak *C. michiganensis*'in beş alt türü olan *C. m. subsp. michiganensis*, *C. m. subsp. nebraskensis*, *C. m. subsp. tessellarius*, *C. m. subsp. sepedonicus* ve *C. m. subsp. insidiosum*'un genetik farklılıkları ortaya konmuştur. Ayrıca Rep-PCR kullanılarak, DNA polimorfizmine göre *C. m. subsp. michiganensis*'in en az dört tipi (A, B, C ve D) olduğu saptanmıştır (Louws ve ark., 1998).

Dreier ve ark. (1995) *C. michiganensis*'in alt türlerinin plasmid üzerinde yer alan ve endonüklez enzimini kodlayan *celA*'ya spesifik olarak geliştirilen DNA problemleri kullanılarak ayırt edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca *Cmm*'e özgü olan ve virülensliği kodlayan *pat1* genine spesifik primer kullanılarak PCR testi ile hastalık oluşturma yeteneğine sahip izolatların saptanabileceğini belirtmişlerdir.

Hücre duvarı yapısında 2,4-diaminobutirikasit bulunan, yüksek Guanin/Sitozin oranına sahip gram pozitif bitki patojenlerini içeren *Clavibacter* cinsi serolojik ve moleküler testler ile üç ana gruba ayrılmıştır. 1. grupta *C. michiganensis* (*C. m. ssp. michiganensis*, *C. m. ssp. nebraskensis*, *C. m. ssp. sepedonicus*, *C. m. ssp. tessellarius* ve *C. m. ssp. insidious* alt türlerini içermektedir), 2. grupta otsu bitkilerde zamklanma oluşturan türler (*C. iranicus*, *C. rathayi*, *C. tritici* ve *C. toxicus*), 3. grupta

ise ksileme yerleşen *C. xyli* (*C. x. ssp. xyli* ve *C. x. ssp. cynodontis*) alt türleri yer almaktadır. Araştırmacılar özellikle *C. michiganensis* ve *C. xyli* alt türlerinin bitkilerde sık sık symptomsuz bulunmaları nedeni ile tanılanmalarının zor olabileceğini saptamışlar ve bu hastalıkların kontrolünün sağlanması için serolojik ve DNA temelli tanı sistemlerinin geliştirilmesinin gerekli olduğunu bildirmişlerdir (Metzler ve ark., 1997).

Gitaitis ve Breaver (1990) etmenin yağ asit metil ester (FAME) profillerinin kütüphanesini oluşturmuşlardır. Bu araştırmacılar çeşitli alanlardan, tohumlardan ve domates bitkilerinden elde edilen morfolojik olarak benzer türlerin içerdiği yağ asit metil ester oranlarındaki farklarını belirlemişlerdir. FAME analizleri ile *Cmm* olarak tanılanan bütün izolatların aşırı duyarlılık reaksiyonu ve patojenite testlerinin de pozitif sonuç verdiğini saptamışlardır. Henningson ve Gudmestad (1991) *Clavibacter* cinsini de içeren fitopatojenik coryneform bakterilerin yağ asit analizlerini yapmışlardır. Ayrıca Gleason (1993) *Cmm*'de içeren gram-pozitif bakteriler için spesifik BIOLOG test platelerinin dizayn edilmesi ile etmenin yüksek doğruluk oranında tanılama imkanının doğduğunu ve bu yöntem ile etmenin karakterizasyonu için gereken sürenin çok kısaldığını bildirmiştir.

2.3. *C. m. subsp. michiganensis*'in Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar

1991 yılında yapılan bir çalışmada domates bitkilerinde budama yerlerinde açılan yaralardan bulaştırılan *Cmm*'in epifitik popülasyonu açık alanda yetiştirilen domates bitkilerinde iletim demetlerine kolonizasyonu ve yeşil aksamda hastalık gelişimini artırırken 1990 yılında herhangi bir değişikliğine neden olmamıştır. 1991 yılında budanmayan bulaşık bitkilere göre budananlarda önemli ölçüde verim düşüşü gözlenmiştir; 1990 yılında yapılan çalışmada ise böyle bir bulguya rastlanmamıştır. Fakat hastalık her iki yılda ürün miktarında önemli oranda azalmaya neden olmuştur (Carlton ve ark., 1994).

Thyr ve ark. (1973) domates tohumları %0.6'lık HCL ile 30-45 dakika süre daldırıldıktan sonra 66°C'de 3 saat süreyle kurutulmasının sistemik bulaşık domates tohumlarında bulunan *C. michiganense*'yi elemine ettiğini belirlemişlerdir. Tohum kökenli olan etmenle mücadelede Brassicol (%18 Teknik Pentachloronitrobenzol), Brestan (%54 Triphenyltinacetate), Derasol (%60 Carbendazim), Dithane M22 (%80 Maneb=Manganese ethylene bis dithiocarbamate), Dithane M45 (Maneb+Zineb=%16 Manganese iyonu- %2 Çinko iyonu+ %62 ethylene bis dithiocarbamate), Orthocide 50 (%50 Captan-N-Trichloromethylmercaptan-4-Cyclohexene -1,2 dicarboximide) ve Pomarsol Forte (%80 Teknik Thiuram=tetramethylthiuram disulfide) kuru ilaçlama şeklinde tohuma uygulanmış ve Orthocide 50 hariç diğer tüm ilaçların etkili oldukları belirlenmiştir.

Yapay besi yerlerinde püskürtme şeklinde kullanılan ilaçların ve bazı antibiyotiklerin *Corynebacterium michiganense*'yi engelleme yetenekleri araştırılmıştır. Etmeni engellemede Streptomycin sülfat (100-200 ppm) ve Tetracyclin HCl (100-200 ppm) oldukça etkili olurken Dikotan Z78, Dithane M22, Polyram Combi ve Tiezene antibiyotikler kadar etkinlik göstererek saksı ve tarla çalışmaları için ümit var ilaçlar olmuşlardır (Çınar 1978).

Çınar (1980) Çukurova bölgesinde yaptığı çalışmada ise 23 adet domates çeşidini bakteriyel solgunluk hastalığına dayanıklılık yönünden incelemiş ve üç domates çeşidini az duyarlı olarak saptamıştır. Ayrıca yaş tohum ilaçlarından

Tieze, kuru tohum ilaçlarından Femaset ve antibiyotiklerden Tetra etmene karşı etkili olarak saptanmıştır.

Dhanvantari (1989) patojenin tohumlardan eradikasyonu için 20°C'de 96 saatlik fermentasyonun gerekli olduğunu ve 0,6 M HCL'e 1 saat daldırma uygulamasının ya da %0.05 hydroxydiphenyl ile 15 dakika muamelenin fidelerde solgunluk hastalığı yoğunluğunu, 15 dakika %0.6 NaOH uygulamasından çok daha fazla oranda azalttığını belirlemiştir. Yapay olarak bulaştırılmış bir tohum lotunun 0.6 M HCL içinde bir saat ısıtılmasının fidelerde solgunluk hastalığı simptomlarını %0.1 ile %38 oranında azalttığı saptanmıştır. Fatmi ve ark., (1991) etmenin doğal enfekteli domates tohumlarından 0.6 M HCL'e 5 saat, %0.25 ve 0.50'lik cupric (bakır) asetat 20 dakika, 52°C'de sıcak suya 20 dakika ve 56°C'de ki sıcak suya 30 dakika daldırma uygulamaları kullanılarak elimine edilebileceğini bildirmişlerdir. Bu uygulamaların tohum çimlenmesine olan etkisine bakıldığında ise sadece 56°C'de 30 dakika sıcak su uygulamasının tohum çimlenmesi üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi gözlenmemiştir. Buna karşın buhar ile sterilize edilen toprağa ekilen domates tohumlarından HCL uygulaması yapılanlar da çimlenme oranı önemli ölçüde düşerken 52°C'de 20 dakika sıcak su uygulamasında kontrollere göre daha yüksek çimlenme oranı gözlenmiştir.

Özaktan (1991) sıcak su (54-56°C'de 20 dakika), streptomycin (300 µg/ml), metoksietil civaklorür (30 µg/ml) ve antagonist uygulamasının patojene karşı etkili olduğunu saptamıştır. Araştırmacı tarla koşullarında sıcak su (54-56°C'de 20 dakika) uygulamasının %94, antagonist uygulamasının %75 ve kuru sıcaklık uygulamasının %40 oranında etki gösterdiğini belirlemiştir. Fakat civa klorür ve kuru sıcaklık uygulamalarının tohum çimlenmesine toksik etkisi, streptomisine ise bakterilerin kısa sürede direnç kazanma ihtimali göz önüne alındığında sadece sıcak su uygulamasını önermektedir. Ayrıca yapılan çalışmada meyve etli domates tohumlarının 72 süreyle fermentasyonunun tohumdaki patojeni elimine ettiği saptanmıştır. Kritzman (1993) bakır asetat, asetik asit, pentakloronitrobenzen, 5-ethoxy-3 (triklorometil),-1,2,4-thidiazol ve Triton x-100 içeren kimyasal solusyona domates tohumlarını daldırması ve tohumun çimlenmesine zarar vermeden patojenin eradikasyonunu araştırmıştır. Araştırmacı yaptığı çalışmalar sonucu 25°C'de tutulan kimyasal solusyonuna 30 dakika

süreyle daldırılan domates tohumlarından etmenin eredike olduğu ve uygulamanın tohumun çimlenmesinde herhangi olumsuz bir etkisinin olmadığını belirlemiştir. Ricker ve Riedel (1993) bakırlı ilaçları tek başlarına veya çeşitli kontakt fungusitlerle karıştırarak 5-7 güne bir yapılacak püskürtme şeklinde uygulamanın yaprak yanıklığı ve/veya meyve lekelenmesini önemli oranda azalttığını bildirmiştir.

Hausbeck ve ark., (2000) bazı bakterisitlerin etmenin populasyon büyüklüğü ve hızına olan etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada bakır hidroksit, bakır hidroksit/mankozeb, streptomisin ve streptomisin/ bakır hidroksit uygulamalarının 5×10^5 'den küçük *Cmm* populasyonunu sınırladığını bildirmişlerdir. Tarlaya şaşırtılan fidelerde patojen populasyonu 10^8 hücre/gram bitki dokusu miktarına eşit veya daha fazla olduğunda, bitkinin canlılığını ve tarladaki ürün miktarını önemli ölçüde etkilemektedir. Ayrıca araştırmacılar bu uygulamaların hiç birinin inokuleli kontrol bitkiler ile karşılaştırıldığı zaman meyve lekelerinin şiddetini önemli oranda azalmaya neden olmadığını saptamışlardır. Yunanistan'da yapılan bir çalışmada 5-6 haftalık solarizasyon uygulamasının plastik seralarda domates bakteriyel solgunluk hastalığını önemli ölçüde azalttığı rapor edilmiştir (Antoniou ve ark., 1995). Werner ve ark.,(2002) 1996-1998 yılları arasında yaptıkları çalışma sonucunda tarlada *Cmm* tarafından oluşturulan domates bakteriyel solgunluk hastalığının şiddetini azaltmak ve etmeni baskı altına almak için bitkiler henüz serada iken bakterisit uygulamalarına başlamaları ve bunu devam ettirmeleri gerektiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar dayanıklı çeşit ve acidibenzolar-S-metil kullanımının hastalıkla mücadelede yardımcı olabileceğini bildirmişlerdir.

Tokgönül (1997) solarizasyon uygulamasının plastik tünelde 5 ve 30 cm, cam serada 15 cm derinliklerde patojene zayıf etkide bulunduğunu saptamıştır. Doğal koşullarda yapılan çalışmalarda toprak solarizasyonun tek başına bir yıl uygulaması etkili bulunmazken, aynı yerde ikinci yıl uygulandığı zaman etki %55 oranında arttığını bildirmiştir. Daferera ve ark., (2003) *Cmm*'e karşı keklik otu, kekik, gazelotu, mercan köşk, lavanta, biberiye, adaçayı ve yarpuz bitkilerinin uçucu yağlarının etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar besi yeri üzerinde patojenin gelişimini keklik otu, kekik, gazelotu, mercan köşk bitkilerinin düşük oranlarda (85-300 µl/ml) bile tamamen engellediğini saptamışlardır.

Polenlerin ve propolis (işçi bal arılarının ağaç ve çalılarının yaprak tomurcuğu, gövde yaraları gibi büyüyerek yenilenen kısımlarından topladıkları sarı, yeşil ve kahverengi reçinemsî bir madde) ekstraktının *Cmm*’e karşı antibakteriyel etkisinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada polen ekstraktının 1/5 oranında, propolis ekstraktının ise 1/10 oranında kullanıldığında patojene karşı en etkili sonucu verdiği saptanmıştır. Polen oranı 1/100, propolis oranı ile 1/1000’ e düşürüldüğünde ise antibakteriyel etkinin minimum olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma ile polen ve propolisin bitki patojeni bakterilere karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğu ortaya konmuştur (Basim ve ark., 2005).

Taiwo ve Oso (1997) tınlı kumlu ve kumlu yapıdaki iki farklı toprak çeşidinde atrazine, pyrethrin ile metobromuron ve metolacher karışımlarının topraktaki mikroorganizmalara ve onların minerilizasyon aktivitelerine olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar her iki toprak yapısında da hem mikrobiyal popülasyonda hem de karbon, azot, potasyum ve pH’da başlangıçta bir yükselme daha sonra önemli oranda azalma saptamışlardır. Uygulama yapılmayan tınlı, kumlu yapıda ki toprakda ikisi aktinomiset beşi ise fungus toplam sekiz mikroorganizma tespit etmişlerdir. Bu mikroorganizmaların yoğunluğunun uygulama yapılan topraklarda kontrollere göre azalma gösterdiğini saptamışlardır.

Cmm’e karşı antagonist bakterilerin kullanım olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada, Tokgönül ve Çınar (1999) 79’u Aktinomiset, 9’u floresan *Pseudomonas* ve 2’si *Bacillus* olmak üzere toplam 90 adet antagonist bakteri izolatu elde etmişlerdir. Bunlardan 27 tanesinin *in vitro* petri denemeleri sonucunda etkili olduğunu saptamışlardır. Bu izolatlar arasından seçilen 7 antagonist bakteri izolatu *in vivo* saksı çalışmalarında domates bakteriyel solgunluk hastalığının gelişimini temiz toprakta %46-100; bulaşık toprakta ise %65-100 arasında değişen oranlarda engellediğini belirlemişler, bu antagonistleri ümit var izolatlar olarak değerlendirmişlerdir.

Boudyach ve ark., (2001) Fas’ın Souss- Massa vadisinde domates bitkilerinin kök çevresinden, kök çevresi dışındaki topraktan ve yaprak yüzeyinden elde ettikleri 178 adet antagonist izolatu gram reaksiyon, sporulasyon, King B besi yerinde floresan renk oluşumu ve fizyolojik testlerle tanılamışlardır. 178 adet izolatu’nun %43’ü

tanılanamamış gram negatif bakteri, %28'i floresan *Pseudomonas*, %20'si *Bacillus* spp. ve %9'u da actinomiset olarak tespit edilmiştir. Araştırmacılar 18 izolatın *Cmm*'i engelleme yeteneklerini saksı çalışmaları ile araştırmışlardır. İzolatlar tohuma uygulandıklarında sadece üç izolat hastalık şiddetinde azalma yaparken, tohum uygulamasını takiben üretim alanına dikimden önce izolatlar köklere uygulandığında 10 izolatın hastalık şiddetinde azalmaya neden olduğunu saptamışlardır.

Yaptığımız literatür çalışmaları göstermektedir ki bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni olan *Cmm* hem açık alanda hem de örtü altında yapılan domates yetiştiriciliğinde önemli oranlarda verim kaybına neden olmaktadır. Kullanılabilir durumdaki yöntemlerin çok etkin olmaması araştırmacıları hastalıkla mücadelede yeni arayışlar içerisine yönlendirmiştir. Bu yöntemlerden biri de kısaca PGPR olarak isimlendirilen Bitki Büyüme Düzenleyici Rhizobakterilerin kullanımıdır. PGPR'lar bitki büyümesini artırmaya paralel olarak pek çok bakteriyel, fungal ve viral etmene karşı bitkide bulunan doğal dayanıklılığı teşvik ederek koruma sağlamaktadır. (Wei ve ark., 1996). Bitkilerde dayanıklılığın teşvik edilebilmesi için biyotik uyarıcılar (bakteri, fungus, virüs ve nematodlar) yada abiyotik uyarıcılar (salisilik asit, glisin, jasmonat, etilen ve bazı herbisitler) oldukça geniş bir patojen dizisine karşı pek çok kültür bitkisinde kullanılmıştır (Ozeretskovskaya, 1995; Kuc, 2001). Abiyotik uyarıcılar sınıfına giren Actigard veya Bion 50 WG (acidibenzolar-S-methyl) adıyla bilinen ticari preparatın domates bitkilerinde peroxidase, glutathione peroxidase, chitinase, superoxide dismutasu ve glutathione S-transferase enzimlerinin miktarlarını artırarak *Cmm*'e karşı dayanıklılığı teşvik ettiği ayrıca uygulamalar sonucu bitkilerde hastalık şiddetini %76, bakteriyel gelişmeyi ise %68 oranında azalttığı belirlenmiştir (Baysal ve ark., 2003, Soylu ve ark., 2003a ve Soylu ve ark., 2003b).

Patojenik mikroorganizmalar bitki sağlığını etkilemekte ve dünya çapında üretimi kronik olarak tehdit etmektedir. Son yıllarda tarımsal üretimin yoğunlaşması ile üreticiler, ürünlerini korumak amacı ile tarımsal kimyasalları sürekli artan oranlarda kullanmaya başlamışlardır. Fakat tarımsal kimyasalların hedef olmayan canlılara zarar vermesi, bitkide kalıntı bırakması, patojenlerin dayanıklılık kazanmaları gibi pek çok problem kimyasal kullanımının sınırlayıcı yönleri olarak

ortaya çıkmaktadır. Bu noktada biyolojik mücadele yöntemi hastalıkla mücadelede tarımsal kimyasallara alternatif bir yöntem olabilmektedir. Biyolojik mücadele kapsamında kullanılan bu bakteriler arasında en çok çalışılan kısmı kök yüzeyine kolonize olan ve kök çevresindeki toprakla yakın ilişkide bulunan rizobakteriler oluşturmaktadır ve bunlar Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler (PGPR) olarak isimlendirilmektedir. Bir kısım PGPR ise bitkilerin yaprak yüzeyinden ya da erkek organ çevresinden elde edilebilirler. Bu bakteriler bitkinin farklı kısımlarından elde edilseler de bitki büyümesini sağlamak, bitkiyi strese korumak ve patojenleri kontrol altında tutmak için aynı mekanizmaları kullanırlar. Bunlar; yaşam alanı ve besin için rekabet, gelişim engelleyici kimyasalların üretimi ve bitkide teşvik edilmiş dayanıklılığın harekete geçirilmesini kapsamaktadır (Compant ve ark., 2005). PGPR'ların bitkide büyümeyi artırırken yada patojen gelişimini engelleyici rol oynarken kullandıkları mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmamakla birlikte; (1) indol asetik asit, giberallik asit, sitokinin ve etilen gibi bitkisel hormonların üretimi veya bunların konsantrasyonlarının değiştirilmesi; (2) topraktaki serbest azotun bağlanması; (3) siderefor, β -1,3-glukanaz, kitinaz, antibiyotik ve siyanit üretimi ile patojenlerin gelişiminin engellenmesi; (4) toprakta alınamayacak formdaki fosfor ve diğer besin elementlerinin alımının sağlanması ve (5) besin rekabeti yoluyla olduğu düşünülmektedir (Cattelan ve ark., 1999).

Bütün bitkiler patojen saldırılarına karşı doğal bir savunma mekanizmasına sahiptirler. Patojen saldırısından önce bitki çeşitli şekillerde uyarılarak savunma mekanizmasını başlatır ve böylece hastalık oluşumu azaltılabilir ya da engellenebilir. Özellikle floresan *Pseudomonas*'lar toprak kökenli hastalıkların engellenmesinde etkili rizosfer bakterileri olarak karşımıza çıkmaktadırlar. PGPR'lar sistemik dayanıklılığı teşvik edebilme yeteneğine de sahiptirler. Bunun içinde antibiyotik üreterek bitkileri patojen saldırılarına karşı koruma yada siderefor özellikleri ile patojen mikroorganizmaların topraktaki demiri kullanmalarını engelleme gibi çeşitli mekanizmaları kullanabilmektedirler (van Loon ve ark., 1998).

Azot ve fosfor bitki için gerekli en önemli besin elementleri arasında yer almaktadırlar. Fakat bitkiler her zaman, toprakta serbest halde bulunan azotu ve fosforu kullanamazlar. Toprakta serbest halde bulunan azotu ve alınamayan formdaki

fosforu bitkilerin alabileceği forma dönüştürmek yukarıda da belirtildiği gibi PGPR'ların etki mekanizmaları arasında yer almaktadır (Çakmakçı, 2005).

PGPR'ların izolasyonları ve seçimi için çeşitli besi yerleri kullanılmaktadır. Hindistan'da yapılan bir çalışmada topraktan ve bitki köklerinden izole edilen mikroorganizmaların fosfor çözme yeteneklerini belirleyebilmek için PVK (Pikovskaya) besi yerinden daha etkili olan NBRIP (National Botanical Research Institute) besi yeri geliştirilmiştir. Yapılan petri denemelerinde NBRIB besi yeri ve PVK besi yeri benzer sonuçlar verirken sıvı NBRIP besi yerinin sıvı PVK besi yerine oranla 3 kat daha etkili olduğu saptanmıştır. Araştırmacı topraktan ve bitki köklerinden izole bakterilerin fosfor çözme yeteneklerini belirleyebilmek için sıvı NBRIP besi yeri kullanımının daha avantajlı olduğunu bildirmiştir (Nautiyal, 1999).

PGPR'ların seçici özelliklerinden biri olan toprakta alınamayan formdaki fosforun alınabilir hale getirilmesi için Nautiyal ve ark., (2000) alkali yapıdaki toprak ve nohut köklerinden NBRI0603, NBRI12601, NBRI13246 ve NBRI14003 kodlu fosforu çözen bakterileri izole etmişlerdir. Çeşitli karbon (fruktoz, galaktoz, sorbitol, mannitol, xyloz, sukroz, maltoz ve laktoz) ve azot (KNO_3 , $CaNO_3$, $NaNO_3$ ve $(NH_4)_2NO_3$) kaynaklarını kullanarak bu dört izolatın farklı seviyelerde fosfor çözdüğünü belirlemişlerdir. Araştırmacılar asit üretiminin fosfor çözülmesini artırdığını fakat mikroorganizmaların kullandığı tek mekanizmanın bu olmadığını bildirmektedirler. Bu dört izolat arasında özellikle NBRI12601 kodlu mikroorganizma %10 tuz varlığında, pH 12 ve 45°C sıcaklıkta en yüksek miktarda fosforu çözebilmiştir.

Çakmakçı (2005) bitki gelişimini sınırlayan temel elementlerden olan fosforun toprakta genelde çözünemez formda bulunmasından dolayı yetersiz olduğunu bildirmektedir. Fosfor noksanlığının karşılanması için yoğun gübre kullanımının, yüksek maliyet ve çevre sorunlarına neden olmaktadır. Tarımda kimyasal gübre kullanımına alternatif olarak mikroorganizma kullanımı gittikçe önem kazanmaktadır. Bir çok bakteri organik asit üretimi veya diğer mekanizmalarla inorganik ve organik fosfatın çözünürlüğünü artırmakta ve bitkiler için alınabilir forma dönüştürmektedir.

Rhizobium ve *Bradyrhizobium* bakterilerinin kaya fosfatını çözme yeteneklerinin belirlenmesi için iki farklı besi yeri (AYG ve YG) kullanılmıştır. Çalışma 7'si *Bradyrhizobium*, 16'sı *Rhizobium* türlerine ait toplam 23 izolat ile yapılmıştır. İzolatlar arasında *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae*'nin en etkili izolat olduğu saptanmıştır. Bu izolatın 2-ketoglukonic asit üretimi yüksek miktarda kaya fosfatı çözebilmesinin başlıca nedeni olarak belirlenmiştir. Besi yeri içerisinde bulunan çözünmeyen kaya fosfatı miktarı, çözülen fosfor miktarını çok az oranda etkilerken, besi yerine CaCl_2 , CaCO_3 ve Ca(OH)_2 gibi kalsiyum bileşiklerinin eklenmesinin çözülen fosfor miktarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca araştırmacılar pH değerindeki değişikliğin fosfor çözülmesinde pek önemli olmadığını bildirmektedirler (Halder, ve ark., 1990).

Kumar ve Narula (1999) buğday (*Triticum aestivum* L.) kök bölgelerinden izole edilen *Azotobacter chroococcum* mutantlarının fosfor çözme yeteneklerini araştırmışlardır. Araştırmacılar Pikovskaya besi yerinde izolatların oluşturdukları zonları ölçmek amacı ile fosfat çözme indeksini kullanmışlardır. Bunun içinde toplam çapın (koloni çapı + zon çapı) koloni çapına oranını esas almışlardır.

Johri ve ark., (1999) tohum veya toprağa uygulanan fosforu çözme yeteneğine sahip bakterilerin ürün miktarında artışa neden olduğunu bildirmektedirler. Araştırmacılar Pikovskaya besi yerinde izolatların oluşturdukları zonları ölçmek amacı ile fosfat çözme indeksini kullanmışlardır. Alkali topraklardan elde edilen bakteriyel izolatların yüksek sıcaklık, pH ve tuzluluk gibi stres koşullarında fosfor çözme yeteneklerinin gelişebileceğini bildirmişlerdir.

Buğdaylarda yapılan bir çalışmada bitkiler fosforu çözen mikroorganizmalar, *Bacillus circulans*, *Cladosporium herbarum* ve vesiküler arbusküler bir fungus olan *Glomus* sp. 88 ile inokule edilmiş, toprak olarak ise kumlu yapıda toprak kullanılmıştır. Mikroorganizmalar tek tek ve kombinasyonlar halinde uygulandıklarında en iyi sonucun fosfat çözen bakteriler ile *Glomus* sp. 88'in kombinasyonunda elde edildiği gözlenmiştir (Singh ve Kapoor, 1999).

Vazquez ve ark, (2000); siyah ve beyaz mangrove (sırası ile *Avicennia germinans* L. ve *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn.) bitkilerinin köklerinden elde edilen mikroorganizmaların fosfor çözme yeteneklerini araştırmışlardır. Araştırmacılar

Bacillus amyloliquefaciens, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrophaeus*, *Paenibacillus macerans*, *Vibrio proteolyticus*, *Xanthobacter agilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter taylorae*, *Enterobacter asburiae*, *Kluyvera cryocrescens*, *Pseudomonas stutzeri* ile *Chryseomonas luteola*'yı içeren 13 mikroorganizma, *Avicennia germinans* L.'nin köklerinden izole edilen *Aspergillus niger* ve tanılanamayan bir bakteri türü ile çalışmışlardır. İzolatların fosfor çözme yeteneklerini suda çözünmeyen kalsiyum fosfat içerikli katı besi yerinde kolonilerin etrafında oluşan zonların büyüklüğüne göre niteliksel olarak saptamışlardır. Tüm bakteri izolatları ve *Aspergillus niger*'in suda çözünmeyen kalsiyum fosfat içerikli sıvı besi yerinde çözdükleri fosfor miktarı spektrofotometrik olarak belirlenmiş ve *Vibrio proteolyticus*'un bu türler içerisinde en fazla fosfor çözen bakteri olduğu saptanmıştır. Bu bakterilerin sıvı besi yerinde oluşturdıkları organik asitlerden 11 tanesi belirlenmiş fakat birkaç tanesi tanılanamamıştır. Farklı türler tarafından üretilen en yaygın asitler laktik, süksinik, isovalerik, isobutirik ve asetik asittir. Bakterilerin büyük bir kısmı birden fazla organik asit üretirken; *A. niger* sadece süksinik asit üretmiştir. Mangrove bitkisinin rizosferinde yaşayan ve bu asitleri üreten mikroorganizmaların kalsiyum fosfatın çözülmesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Nejad ve Johnson (1999) kolza ve domates bitkisinin kök ve gövdesinden elde ettikleri PGPR izolatlarının fide boyunda ve tohum çimlenmesinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Fakat bu PGPR izolatlarını *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) ve *Verticillium dahliae*'nin neden olduğu iletim demeti solgunluk hastalığına karşı tohum uygulamaları şeklinde denediklerinde hastalık belirtilerinde önemli oranda azalma meydana geldiğini saptamışlardır

Zehnder ve ark., (2001) hıyar'larda *Erwinia tracheiphila* tarafından neden olunan bakteriyel yanıklık hastalığına karşı etkili PGPR uygulamalarının iki farklı mekanizma ile hastalık oluşumunu azalttığını bildirmişlerdir. Bunlardan birincisi PGPR'ların bitkide bulunan ve hastalığın yayılmasında önemli bir rol üstlenen böcekler için güçlü bir cezbedici olan cucurbitacin sentezini azaltmaları ve buna bağlı olarak da böcek beslenmesinin ve hastalık yayılımının azalmasıdır. İkincisi ise PGPR'ların bitki tarafından algılanmasından sonra patojene karşı diğer savunma

mekanizmalarını (örn, fitoaleksinin oluşumu) harekete geçirmesidir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada PGPR ürünlerinin hastalık kontrolünde kabul edilebilir seviyede koruma sağladığını fakat bu etkinin yıldan yıla ve çevre koşullarına bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Bu yüzden PGPR'ların diğer hastalık mücadele yöntemleri ile kombine kullanılmasını önermektedirler.

Cattelan ve ark., (1999) azot bağlayan bakterileri tespit etmek için N içermeyen bir besi yeri kullanmışlar ve izole ettiği beş izolatın azot bağlama özelliğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *Pseudomonas chlororaphi* ve *Pseudomonas putida* ile soya fasulyesi arasında olumlu PGPR etkileşimi olduğunu ortaya koymuşlardır.

Ahmad ve ark., (2005) çeşitli toprak örneklerinden elde ettikleri 21 izolatdan 11'nin *Azotobacter* 10 tanesinin ise *Pseudomonas* olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar Azotobakterlerin izolasyonunda azot içermeyen Jensen's besi yerini kullanmışlardır.

Romero ve ark. (2003) rhizobakteri benzeri *Azospirillum brasilense* Sp7 ve *Azospirillum* sp. BNM-65 bakterilerini içeren süspansiyonlara domates tohumlarını daldırarak ve dört hafta geliştirilen bitkilere 10^8 cfu/ml⁻¹ yoğunlukta hazırladıkları *Cmm* süspansiyonu ile inokule etmişlerdir. *Azospirillum*'lar ile muamele gören tohumlardan gelişen bitkiler ile sadece patojen uygulanan bitkiler karşılaştırıldığında hastalık şiddetinde herhangi bir fark olmadığı fakat uygulama görmüş bitkilerde yaprak ve bitki ölümlerinin daha geç ortaya çıktığı gözlenmiştir.

Hirano ve ark., 2001 uzun yıllar tarımsal kimyasal uygulanmış bir pirinç tarlası ile doğal haldeki bir pirinç tarlasında bitkilerin kök bölgesinden aldıkları örneklerde bulunan azot bağlayan bakterilerin tanısını 16 sDNA analizine göre yapmışlardır. Araştırmacılar uygulama yapılmayan tarlada yoğun olarak *aktinomiset*, α -*proteobacteria* ve β -*proteobacteria* türü bakteriler bulurken, tarımsal kimyasal uygulanan tarlada ise *aktinomiset*, α -*proteobacteria* ve az sayıda da β -*proteobacteria* saptamışlardır. Azot bağlayan bakterilerin %98.3 -99.3'ü *Agromonas oligotrophica* olarak belirlenirken bu izolatlardan bir tanesi %99.2 düzeyinde pirinçte büyüme düzenleyici bakteri olarak bilinen *Burkholderia vietnamiensis* olarak saptanmıştır..

James ve ark., (1994) Brezilya’da şeker kamışı üretim alanlarında yaptıkları çalışmada sıvı besi yerinde köklendirdikleri şeker kamış bitkilerine azot bağlayan ve immunogold ile işaretlenmiş *Acetobacter diazotrophicus*’u inokule etmişler ve bakterinin 4, 7, 9, ve 15. günlerde bitki içerisindeki hareketini incelemişlerdir. 15. güne kadar bakteri köklere ve gövdenin alt kısımlarına kolonize olmuş, 15. günden sonra ise iletim demetlerinde varlığı saptanmıştır. Caballero-Mellado ve ark., (2007) Meksika’da domates üretim alanlarından elde ettikleri azot bağlama özelliğine sahip *Burkholderia* türlerinin *in vitro* koşullarda bitki büyümesini artırmak için yada biyolojik kontrol sağlamada kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Prosopis juliflora kök nodüllerinden elde edilen NBRI330 kodlu *Rhizobium* sp. izolatının özelliklerinin ve bitki büyümesine olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada bu izolatının *Prosopis juliflora* köklerinde nodül oluşturabilme yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir. NBRI330 kodlu izolat ile inokule edilen bitkiler kontrol bitkiler ile karşılaştırıldığında bitki kuru ağırlığında %60.6 oranında artış olduğu gözlenmiştir (Kulkarni ve Nautiyal, 2000)

Erzurum’da Çakmakçı ve ark., (2001) 1999- 2000 yıllarında şeker pancarı ve arpa üretim alanlarında yaptıkları bir çalışmada *Bacillus* (BA-140, BA-142, M-3, M-13, M-58), *Burkholderia* (BA-7) ve *Pseudomonas* (BA-8) cinslerine ait 7 adet azot bağlayan bakteriyel izolat elde etmişlerdir. Arpa ve şeker pancarı tohumları bu izolatlar ile inokule edildiğinde ürün miktarında ve kalitesinde önemli artışlar gözlemişlerdir. Özellikle BA-140 ve BA-142 kodlu *Bacillus* izolatları tüm uygulamalar içerisinde en iyi sonucu vermiş ve ümit var izolatlar olarak kabul edilmişlerdir.

Dwivedi ve Johri (2003) bitki rizosferinde bulunan PGPR’lar içerisinde en yaygın olarak floresan *Pseudomonas*’larla karşılaşıldığını ve bunların hastalığı hem başlangıç hem de yayılma aşamalarında baskılayabildiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca *Pseudomonas*’ların pyoluteorin, pyrolnitrin, phenoziols ve 2,4-diacetyl phologlucinol gibi antifungal metabolitlerin üretimi ile toprak kökenli fungal patojenlerin gelişimini de baskıladığını bildirmişlerdir.

Kaysılarda (*Armeniacas vulgaris* Lam., cv Hacıhaliloğlu) 2000–2001 yıllarında yapılan çalışmada *Bacillus* OSU 142 izolatının ürün miktarı, bitki gelişimi

ve yapraklardaki besin elementleri düzeylerine olan etkisi araştırılmıştır. *Bacillus* OSU 142 tam çiçeklenme döneminde, 30 ve 60 gün sonrasında spreyleme şeklinde uygulanmıştır. Uygulama sonucunda 2000 yılında ürün miktarı kontrole göre %30, 2001 yılında ise %90 oranında artış göstermiştir. Sürgün uzunluğun ise her iki yılda önemli oranda arttığı gözlenmiştir. Benzer şekilde yapraklardaki N, P, K, Ca ve Mg konsantrasyonlarının da yükseldiği gözlenmiştir. Bu çalışma sonucunda *Bacillus* OSU 142 izolatının kaysılarda ürün artıcı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (Esikten ve ark., 2003).

Utkhede ve Koch (2004) yaptıkları çalışmada *Cmm*'e karşı *B. subtilis* (Quadra 136) (0.3 g/l) ve *Trichoderma harzianum* (RootShield) (0.6 g/l), lysozyme (10 g/l), vermicompostea (konsantre), *Rhodosporodiu diobovatum* (S33) (1×10^9 hücre /ml) ve *B. subtilis* (Quadra 137) (0.5 g/l)'i püskürtme şeklinde domates bitkilerine uygulamışlar ve hastalık şiddetinin %54 ile %74 arasında değişen oranlarda azaldığını bildirmişlerdir.

Anith ve ark. (2004) domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni *Ralstonia solanacearum*'a (biovar 1) karşı *Bacillus pumilus* SF 34, *Pseudomonas putida* 89B61, BioYield (*Bacillus subtilis* GBO3 ve *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a), Equity (40'dan fazla mikrobiyal izolat), acibenzolar-S-methyl (Actigard) ile tarımsal ve endüstriyel artıklar içeren toprak karışımının kullanım olanaklarını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışma sonucunda *Pseudomonas putida* 89B61'in *Ralstonia solanacearum* ile inokulasyondan bir hafta önce fidelere uygulandığı zaman hastalığı önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. BioYield hastalık şiddetinde önemli oranda azalmaya neden olurken, Equity uygulanan bitkilerde hastalık şiddetinde azalma gözlenmemiştir. Actigard ise *Pseudomonas putida* 89B61 veya BioYield ile karıştırılarak kullanıldığında bakteriyel solgunluk hastalığını azaltmıştır. Silva ve ark., (2003) *Pseudomonas syringae* pv *tomato*'ya karşı Rizobakterilerin teşvik edilmiş sistemik dayanıklılık sağlayıp sağlamadıklarının belirlenmesi için domates bitkilerinin köklerinden izole ettikleri 500 bakteriyi testlemişlerdir. Bu mikroorganizmalardan 28 tanesinin hastalığı %40 oranında azalttığını saptamışlardır.

Yan ve ark., (2003) bitki gelişimini arttırmak ve biyolojik mücadele amacı ile PGPR uygulamaları için en uygun koşulların fideliklerde olduğunu bildirmişlerdir. Fide üretimi esnasında çevresel koşulların tarla şartlarına göre çok daha stabil olması PGPR'ların bitkiye daha yüksek oranda kolonize olmalarına olanak sağlamaktadır.

PGPR izolatlarının çeşitli bitkilerde dayanıklılık mekanizmalarını harekete geçirerek hıyarda *P. syringae* pv. *lachrymans* (Caruso ve Kuc, 1979), kabakgillerde *Erwinia tracheiphila* (Zehnder ve ark., 2001), domateste *P. s.* pv *tomato* (Ton ve ark., 1999) ve Cucumber mosaic virus (Murphy ve ark. 2003) enfeksiyonunu başarı ile önlediğini gösteren çalışmalar vardır.

Mirik (2005) biberlerde *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* tarafından neden olunan bakteriyel leke hastalığının biyolojik mücadele olanaklarını araştırdığı çalışmada Adana, Mersin, Osmaniye, Kahramanmaraş ve Hatay illerinden biber üretim alanlarından alınan toprak ve bitki köklerinden toplam 118 adet bakteri izolatu elde etmiştir. Araştırmacı fosfatı indirgeyen 11 adet bakteri izolatını aday PGPR izolatu olarak seçmiştir. Bunlardan üç tanesi ile yaptığı saksı ve tarla çalışmalarında PGPR uygulanan bitkilerde hastalık şiddetinin %65 oranında azaldığını saptamıştır. PGPR'ların bitki boyu, gövde çapı, bitki yaş ağırlığı, bitki kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök kuru ağırlığı, verim, meyve boyu ve meyve sayısında değişen oranlarda artışa neden olduğunu belirlemiştir.

Benzer şekilde Küsek, (2007) asmalarda urlara neden olan *Agrobacterium vitis*'in PGPR'larla biyolojik mücadelesini araştırmıştır. Adana, Mersin, Hatay, Osmaniye, Gaziantep ve Kahramanmaraş illerindeki bağlardan izole ettiği aday PGPR izolatlarının 63 tanesinin katı NBRIB besi fosforu çözdüğünü belirlemiştir. Araştırmacı bu izolatlar arasında nicel olarak en çok fosforu çözen 10 izolatu saksı çalışmalarında kullanmıştır. Bu izolatlardan beş tanesi *Agrobacterium vitis*'in asmalarda oluşturduğu urların ağırlığını %45 ile %98 arasında değişen oranlarda azaltmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3. 1. Materyal

Çalışmanın ana materyalini Adana, Mersin, Antalya, Bursa, Artvin ve İzmir illerinde domates üretim alanlarından izole edilen *Cmm*'in bölge izolatları, Almanya Georg-Agust Üniversitesi Dr. Rudolph'dan temin edilen GSPB 382 kodlu *Cmm* izolatı, domates tohumları ve fideleri, antagonist izolatlar, besi yerleri, çeşitli kimyasallar, ELISA tanı kiti ve PCR malzemeleri oluşturmuştur.

Saksı çalışmalarında domates çeşidi olarak cv. Netta, tarla çalışmalarında cv. Tutku, viyol çalışmalarında ise cv. H-2274 kullanılmıştır.

Besi yeri olarak King B (King's Medium B), YDC (Yeast Dekstroz Kalsiyum Karbonat), NA (Nutrient Agar), SCM (semiselective medium for *C. michiganense*), sıvı NB (sıvı Nutrient Broth) ve TSBA (Trypticase Soy Broth Agar) besi yeri kullanılmıştır. Besi yerlerinin içerikleri Ek1 ve Ek 4 'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Hasta Domates Bitkilerinin Toplanması

Adana ve Mersin illerindeki domates yetiştiriciliği yapılan tarla ve seralar incelenerek solgunluk ve iletim demetlerinde kahverengileşme symptomu gösteren domates bitkilerinden örnekler alınmıştır. Örnekler gazete kağıdı arasına sarılıp polietilen torba içerisinde laboratuara getirilmiştir. Antalya Bursa, Artvin ve İzmir illerinden üreticiler tarafından laboratuvarımıza gönderilen hasta bitki örnekleri de çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2.2. Domateste Bakteriyel Solgunluk Etmeninin İzolasyonu

Hasta bitkinin iletim demetlerinden hastalıklı ve sağlıklı kısmı içeren 2-3 mm büyüklüğünde bitki parçaları alınıp %70'lik alkol veya %1'lik NaOCL ile

yüzeyden dezenfekte edilmiştir. Parçalar steril havanda fizyolojik tuzlu su (%0.85'lik NaCL çözeltisi) ile homojenize edilmiştir. Bir öze dolusu süspansiyon, YDC agar ve King B besi yeri içeren petrilere çizgi ekimiyle çizilmiştir ve 25°C'deki inkübatörde 2-3 gün inkübe edildikten sonra gelişen koloniler incelenmiş ve açık sarı renkli koloni morfolojisine sahip olanlar saflaştırılmıştır. Saflaştırılan izolatlar gelecekteki çalışmalarda kullanılmak üzere eğik olarak hazırlanmış YDC agar besi yerinde (Lelliott ve Stead, 1987) geliştirilmiş ve +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.3. Domates Bitkilerinin Yetiştirilmesi

Patojenite testi için H-2274 çeşidi domates fideleri kullanılmıştır. İçinde 3:2 oranında toprak ve torf karışımı bulunan 25 cm çapında plastik kaplar içine tohum ekimi yapılmıştır. Fideler 15-20 günlük olduğunda 3:1 oranında toprak ve torf karışımı içeren saksılara (8.5x8.5 cm) şaşırtılmıştır. Şaşırtılan bitkiler 25°C sıcaklık, %70-80 nem ve 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık koşullardaki iklim geliştirilmiştir.

3.2.4. Patojenite Testi

Hasta domates bitkilerinden izole edilen bakteri izolatları, 3-5 yapraklı dönemde bulunan domates fidelerine gövdeden steril kürdan yardımıyla 3 tekrarlı olarak inokule edilmiştir. Çalışmada 36-48 saatlik bölge izolatları, pozitif kontrol olarak GSPB 382 kodlu *Cmm* referans izolatı ve negatif kontrol olarak steril su kullanılmıştır. İnokule edilen bitkiler iklim odasına yerleştirilmiş (16 saat ışık, 8 saat karanlık, 25°C sıcaklık, %70-80 nisbi nem) ve yüksek nem sağlamak amacıyla 24 saat süreyle ıslak polietilen torba içerisinde tutulmuştur. İnokulasyondan bir gün sonra fideler nem çemberinden alınmış ve günlük olarak simptom gelişimi açısından incelenmiştir. İnokulasyondan 8-10 gün sonra enfekteli fidelerde oluşan solgunluk belirtileri ve iletim demetlerinde oluşan kahverengiliklere göre, hastalık var/yok olarak değerlendirilmiş ve izolatların

patojen olup olmadığı belirlenmiştir. Simptom veren bitkilerden re-izolasyonlar yapılarak elde edilen re-izolatlar ile tanı çalışmaları yapılmıştır.

3.2.5. Bakteri Populasyonunun Belirlenmesi

Cmm'in 48 saat geliştirilmiş bölge izolatu (*Cmm* 3/1A) spektrofotometrede 600 nm 0.2 ölçüm değerine ayarlanarak elde edilen süspansiyonlardan 1 ml alınmış içerisinde 9 ml steril su bulunan tüplere konmuş ve altı kez seyreltilerek sulandırma serileri hazırlanmıştır. Her bir sulandırmadan 100µl alınıp içerisinde King B besi yeri bulunan petrilere bir baget yardımı ile yayma yapılmıştır. Her seyreltme için üç adet petri kullanılmıştır. 25°C'de 72 saat inkübasyondan sonra petrilere gelişen koloniler sayılarak ml'deki hücre yoğunluğu hesaplanmıştır (Klement ve ark., 1990).

3.2.6. *C. m. subsp. michiganensis*'in Tanı Testleri

3.2.6.1. Koloni Gelişimi

YDC Agar Besi Yerinde Gelişim: Taze hazırlanmış YDC agar besi yerine (Ek 1) çizilen domates bakteriyel solgunluk hastalığı izolatları ve referans izolat (GSPB 382) 48 saat 25°C'de inkübe edildikten sonra açık sarı renkli koloni gelişimine göre değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

Nutrient Agar Besi Yerinde Gelişim: NA besi yerine (Ek 1) çizilen domates re-izolatları ve referans bakteri kültürü 48 saat 25°C'de inkübasyondan sonra açık sarı koloni gelişimine göre değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

SCM Besi Yerinde Gelişim: Taze hazırlanmış SCM besi yerine (Ek 1) çizilen domates bakteriyel solgunluk re-izolatları ve referans bakteri kültürü 2-3 gün 25°C'de inkübe edildikten sonra koyu gri etrafı açık renk haleli koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Fatmi ve Schaad, 1988).

3.2.6.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra domates bakteriyel solgunluk izolatları ve referans izolatın 48 saatlik kültüründen platin özeyle alınarak solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında viskoz, yapışkanimsi bir sünmenin oluşmaması ile sonuç gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990). Negatif kontrol olarak *Pseudomonas cichorii* (GSPB 2297) kültürü kullanılmıştır.

3.2.6.3. Akşamsafası (*Mirabilis jalapa*) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Domates bakteriyel solgunluk izolatları ve pozitif kontrol (GSPB 382)'ün 48 saatlik kültüründen hazırlanan süspansiyonlar Akşamsafası (*Mirabilis jalapa*) bitkisinin yaprak damar aralarına enjekte edilmiştir. Çalışmada ülkemizde bulunan yerli çeşitlerde simptom oluşumu gözlenmezken, Fransa'dan ithal edilen Vilmorin marka F1 tohumlarından geliştirilen bitkilerde tipik aşırı duyarlılık belirtileri oluşmuştur. 48 saat'lik inkübasyon periyodundan sonra enjekte edilen Akşamsafası bitkilerinin yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonunun oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak steril distile su kullanılmıştır (Gitaitis, 1990).

3.2.6.4. Domates Kotiledon Testi

Domates bakteriyel solgunluk izolatları ve pozitif kontrol (GSPB 382)'ün 48 saatlik kültüründen 10^7 hücre/ml yoğunlukta bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Dört günlük domates fidelerinin tam gelişmiş kotiledon yaprakları bu bakteri süspansiyonlarına batırılan ucu pamuklu bir çubuk yardımı ile inokule edilmiştir. İnokule edilen bitkiler 26°C'de yaklaşık %60-70 nisbi nem içeren iklim odası koşullarında 3-4 gün tutulmuş ve bu süre sonunda değerlendirme yapılmıştır. Yapraklarda beyazımsı siğil benzeri yapıların oluşumu pozitif sonuç

olarak kabul edilmiştir. Negatif kontrol olarak steril distile su kullanılmıştır (Chaldecott ve Preece, 1983).

3.2.6.5. *C. m. subsp. michiganensis* İzolatlarının Bakır Sülfat’a Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi

NA besi yeri otoklavda sterilize edildikten sonra 50°C’ye kadar su banyosu içerisinde soğutulmuş ve içerisine bakır sülfat (CuSO₄) (30, 100, 200 ve 300 ppm) ilave edilerek petrilere dökülmüştür. Besi yeri üzerine üç tekerrürlü olarak çizilen domates bakteriyel solgunluk izolatları ve orijinal bakteri kültürü (GSPB 382) 7-14 gün 25-26°C’de inkübe edildikten sonra gelişimlerine bakılarak değerlendirilmiştir (Ritchie ve Dittapongpitch, 1991).

3.2.7. Tanıyı Destekleyici Geleneksel Testler

Hasta domates bitkilerinden elde edilen re-izolatlar, patojenite, morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlere göre *Cmm* olarak tanılanmış ve yapılan tanıyı desteklemek için indirekt-ELISA, PCR testleri ve Yağ Asit Metil Ester analizi kullanılmıştır.

3.2.7.1 *C. m. subsp. michiganensis* İzolatlarının İndirekt ELISA Testi İle Tanısı

Domates üretim alanlarından izole edilen bakteri izolatlarının içerisinde virülenslikleri yüksek olan izolatlar seçilerek tanılamaları Vunakis (1980) ve Coligan ve ark., (1991)’e göre üç tekrarlı olarak ELISA testi kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada *Cmm*’e karşı üretilen monoklonal antibody [Agdia marka ticari kit (BRA 44001)] kullanılarak, Alkalın Fosfataz ile işaretlenmiş indirekt ELISA testi yapılmıştır. Pozitif ve negatif kontrol olarak ELISA kitinin içinde hazır olarak gelen kontrollere ilaveten negatif kontrol olarak kültür hazırlamasında kullanılan PBS (Phosphate Buffered Saline) ve sağlıklı domates bitkisi yaprağı ekstraktı, pozitif kontrol olarak ise GSPB 382 kodlu (Gottingen-Almanya)

referans izolat kullanılmıştır. Indirekt ELISA test yapılırken firma tarafından belirtilen şartlara uyulmuştur. Okumalar Titertek Multiscan marka ELISA plate okuyucusunda 405 nm dalga boyunda yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Negatif kontrolün iki katı veya daha yüksek değerler pozitif olarak kabul edilmiştir. Testte kullanılan çözeltilerin içerikleri ayrıca Ek 2’de detaylı olarak açıklanmıştır.

ELISA çalışmalarında kullanılan test protokolü aşağıda verilmiştir.

Sıvı Nutrient Broth besi yerinde 24 saat geliştirilen *Cmm* izolatları 10.000 devirde 2 dakika santrifüj edildikten sonra pipet yardımı ile supernatant uzaklaştırılarak pellet alınmıştır.

Pellet üzerine 1 ml 1X PBS Buffer (Ek 2) eklenmiş ve tüpler karıştırılmıştır. Bu işlem iki kez daha tekrarlanmıştır.

Üç yıkama sonunda hücreler kaplama bufferında (Ek 2) yeniden süspanse edilmiştir. 600 nm de optikal yoğunluk ölçülerek ve yaklaşık 0.01’e ayarlanmıştır. Hazırlanan örneklerden plate çukurlarına 100’er µl konulmuştur.

Çalışmada ELISA kitinden çıkan pozitif kontrol, negatif kontrol ve bunlara ilaveten PBS ile *Cmm*’in bölge izolatları kullanılmıştır

Plateler 37°C’deki etüvde bir gece kurutulmuştur.

PBS içerisinde %5 oranında yağsız süt tozu eklenerek hazırlanan bloklama solüsyonundan her çukura 200 µl eklenmiştir.

Plateler nem kutusu içerisine yerleştirilerek oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir.

Daha sonra plateler hızla ters çevrilerek çukurlar arası karışma olmayacak şekilde dikkatlice boşaltılmıştır.

Çukurlara 200’er µl 1X PBST (Ek 2) konularak 3 dakika süre ile çukurlarda bekletilmiş ve çukurlar arası karışma olmayacak şekilde dikkatlice ters çevrilerek plate boşaltılmıştır. Plate 6-8 kat kağıt havlu üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır.

Her çukura hazırlanan antibody’den 100 µl eklenmiştir.

Plate’ler nem kutusu içerisine yerleştirilerek oda sıcaklığında bir saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra yıkama tamponu (1X PBST) 3 dakika süre ile çukurlarda bekletilmiş ve çukurlar arası karışma olmayacak şekilde dikkatlice ters çevrilerek plate boşaltılmıştır. Plate 6-8 kat kağıt havlu üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır. Bu işlem beş kez tekrarlanmıştır.

Hazırlanan enzim konjugatından her çukura 100 µl eklenerek, plateler nem kutusunda, 1 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

İnkübasyondan sonra yıkama tamponu (1X PBST) 3 dakika süre ile çukurlarda bekletilmiş ve çukurlar arası karışma olmayacak şekilde dikkatlice ters çevrilerek plate boşaltılmıştır. Plate 6-8 kat kağıt havlu üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır. Bu işlem beş kez tekrarlanmıştır..

Her çukura 100 µl PNP solusyonu eklenmiştir.

Plateler nem kutusu içerisine yerleştirilerek 30-60 dakika inkübe edilmiştir.

ELISA okuyucusunda 405 nm’de okuma yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir. Daha sonra devam eden reaksiyon 50 µl 3N NaOH ile durdurulmuştur.

3.2.7.2. *C. m. subsp. michiganensis* İzolatlarının PCR Tekniği İle Tanısı

Klasik tanı, Indirekt-ELISA testi ile tanılanan *Cmm* izolatları içerisinde farklı illerden gelen örneklerden seçilen 5 izolat (Muc 1c, Cıcık 1, 33-A (TT111), Çoruh Nehri 1, 15/4a1) ve GSPB 382 kodlu referans izolatın DNA’sı De Boer ve Ward (1995)’a göre izole edilmiştir. Bu yöntemde izlenen prosedür aşağıda verilmiştir.

1. Bakteri izolatları 9 ml Nutrient broth sıvı besi yerine (Ek 1) aşlanarak 200 dev./dak. çalkalayıcıda gece boyu 27±1°C’de geliştirilmiştir.

2. Bakteri süspansiyonundan 1ml steril ependorf tüpüne alınmış ve tüplerin ağırlıkları dengelenerek 14.000 dev/dak.’da 20 dakika santrifüj edilmiştir.

3. Pellet alınarak süpernatant atılmıştır. Pelletin üzerine hücre parçalanmasını sağlamak üzere %1’lik SDS+TAE buffer’dan (Ek 3) 100µl eklenmiş ve tüp karıştırıcısında karıştırılmıştır.

4. Tüpler 50°C’deki su banyosunda 3 saat bekletilmiştir.

5. Bu sürenin sonunda her bir tüpe 50 µl 7.5M Amonyum asetat (Ek 3) eklenerek karıştırılmıştır.

6. 14.000 dev/dak.'da 10 dakika santrifüj yapılarak amonyum asetat artıklarının altta toplanması sağlanmıştır. Üstte kalan DNA kesik bir pipet ucu ile alınmış (yaklaşık 130µl) ve yeni bir ependorf tüpüne aktarılmıştır.

7. Buna eşit miktarda (yaklaşık 130µl) derin dondurucuda soğutulmuş isopropanol eklenmiştir. Tüpler derin dondurucuda 45dak. bekletilmiştir.

8. 10.000 dev/dak.'da 10 dakika santrifüj yapılarak pellet alınmıştır.

9. Soğutulmuş %70'lik alkolden 100µl ependorf tüplerine eklenmiş ve 10.000 dev/dak.'da 10 dakika santrifüj yapılarak alkolle yıkama yapılmıştır.

10. Ependorf tüpler ters çevrilerek alkol dökülmüş ve steril kabinde bir saat kurumaya bırakılmıştır.

11. Ependorf tüpler içerisine 50 µl bidistile su (ddH₂O) konarak tüp karıştırıcısında karıştırılmıştır. İzole edilen DNA'lar PCR çalışmalarında kullanılmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir.

12. Daha sonra bu DNA'lar %1'lik hazırlanan agarose jele (Ek 3) verilerek izole edilip edilmedikleri tespit edilmiştir. Hazırlanan agaroz jel 70 miliamperde yarım saat yürütüldükten sonra etidyum bromid (10mg/ml) ile boyama yapılmış ve transliminatörde bantlar incelenmiştir.

İki farklı PCR çalışması Dreier ve ark., (1995) ve Santos ve ark., (1997)'na göre yapılmıştır. Çalışma, reaksiyon tüpü adı verilen 0.5ml'lik ince duvarlı ependorf tüplerde toplam hacmi 25µl olan reaksiyon karışımının kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımının içeriği Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Dreier ve ark., (1995) ile Santos ve ark., (1997)'nin dizayn ettiği primerler kullanılarak yapılan PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği

Reaksiyon Karışımının İçeriği	Miktarı (µl)
PCR Master Mix (Promega, M7502)	12.5
Primer 1	1.0
Primer 2	1.0
H ₂ O (Nuclease free water)	8.5
g-DNA	2.0
Toplam	25

Kullanılan Primerlerin dizilişleri şöyledir:

Dreier ve ark. (1995) CMM5: 5'- GCGAATAAGCCCATATCAA-3'

Dreier ve ark. (1995) CMM6: 5'- CGTCAGGAGGTTCGCTAATA -3'

Santos ve ark., (1997) CM₃: 5'- 5'CCT CGT GAG TGC CGG GAA CGT ATC 3'

Santos ve ark., (1997) CM₄: 5'- CCA CGG TGG TTG ATG CTC GCG AGA -3'

Thermalcycler cihazında (Genius Marka) kullanılan programlar Çizelge 3.2'deki gibidir.

Çizelge 3.2. PCR işlemi için kullanılan programlar

Program adımları	Dreier ve ark (1995)		
	Sıcaklık (°C)	Süre(dak)	Döngü Sayısı
İlk denatürasyon	93	2	1
Denatürasyon	94	1	30
Primer Bağlanması	55	1.5	
Uzama	72	1	
Son Uzama	72	10	1
Bekleme	4	Süresiz	

DNA çoğaltımı sonucu elde edilen bakteri DNA'sının ve PCR ürünlerinin Agarose jel elektroforezine yönelik çalışmalar Sambrook ve ark, (1989)'a göre yapılmıştır. Bunun için 0.9g agarose 90ml 1XTAE (Ek 3) tamponuna konularak mikrodalga fırında eriyinceye kadar kaynatılmıştır. Yaklaşık 50°C'ye kadar soğutulan solüsyon, taraklar yerleştirilen jel tepsisine dökülmüştür. Agaroz jelin donmasından sonra jel tankı içerisine jeli örtünceye kadar 1XTBE buffer (Ek 3) konmuştur. Daha sonra örnek koymak için kullanılan tarak dikkatlice çekilerek çıkarılmıştır. Bu şekilde hazırlanan agaroz jel çukurlarına 3µl loading buffer (Ek 3) ve 12µl PCR ürünü karışımı bir mikropipet yardımı ile dikkatlice verilmiştir. Moleküler ağırlık işaretleyici (Marker) olarak 100bp ve 1kb DNA işaretleyici (Marker, Fermentos SM 0623) kullanılmıştır. Elektroforez tankında agaroz jeldeki örnek hücrelerin bulunduğu yer güç kaynağının negatif (-) kutbuna denk gelecek şekilde yerleştirilmiş ve PCR ürünleri 70V elektrik akımında yaklaşık 3 saat süre ile yürütülmüştür. Bantların görülmesi için ethidium bromür ile (10mg/ml) 10 dak. boyama yapılmış ve bunu takiben 15 dak. saf su ile jel yıkanarak transilminatörde bantlar incelenmiş ve fotoğraflanmıştır. Dreier ve ark (1995)'nın önerdiği primerler ile yapılan PCR çalışmasında 614 bp büyüklüğünde bant

oluşumu; Santos ve ark., (1997)'nin dizayn ettiği primerler kullanılarak yapılan PCR çalışmasında 645 bp büyüklüğündeki bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.7.3. *C. m. subsp. michiganensis* İzolatlarının Yağ Asit Profillerinin Belirlenmesi

Çalışmanın bu kısmı Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde (Erzurum) Prof. Dr. Fikrettin ŞAHİN danışmanlığında 5 bölge izolatu (3/1A Yayla, 31/1A, Tarsus 2, Çoruh nehri, Cmm 23 kodlu izolatlar) ve GSPB 382 kodlu referans izolat ile yapılmıştır. Bakteri hücresinden yağ asitleri izolasyonu aşağıda belirtildiği üzere Chase ve ark. (1992)'ye göre yapılmıştır. Türlerin tanısında Mikrobiyal Identifikasyon Sisteminin (MIS) bilgisayar paket programı kullanılıp (Sherlock MIS version 4.5 Microbial ID. Inc. Newark, Delaware) izolatların içerdiği yağ asit türleri ve % oranları karşılaştırılarak tanı yapılmıştır. SPSS istatistik programıyla izole edilen yağların aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Bu veriler karşılaştırılarak küme analizi yapılmış ve izolatlar arasındaki akrabalık dereceleri belirlenmiştir.

Bakteri Hücresindeki Yağ Asitlerin İzolasyonu: Tryticase soy agar (TSBA) besi yerine (Ek 4) 4 fazlı şekilde çizilen izolatlar 25 °C'de 24 saat geliştirilmiştir.

Geliştirilen bakterinin 3. ve 4. fazından toplanarak ağız teflon kapaklı steril cam tüplere konmuştur.

Hücreleri parçalamak için her bir test türüne 1ml çözelti 1'den (Ek 4) eklenmiştir.

Tüpler 10 saniye çalkalandıktan sonra 100°C'deki su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir.

Çıkartılan tüpler tekrar 10 saniye daha çalkalanmıştır. Daha sonra 100°C'deki su banyosunda 25 dakika bekletilmiştir. Bu işlemle bakteri hücreleri parçalanarak yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır.

Test tüplerine 2ml çözelti 2'den (Ek 4) eklenip 10 saniye çalkalandıktan sonra tüpler 80°C'deki su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir.

Bunu takiben tüpler -20°C'de 10 dakika tutulmuştur. Bu işlem ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenerek yağ asitlerinden yağ asit metil esteri elde edilmiştir. Bu durum yağ asitlerine yüksek sıcaklıkta buharlaşma özelliği kazandırmaktadır.

Soğutulmuş tüplere 2.5 ml çözelti 3 (Ek 4) eklenerek 5 dakika tüpler çalkalanmıştır. Bu aşamada tüplerin alt kısmında asidik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluşmuştur. Pastör pipet kullanılarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve organik faz toplanmıştır.

En son aşamada ise her tüpe 3ml çözelti 4 (Ek 4) ilave edilerek 5 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra tüpler 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti 4 bazik bir solüsyon olup serbest yağ metil esterlerinin daha fazla saf olarak elde edilmesini sağlar. Bu aşamadan sonra tüpler içerisinde yine iki farklı faz oluşmuştur.

Üst fazda toplanan yağ asit metil esterlerini içeren faz, pastör pipet ile alınarak 2ml'lik gaz kromatografisi tüplerine aktarılmış ve ağızları sıkıca kapatılmıştır.

Tüpler MIS cihazı (HP6890, Hewlettpackard, Palo Alto, CA) üzerindeki örnek depolama birimine yerleştirilmiş ve daha sonra Mikrobiyal Identifikasyon Sistemin (MIS) bilgisayar paket programı kullanılarak (Shelock MIS version 4.5 Microbial ID. Inc. Newark, Delaware) her izolat tanımlanmıştır.

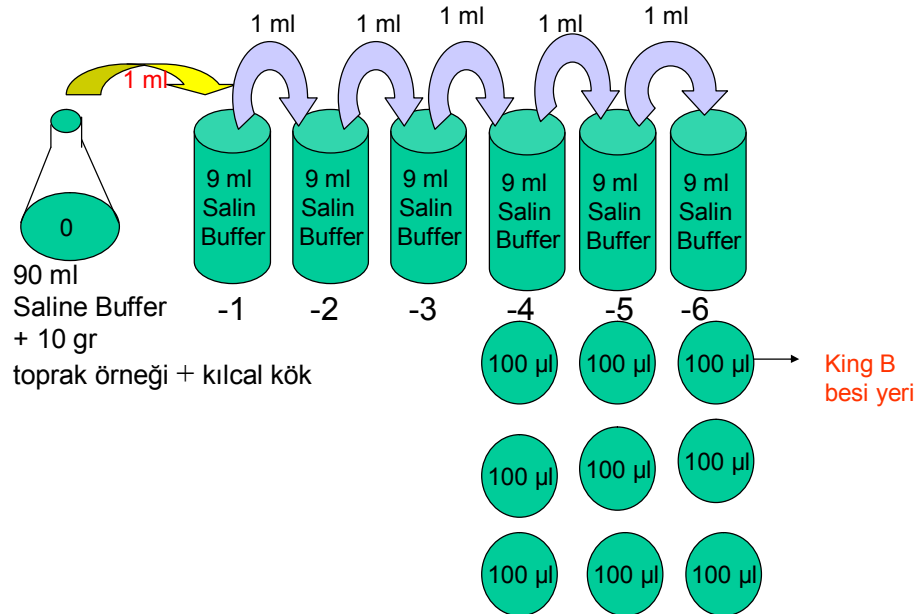
3.2.8. *C. m. subsp. michiganensis*'in Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar

3.2.8.1. Aday PGPR Bakterilerin İzolasyonu

PGPR'lerin izolasyonu için Adana, Mersin, Antalya, Muğla, Hatay ve Osmaniye illerinde domates üretim alanlarında diğer bitkilere göre daha iyi gelişim gösteren ve sağlıklı görünen domates bitkilerinin kök bölgesi toprağından kılcal kökleri de içerecek şekilde örnekler alınmıştır. Örnekleme yapılırken alınan örneklerin alanı temsil eder nitelikte olmasına özen gösterilmiştir. Toplanan

örnekler önce kese kağıdına, sonra plastik torbalara konularak buzluk içerisinde laboratuara getirilerek bunlardan bakteri izolasyonları yapılmıştır.

Toprak ve kök izolasyonu için toplanan toprak örnekleri laboratuvar koşullarında iyice kurutulmuş ve daha sonra hem yabancı maddeler topraktan uzaklaştırılması hem de üretim alanından alınan toprakların homojen olarak karıştırılması için 2 mm delik büyüklüğüne sahip toprak eleğinden geçirilmiştir. Elenmiş toprak örneklerinden 10 gr alınarak içerisinde 90 ml Nutrient broth (Ek 1) bulunan erlenlere konmuş ve oda sıcaklığında 100 dev./dak.'da çalışan çalkalayıcılarda iki saat çalkalanmıştır. Süspansiyondan 1 ml alınarak içerisinde 9 ml fizyolojik tuzlu su (%0.85) bulunan tüpe ilave edilmiş ve bu şekilde -6'ya kadar seyreltme serileri hazırlanmıştır. Hazırlanan sulandırma serilerinin -4, -5 ve -6 seyreltmelerden 100µl alınarak 3 tekrarlı olarak King B besiyeri (King ve ark, 1954) (King B) (Ek 1) ekimler yapılmıştır (Şekil 3.1). 25°C'de 48 saat inkübasyondan sonra petrillerdeki koloni gelişmeleri incelenerek farklı morfolojik gelişim gösteren kolonilerden saflaştırma yapılmıştır.



Şekil 3.1. Toprak ve kök örneklerinden aday PGPR izolatlarının eldesinin şematik görünümü

Saflaştırılan izolatların King B besi yerindeki koloni morfolojileri incelenmiştir. Elde edilen izolatların bir kısmına King B besi yerinde floresanlık, patatest pektolitik aktivite ve tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu testleri yapılmıştır. Diğer bir kısmının ise direkt fosfatı indirgeme ve azotu bağlama özelliklerine bakılmıştır. Saksı, viyol ve tarla çalışmalarında kullanılan aday PGPR izolatlarının LOPAT (L: Levan oluşumu; O: oksidaz testi, P: patatest pektolitik aktivite; A: Arginin dehidrolaz; T: Tütün’de aşırı duyarlılık reaksiyonu) özellikleri Lelliott ve Stead (1987)’ye göre belirlenmiştir. Elde edilen izolatlar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere 4°C’de YDC besi yerinde saklanmıştır.

3.2.8.2. Aday PGPR İzolatlarının Seçimi

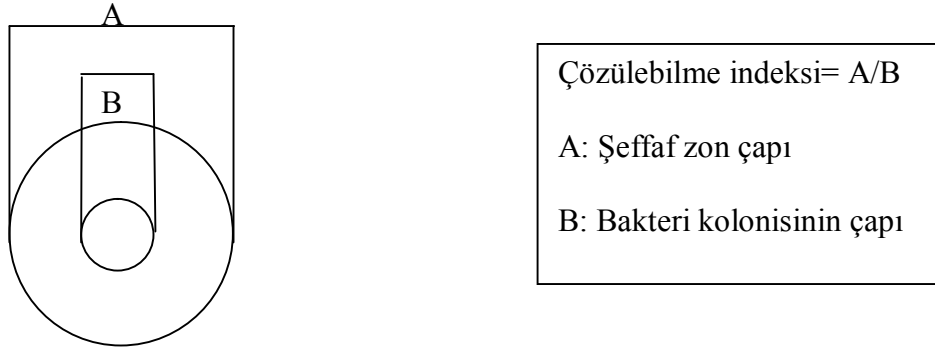
Topraktan elde edilen aday PGPR izolatları arasında seçim fosfatı indirgeme ve azotu bağlama özelliklerine göre yapılmıştır.

Fosfatı İndirgeme Özelliğine Göre Aday PGPR İzolatlarının Seçimi

Topraktan izole edilen bakterilerin fosforu (P) çözme yeteneklerini belirlemek için iki yöntem kullanılmıştır. Birinci yöntemde topraktan izole edilen aday izolatlar tüplerde hazırlanan sıvı NBRIP-BPB (National Botanical Research Institute’s phosphate growth medium) (Nautiyal ve ark., 1999) (Ek 5) besi yerine üç tekerrürlü olarak aşılanmıştır. Yedi gün 25°C’de çalkalayıcıda 80 devir/dakika çalkalanarak inkübe edilmiştir. Spektrofotometre’de 400 nm absorbans değerleri ölçülerek kaydedilmiştir. Başlangıçta koyu mavi renk olan sıvı besi yerinde, inkübasyon sonunda renk açılmasına neden olan ve absorbans değeri en küçük olan izolatlar aday PGPR olarak belirlenmiştir. Ayrıca bu izolatların patatest pektolitik aktivite ve tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonları testlenmiştir.

Aday PGPR izolatlarının seçiminde kullanılan ikinci yöntemde ise topraktan saf olarak izole edilen bakteriler steril kürdan yardımı ile katı NBRIP besi yeri içeren petrilere, her bir petride 9 izolat olacak şekilde ekilmiştir. Deneme 3 tekrarlı olarak kurulmuştur. Bir hafta sonra besi yerinde bakteri kolonisinin etrafındaki şeffaf zonun çapı ve bakteri kolonisinin çapı ölçülüp çıkan değerler

birbirine oranlanarak fosfor çözme indeksi belirlenmiştir (Şekil 3.2). Fosfor çözme indeksi yüksek olan bakteriler seçilmiştir (Johri ve ark., 1999).



Şekil 3.2. Çözülebilir fosfat indeksinin hesaplanması

Bu izolatlardan fosfor çözme indeksi en yüksek olan ve azot bağlama özelliğine sahip olan 30 izolat seçilerek bunların sıvı NBRIP (Nautiyal ve ark., 2000) (Ek 5) besi yerinde çözebildiği fosfor miktarları Barton (1948) yöntemine göre belirlenmiştir. Çalışmanın bu kısmı Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü laboratuvarında Yrd. Doç. Dr. Selim EKER danışmanlığında yapılmıştır. Bu yöntemde izlenen prosedür aşağıda verilmiştir.

Seçilen 30 adet aday PGPR izolatı sıvı NBRIP besi yerine aşılansak bir hafta 200 dev./dak. dönen çalkalayıcıda $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de geliştirilmiştir (Nautiyal ve ark., 2000). Daha sonra bakterileri ve suda çözülmeyen katı maddeleri ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) çöktürmek için 10.000 dev./dak.'da 10 dakika santrifüj yapılmış ve süpernatant elde edilmiştir. Süpernatanttan 1 ml alınarak yeni tüplere aktarılmıştır. İçinde 1 ml süpernatant bulunan tüplere 5 ml saf su eklenmiştir. Oluşan yeni çözelti üzerine 1 ml Barton çözeltisi (Ek 5) ilave edildikten sonra 30 dak. karanlık ortamda inkübe edilmiştir. Fosfor eriyiği ile farklı ppm dozlarında (0, 25, 50, 100 ppm) dört standart çözelti (Ek 5) hazırlanmıştır. İlk önce bu dört standart çözelti 430 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür. Daha sonra yarım saat karanlık ortamda inkübe edilen çözeltilerin ne kadar fosfor çözdükleri 430 nm'de spektrofotometrede ppm düzeyinde belirlenmiştir. Çıkan sonuçlar dört standart çözelti değerleri baz alınarak yorumlanmıştır.

Azotu Bağlama Yeteneğine Göre Aday PGPR İzolatlarının Seçimi

Topraktan elde edilen bakteri izolatlarının azotu bağlama yeteneklerinin belirlenmesi amacı ile azot içermeyen Jensen's besi yeri hazırlanmıştır (Ahmad ve ark., 2005). İzolatlarımız üç tekerrürlü olarak bu besi yerine çizgi ekim yapılmıştır. Azot içermeyen besi yerinde gelişim gösteren izolatlar aday PGPR izolatlar olarak değerlendirilmiştir.

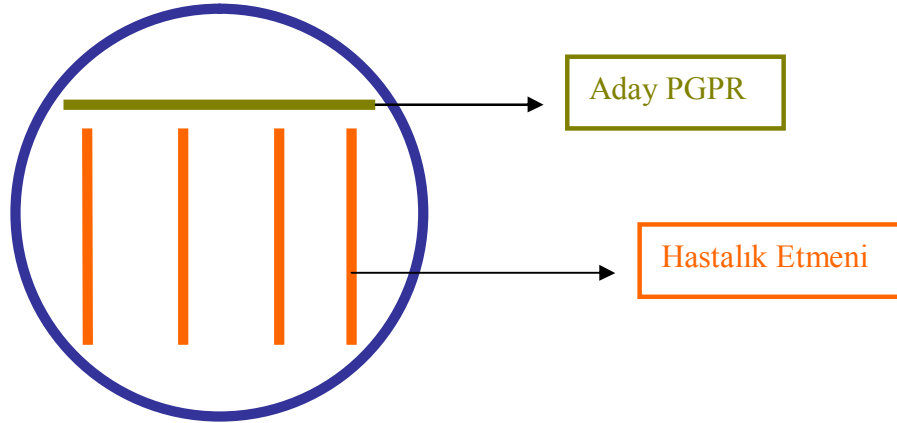
Elde edilen sonuçlara göre sıvı NBRIP besi yerinde en fazla fosfor çözen 7 izolat ve Jensen's besi yerinde gelişim gösteren 1 izolat seçilerek toplam 8 izolat saksı çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2.8.3. Seçilen Aday PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etkilerinin Belirlenmesi

Saksı çalışmalarında kullanılmak üzere seçilen 8 adet aday PGPR izolatının *Cmm*'e karşı antagonistik etkileri Krishnamurthy ve Gnanamarickam (1998) göre ve siderefor etkisi ise Kloepper ve ark., (1980) ile Bora ve Özaktan (1998)'a göre testlenmiştir.

King B besi yerine aday PGPR izolatları petrinin üst kısmına düz çizgi şeklinde ekim yapılmış ve 25°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonra aday PGPR'ye dik olacak şekilde dört farklı noktadan *Cmm* ekimi yapılmış ve petriler 25°C'de inkübe edilmiştir (Şekil 3.3). Üç tekrarlı olarak yürütülen bu çalışmada, inkübasyondan 96 saat sonra aday PGPR izolatlarının *Cmm* gelişimine olan etkileri engelleme zonları ölçülerek değerlendirilmiştir.

PGPR izolatlarının siderefor etkisinin belirlenmesinde yukarıda anlatılan antibiyosis etkisini belirleme yöntemi temel alınmıştır. Ancak burada aynı besi yeri içerisine 80 µM FeCl₃ ilave edilmiştir.



Şekil 3.3. Aday PGPR izolatlarının ve hastalık etmeninin petri kabındaki ekim deseni

3.2.8.4. Çalışmada Kullanılacak Patojen Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Bitkide tipik hastalık belirtileri oluşturabilecek en düşük inokulum yoğunluğunu (ml'deki hücre sayısı) belirlenmek amacı ile kalibrasyon çalışması yapılmıştır. *Cmm*'in (3/1A re izolatının)'nin 48 saatlik kültüründen hazırlanan süspansiyon spektrofotometrede 600 nm'de 0.2 değerine ayarlanmıştır. Bu süspansiyondan 1ml alınarak içerisinde 9 ml steril su bulunan tüplere 6 kez (1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000, 1/100000, 1/1000000) seyreltilmiştir. Her bir seyreltmeden 100µl alınarak 3 tekrarlı olarak King B besi yerine ekimler yapılmıştır. Her seyreltme için üç adet petri kullanılmıştır. Petriler 25°C'de 48-72 saat inkübe edildikten sonra koloni sayıları not edilmiştir. Ayrıca her bir seyreltmeden 100 µl alınıp steril bir enjektör ile 2 tekrarlı olarak domates fidelerine enjekte edilmiştir. Daha önce özellikleri belirtilen iklim odasında muhafaza edilen bitkilerde 1.5 ay sonra domates fideleri kesilerek iletim demetlerinde hastalık belirtileri var/yok şeklinde değerlendirme yapılmıştır. Hastalık belirtisinin görüldüğü en düşük bakteri konsantrasyonu ileriki çalışmalarda kullanılmıştır.

3.2.8.5. Aday PGPR'ların Domates'te Bakteriyel Solgunluk Hastalığının Gelişimi Üzerine Etkisi

Fosfatı indirgeme yeteneğine sahip 7 izolat ve azot bağlama yeteneğine sahip 1 izolat kullanılarak toplam 8 izolat ile saksı çalışması gerçekleştirilmiştir. Saksı çalışmasının tarla denemelerinin bir ön çalışması olduğu düşünülerek daha az sayıda izolat ve kombinasyonlarının denemesi yerine bu aşamada mümkün olduğunca çok aday PGPR izolatı ile çalışmalar yürütülmüştür. Tarla denemelerinde, saksı çalışmasında en iyi sonucu veren iki izolat ve kombinasyonu, tohum denemelerinde ise saksı çalışmasında en iyi sonucu veren üç izolat ve kombinasyonları kullanılmıştır.

Saksı Çalışması: Fosfatı indirgeme özelliğine sahip 7 aday PGPR (Y1.6.7, N6.6.21, Y6.4, Y9.4.9, R3.3.6, E3.5.2, R6.3.1) izolatının ve azot bağlama özelliğine sahip 1 aday PGPR izolatının (R2.1) *Cmm*'in neden olduğu domates bakteriyel solgunluk hastalığı üzerine etkisi saksı çalışması ile araştırılmıştır. Çalışmada Netta çeşidi domates fideleri, pozitif kontrol olarak *Cmm* 3/1A kodlu *Cmm*'in bölge izolatı (1.1×10^7 hücre/ml), negatif kontrol olarak ise steril su kullanılmıştır. Karşılaştırma olarak ise bitki büyümesini artıran ISR 2000 (*Lactobacillus acidophilus* + maya ekstraktı + bitki ekstraktı + benzoik asit) (Improcrop Firması) adlı bir bitki aktivatörü kullanılmıştır.

King B besi yerinde $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat geliştirilmiş olan aday PGPR izolatlarının yoğunluğu steril su ile spektrofotometre kullanılarak 600 nm dalga boyunda 0.3 absorbans değerine ayarlanmıştır. Hazırlanan uygulama süspansiyonları içerisine domates fidelerinin kökleri 15 dakika batırılmıştır. Köklere bakteri kolonizasyonu sağlandıktan sonra uygulama görmüş bitkiler fosforca fakir özelliğe sahip (%2.7 Kireç, 3.75 kg/da Fosfor, pH 7.54) saksı toprağına şaşırtılmıştır. Bir hafta sonra PGPR uygulaması görmüş bitkilerin gövdesine steril bir enjektör yardımıyla patojen bakteri süspansiyonundan 100µl inokule edilmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 6 tekrarlı olarak 2 kez kurulmuştur. İlki Çukurova Üniversitesi (Ç. Ü.) Bitki Koruma Bölümü iklim odasında ikincisi ise Ç. Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli

seralarında Mart- Mayıs 2006 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Haftada 3 kez bitkilere su verilmiştir. Pozitif kontrollerde hastalık belirtileri oluşuncaya kadar bitkiler günlük olarak incelenmiştir.

Pozitif kontrol bitkilerinde hastalık belirtileri gözlemlendikten sonra tüm bitkiler boyuna kesilerek gövdedeki enfeksiyon iletim demetlerindeki lezyon boyu ölçülerek değerlendirilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklar ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ($p \leq 0.05$) ile karşılaştırılmış ve uygulamaların etkinliği % Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

Vişol Çalışması: Domates tohumlarında *Cmm* inokulumunun aday PGPR izolatları tarafından engelleme yeteneğinin belirlenmesi için tohumlar %1'lik NaCl'de 3 dakika dezenfekte edilmiştir. Çalışmada üç aday PGPR izolatı (Y1.6.7, N6.6.21 ve Y6.4), bunların kombinasyonları (Y1.6.7+ N6.6.21, Y1.6.7+Y6.4, N6.6.21+Y6.4 ve Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4) ile ISR 2000 kullanılmıştır. King B besi yerinde $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat geliştirilmiş olan aday PGPR izolatlarının yoğunluğu steril su ile spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.3 absorbans değerine ayarlanmıştır. Hazırlanan PGPR süspansiyonu içerisine domates tohumları 15 dakika daldırılarak vakumla izolatların tohum yüzeyine kolonize olmaları sağlanmıştır. Uygulamadan bir hafta sonra *Cmm*'in 24-48 saatlik kültürlerinden 1.1×10^7 hücre/ml konsantrasyonunda hazırlanan süspansiyon ile tohumlar inokule edilmiştir. Pozitif kontrol olarak sadece patojen ile bulaşık tohumlar, negatif kontrol olarak ise sadece suyla muamele görmüş tohumlar kullanılmıştır. Uygulama görmüş tohumlar torf içeren vişollere ekilmiştir (Krishnamurthy ve Gnanamanickam, 1998). Çalışma iki kez tekrarlanmış ve her bir uygulama için 100 adet tohum kullanılmıştır. Gerçek yapraklar çıkıncaya kadar vişoller nem çemberi içerisinde tutulmuş ve pozitif kontrollerde hastalık belirtileri gözleninceye kadar bitkiler günlük olarak incelenmiştir. Aday PGPR izolatlarının hastalık gelişimine etkisi, bitkilerin iletim demetlerinde lezyon boyu ölçülerek değerlendirilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklar ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ($p \leq 0.05$) ile karşılaştırılmış ve uygulamaların etkinliği % Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

Tarla Çalışması: Tarla denemeleri Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama Parselinde 2006-2007 yıllarının Mayıs- Eylül aylarında kurulmuştur. Saksı denemesinde en iyi sonuç veren Y1.6.7 ve N6.6.21 kodlu iki izolat tarla koşullarında denenmiştir. Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekrarlı ve her tekrarda 10 bitki olacak şekilde planlanmıştır. Netta çeşidi domates fideleri kullanılmıştır. Fideler ticari bir fidelikten alınmış ve çalışmada kullanılan fidelerin gelişim düzeylerinin homojen olmasına dikkat edilmiştir. Viyoller içerisinde deneme alanına getirilen fideler 15 dakika yoğunluğu spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.3 absorbans değerine ayarlanmış aday PGPR süspansiyonlarına daldırılmıştır. ISR 2000 ise firma tarafından önerilen dozda kullanılmıştır Uygulamadan bir hafta sonra fidelerin gövdesine 1.1×10^7 hücre/ml yoğunluğundaki patojen süspansiyonundan 100µl inokule edilmiştir. PGPR uygulaması yapmadan steril suya daldırılan fidelere patojen inokulasyonu yapılarak pozitif kontrol parseli olarak değerlendirilmiştir. Negatif kontrol olarak ise sadece steril suya daldırılan bitkiler kullanılmıştır. İnokulasyondan sonra bitkiler günlük olarak incelenmiş ve pozitif kontrol parselindeki bitkilerde hastalık belirtileri gözlenince iletim demetlerindeki renklenme ölçülerek değerlendirme yapılmıştır. Uygulamalar arasındaki farklar ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ($p \leq 0.05$) ile karşılaştırılmış ve uygulamaların etkinliği % Abbot formülüne göre hesaplanmıştır.

3.2.8.6. Aday PGPR'ların Enfekteli Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi

Çalışmanın bu kısmı 3.2.8.5'de ayrıntılı olarak anlatılan deneme içerisinde yürütülmüştür. Bu nedenle denemenin kurulum aşaması tekrar detaylı olarak anlatılmamıştır.

Saksı ve viyol denemelerinde aday PGPR izolatlarının enfekteli domates bitkilerinde, bitki büyümesine olan etkilerini saptamak amacı ile kontrol parselindeki bitkiler ile uygulama yapılan bitkilerin bitki boyları, gövde çapları, dal sayıları, bitki yaş ağırlıkları ve bitki kuru ağırlıkları ölçülerek

değerlendirilmiştir. Kuru ağırlıkların alınması için bitkiler kese kağıtları içerisinde konmuş ve 80°C'deki etüvde bir gece kurutulmuştur (Nejad ve Johnson, 2000). Tarla çalışmalarında ise uygulamaların bitki boyuna, gövde çapına, dal sayısına, bitki yaş ağırlığına, bitki kuru ağırlığına, kök boyuna ve domates verimine olan etkisi değerlendirilmiştir.

Uygulamalar arasındaki farklar ANOVA ve Duncan çoklu karşılaştırma testi ($p \leq 0.05$) ile karşılaştırılmış, uygulamaların etkinliği % Abbot formülüne göre hesaplanmıştır, Towsend ve Heuberger formülü kullanılarak % artış belirlenmiştir (Karman, 1971).

3.2.8.7. Aday PGPR'lerin Sağlıklı Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi

3.2.8.5'de bildirilen fosfatı indirgeme yeteneğine sahip 7 (E3.5.2, Y6.4, Y1.6.7, R6.3.1, Y9.4.9, R3.3.6, N6.6.21) izolat ve azot bağlama yeteneğine sahip 1 (R2.1) izolat kullanılarak toplam 8 izolat ile saksı çalışması yürütülmüştür. Tarla denemelerinde saksı çalışmasında en iyi sonucu veren iki izolat ve kombinasyonları, tohum denemelerinde ise saksı çalışmasında en iyi sonucu veren üç izolat ve kombinasyonları kullanılmıştır.

Saksı Çalışması: Deneme 2006 yılı Mart-Mayıs aylarında 3.2.85.'de belirtilen koşullarda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Netta çeşidi domates fideleri kullanılmıştır. Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre 6 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur. Her tekrarda bir bitki olacak şekilde planlanmıştır. Çalışmada 8 aday PGPR izolatı, ISR 2000 ve negatif kontrol olmak üzere toplam 10 uygulama yapılmıştır. Aday PGPR izolatlarının 24-36 saatlik kültüründen hazırlanan süspansiyonlar spektrofotometre'de 600 nm'de 0.3'e ayarlanmıştır. 15 dakika uygulamalara daldırılan fideler fosforca fakir toprak içeren saksılara aktarılmıştır. Kontrol olarak ise steril su kullanılmıştır.

Viyol Çalışması: Torf içeren viyollere ikişer adet domates tohumu ekilmiştir. Her viyol çukurundan farklı gelişim düzeyi gösteren fideler sökülüş,

homogen boy uzunluğu gösteren fideler denemeye dahil edilmiştir. Çalışmada üç aday PGPR izolatı ve bunların kombinasyonları, ISR 2000 kullanılmıştır. 24-36 saatlik aday PGPR izolatlarından hazırlanan süspansiyonlar spektrofotometre’de 600 nm’de 0.3’e ayarlanmış ve fidelerin yapraklarına püskürtülmüştür. Uygulama, haftada bir aynı gün ve saate olmak üzere 10 hafta süre ile tekrarlanmıştır. Kontrol olarak kullanılan bitkilere ise steril su püskürülmüştür. Çalışma iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Her bir uygulamada 100 adet fide kullanılmıştır Uygulamaların bir birini etkilemesi önlemek için püskürtme işlemleri iklim odalarının dışında gerçekleştirilmiştir.

Tarla alışması: Tarla denemeleri Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama Parselinde 2006 -2007 yıllarının Mayıs- Eylül aylarında kurulmuştur. Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekrarlı ve her tekrarda 10 bitki olacak şekilde planlanmıştır. Netta eşidi domates fideleri kullanılmıştır. Fidler ticari bir fidelikten alınmış ve çalışmada kullanılan fidelerin gelişim düzeylerinin homogen olmasına dikkat edilmiştir. Viyoller içerisinde deneme alanına getirilen fideler 15 dakika yoğunluğu spektrofotometre’de 600 nm dalga boyunda 0.3 absorbans değerine ayarlanmış aday PGPR süspansiyonlarına daldırılmıştır. ISR 2000 ise firma tarafından önerilen dozda kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak ise sadece steril suya daldırılan bitkiler kullanılmıştır.

Saksı ve viyol denemelerinde aday PGPR izolatlarının bitki büyümesine olan etkilerini saptamak amacı ile kontrol parselindeki bitkiler ile uygulama yapılan bitkilerin bitki boyları, gövde çapları, dal sayıları, bitki yaş ağırlıkları ve bitki kuru ağırlıkları ölçülerek değerlendirilmiştir. Kuru ağırlıkların alınması için bitkiler kese kağıtları içerisinde konmuş ve 80°C’deki etüvde bir gece kurutulmuştur (Nejad ve Johnson, 2000). Tarla çalışmalarında ise uygulamaların bitki boyuna, gövde çapına, dal sayısına, bitki yaş ağırlığına, bitki kuru ağırlığına, kök boyuna ve domates verimine olan etkisi değerlendirilmiştir.

Uygulamalar arasındaki farklar ANOVA ve Duncan oklu karşılaştırma testi ($p \leq 0.05$) ile karşılaştırılmış, uygulamaların etkinliği % Abbot formülüne göre

hesaplanmıştır, Towsend ve Heuberger formülü kullanılarak % artış belirlenmiştir (Karman, 1971).

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Hasta Domates Bitkilerinin Toplanması

Mersin (Erdemli, Tarsus, Bozyazı) ve Adana (Merkez, Tuzla) illerinde arazi sörveyleri sonucu de domates yetiştiriciliği yapılan tarla ve seralardan (Şekil 4.1), yan dallarda tek taraflı solgunluk yanıklık (Şekil 4.2), gövde üzerinde kahverengi –beyaz renkli siğiller (Şekil 4.3), iletim demetlerinde kahverengilik (Şekil 4.4), ilerleyen dönemlerde tüm özün kahverengileşmesi, yapraklarda sararma nekrotik alanlar ve içe doğru kıvrılma (Şekil 4.5) belirtilen bitki örnekleri toplanmıştır. Antalya (Gazipaşa, Kaş, Koyunlar), Bursa (Yenişehir, Karacabey, Kemalpaşa), Artvin ve İzmir (Dikili) illerinden ise üreticiler tarafından gönderilen örneklerden izolasyonlar yapılmıştır.



Şekil 4.1. Domates üretimi yapılan bir tarlanın genel görünümü



şekil 4.2. Domateslerde yan dallarda tek taraflı solgunluk yanıklık



şekil 4.3. Domateslerde gövde üzerinde kahverengi –beyaz renkli siğiller



şekil 4.4. Domates bitkilerinde iletim demetlerinde kahverengilik ve tek taraflı solgunluk



Şekil 4.5. İlerleyen dönemde domates bitkilerinde tüm özün kahverengileşmesi, yapraklarda sararma nekrotik alanlar ve içe doğru kıvrılma

Sörvey yapılan üretim alanlarında simptomolojik olarak yapılan gözlemler ve üreticiler ile yapılan görüşmelere dayanarak bakteriyel solgunluk hastalığının ilk kez görüldüğü yıllarda %15-25 arasında değişen oranlarda yaygınlık gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle bir önceki üretim sezonunda hastalık saptanmış ise yaygınlık oranının %70-80'lere vardığı saptanmıştır (Şekil 4.6).

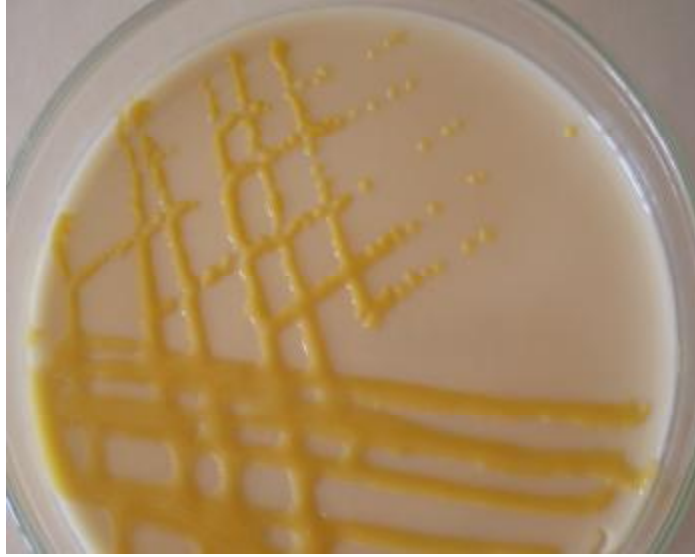


Şekil 4.6. *Cmm*'in domates üretim alanındaki yaygınlığı

4.2. Domateste Bakteriyel Solgunluk Etmeninin İzolasyonu

Cmm ile enfekteli olduğu tespit edilmiş bitki örneklerinin dal ve gövdelerinden yapılan izolasyonlarda 2-3 gün içinde YDC besi yerinde sarı (Şekil 4.7) ve King B besi yerinde sarı (Şekil 4.8) renkte dominant koloniler gelişmiştir. Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi Mersin ilinden 32 adet, Adana ilinden 9 adet, Antalya ilinden 3 adet, Artvin ilinden 2 adet, İzmir ilinden 6 adet ve Bursa ilinden

ise 5 adet olmak üzere toplam 57 adet izolat saflaştırılarak bu tez çalışmasında kullanılmıştır. Bu izolatlardan Cmm 23 kodlu izolat Dr. Sabiha Tokgönöl'den temin edilmiştir.



şekil 4.7. YDC besi yerinde gelişen sarı renkte koloniler



şekil 4.8. King B besi yerinde gelişen sarı renkte koloniler

Çizelge 4.1. Domates bitkilerinden elde edilen izolatlar ve izole edildikleri yerler

Sıra No	İzolatların Kod Adları	İzole Edildiği Yerler
	GSPB 382	Göttingen/Almanya
1	1/2C-Yayla	Tapureli köyü / Mersin
2	1/4C Yayla	Tapureli köyü / Mersin
3	1/5A Yayla	Tapureli köyü / Mersin
4	1/5B Yayla	Tapureli köyü / Mersin
5	2/1A Yayla	Tapureli köyü / Mersin
6	2/1B Yayla	Tapureli köyü / Mersin
7	3/1A Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
8	3/1B Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
9	3/2A Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
10	3/2B Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
11	3/3A Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
12	3/3B Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
13	4/1A Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
14	4/1B Yayla	Şahmurdu köyü / Mersin
15	5/1B Yayla	Albeyli mevkii/Mersin
16	5/2B Yayla	Albeyli mevkii / Mersin
17	6/1A Yayla	Canboğazlı köyü/Mersin
18	7/1A Yayla	Tekeralan mevkii Mersin
19	7/1B Yayla	Tekeralan mevkii/Mersin
20	8/1A Yayla	Şahmurdu köyü /Mersin
21	8/1B Yayla	Şahmurdu köyü /Mersin
22	9/1A Yayla	Canboğazlı köyü /Mersin
23	10/1A Yayla	Tekerli mevkii/Mersin
24	10/1B Yayla	Tekerli mevkii/ Mersin
25	Şahmurdu köyü 1	Şahmurdu köyü /Mersin
26	Şahmurdu köyü 2	Şahmurdu köyü /Mersin
27	Şahmurdu köyü 3	Şahmurdu köyü /Mersin
28	DT1a	Bozyazı/Mersin
29	DT1b	Bozyazı/Mersin
30	Cıcık 8b	Cıcık / Mersin
31	Cıcık 1	Cıcık / Mersin
32	Tarsus 1	Tarsus /Mersin
33	Tarsus 2	Tarsus /Mersin
34	Mucla	Merkez /Adana
35	Muclc	Merkez /Adana
36	Tuzla 1	Tuzla / Adana
37	Tuzla 2	Tuzla / Adana
38	Tuzla çeri1	Tuzla / Adana
39	Tuzla çeri2	Tuzla / Adana
40	Tuzla çeri3	Tuzla / Adana
41	Tuzla çeri4	Tuzla / Adana
42	Dikili1	Dikili/İzmir
43	Dikili2	Dikili/İzmir
44	Dikili3	Dikili/İzmir
45	Dikili4	Dikili/İzmir
46	Dikili5	Dikili/İzmir
47	Dikili6	Dikili/İzmir
48	Çoruh nehri 1	Artvin
49	Çoruh nehri 2	Artvin
50	11/1b1	Gazipaşa / Antalya
51	15/4a1	Kaş / Antalya
52	CMM 23	Koyunlar / Antalya
53	24-2A	Yenişehir / Bursa

Çizelge 4.1.'in devamı

54	25 M. A	Yenişehir / Bursa
55	31-A 9985	Karacabey / Bursa
56	33-A	Kemalpaşa / Bursa
57	34-1A	Karacabey / Bursa

4.3. Patojenite Testi

Elde edilen 55 adet bölge izolatu ve referans kültür ile yapılan patojenite testlerinde tüm izolatlar inokulasyondan sonraki 8-10 gün içinde domates fidelerinde inokulasyon bölgesinde kahverengilikler, yapraklarda ve dallarda solgunluk (Şekil 4.9), iletim demetlerinde ve özde kahverengileşme oluşturmuştur (4.10). Negatif kontrol olarak saf su ile inokule edilen fidelerde herhangi bir hastalık symptomu gözlenmemiştir. Tipik hastalık symptomu gösteren bitkilerden yapılan re-izolasyonlar sonucu 55 re-izolat tekrar elde edilmiştir.



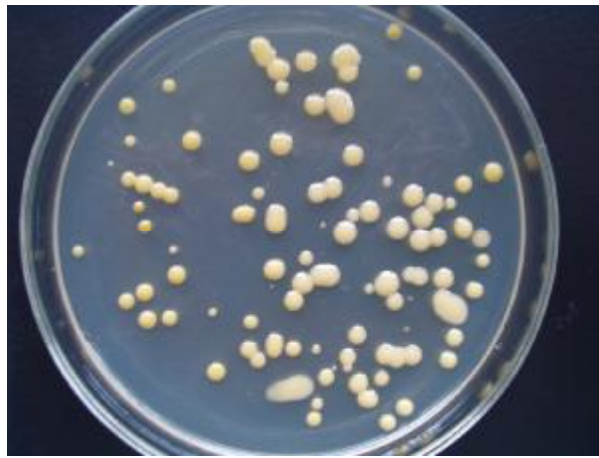
Şekil 4.9. Domates bitkilerinde yapılan patojenite çalışmaları sonucunda inokulasyon bölgesinde kahverengilikler, yapraklarda ve dallarda solgunluk



Şekil 4.10. Domates bitkilerinde yapılan patojenite çalışmaları sonucunda iletim demetlerinde ve özde oluşan kahverengileşme

4.4. Patojenin Populasyonunun Belirlenmesi

Patojenite çalışmalarında yüksek virülenslik gösteren bir bölge izolatu ile yapılan kalibrasyon çalışmalarında 3/1A kodlu *Cmm* izolatu kullanılmıştır. Spektrofotometre’de 600: 0.2’ye ayarlanan izolat besi yerine yayıldıktan 72 saat sonra sayım yapılmıştır. 3 tekerrürlü olarak yapılan seyreltmeler sonucunda -4 seyreltmesinde ortalama 918 koloni, -5 seyreltmesinde ortalama 109 koloni, -6 seyreltmesinde ortalama 9 koloni geliştiği saptanmıştır (Şekil 4.11). Yapılan hesaplama sonucunda 600nm’de 0.2’ye ayarlanan bakteri süspansiyonun yoğunluğu 1.1×10^8 hücre/ml yoğunlukta olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.11. *Cmm* izolatının -5 seyreltmesinde koloni gelişimi

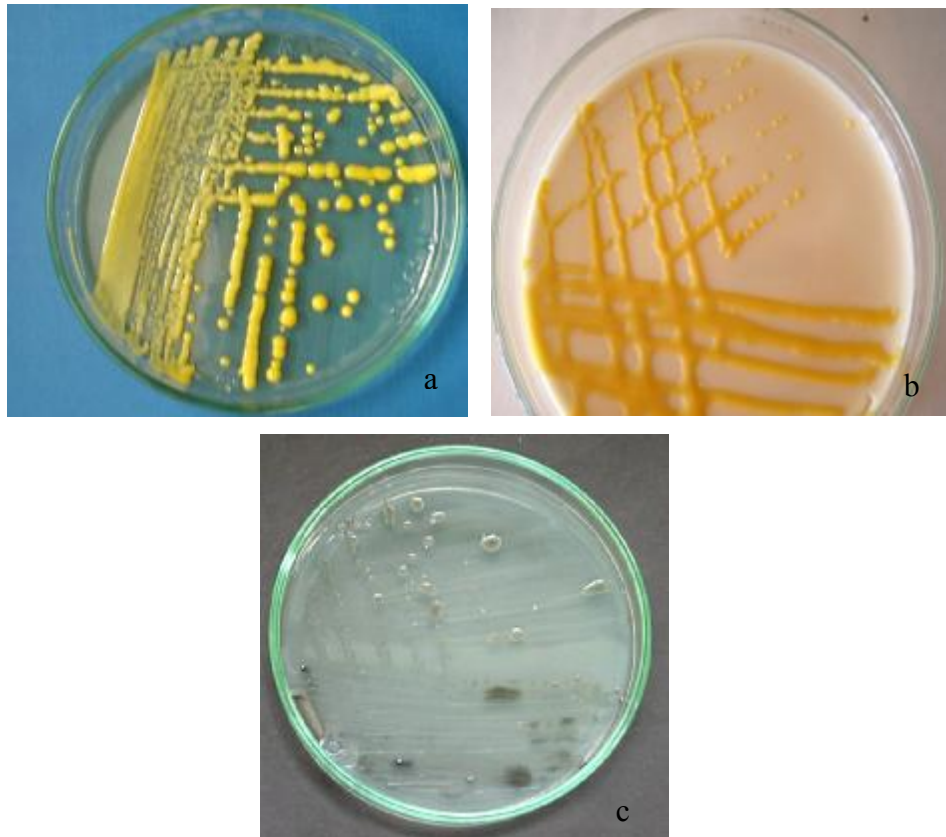
4.5. *C. m. subsp. michiganensis*'in Geleneksel Tanı Testleri

4.5.1. Koloni Gelişimi

Nutrient Agar (NA) Besi Yerinde Gelişim: Domates re-izolatları ve referans kültür NA besiyerinde tipik parlak sarı etrafı düz koloni gelişimi göstermişlerdir (Şekil 4.12a, Çizelge 4.2).

YDC Agar Besi Yerinde Gelişim: Domates re-izolatları ve referans kültür YDC besiyerinde koyu sarı, etrafı düz koloniler oluşturmuştur (Şekil 4.12b, Çizelge 4.2).

SCM Besi Yerinde Gelişim: Domates re-izolatları ve referans kültür SCM besiyerinde gelişen koyu gri etrafı açık renk haleli koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.12c, Çizelge 4.2).



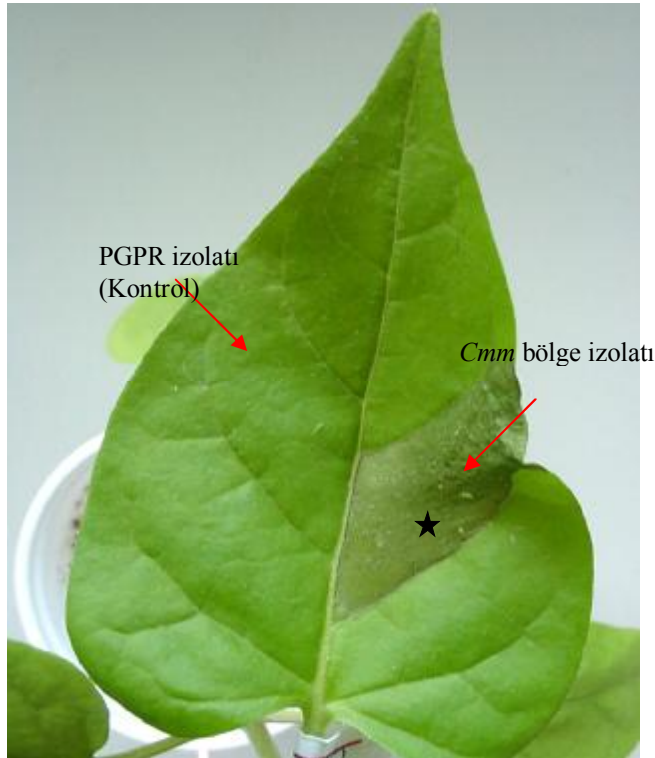
Şekil 4.12. *Cmm* izolatının (a) NA besiyerinde, (b) YDC Agar besiyerinde, (c) SCM agar besiyerinde koloni gelişimleri

4.5.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

Cmm re-izolatları ve referans kültür test sonucunda özeye yapışarak sümüksü bir yapı oluşturmadığından gram pozitif olarak kabul edilmiştir (Çizelge 4.2). Karşılaştırma kültürü olarak kullanılan *Pseudomonas cichorii* (GSPB 2297) kültürü özeye yapışarak sümüksü bir yapı oluşturduğundan gram negatif olarak değerlendirilmiştir.

4.5.3. Akşamsafası (*Mirabilis jalapa*) Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu

Domates bakteriyel solgunluk izolatları ve pozitif kontrol (GSPB 382)'den hazırlanan süspansiyonlar Akşamsafası (*Mirabilis jalapa*) bitkisinin yaprak damar araları enjekte edilmiştir. 48 saat'lik inkübasyon periyodundan sonra inokule edilen Akşamsafası bitkilerinin yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşmuş ve pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.13, Çizelge 4.2). Negatif kontrol olarak kullanılan steril distile su uygulamasında ise herhangi bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 4.13. Akşamsafası bitkisinde inokulasyon noktasında (*) aşırı duyarlılık reaksiyonu

4.5.4. Domates Kotiledon Testi

Domates bakteriyel solgunluk izolatları ve pozitif kontrol (GSPB 382) dört günlük domates fidelerinin tam gelişmiş kotiledon yapraklarında beyazımsı siğil benzeri yapılar oluşturarak pozitif olarak değerlendirilmişlerdir (Şekil 4.14., Çizelge 4.2). Negatif kontrol olarak kullanılan steril distile su uygulamasında ise herhangi bir değişim gözlenmemiştir.



Şekil 4.14. Domates kotiledon testi sonucunda oluşan beyaz siğilimsi yapılar

Sonuçlar toplu halde Çizelge 4.2.'de görülmektedir.

Çizelge 4.2. *Cmm* izolatlarını tanılama test sonuçları

Testler	Domates İzolatları (57 Adet)	Referans İzolat (GSPB 382)
Gram reaksiyon	+	+
Oksidaz testi	-	-
YDC Agar besi yerinde koloni morfolojisi	Koyu sarı, etrafı düz koloniler	Koyu sarı, etrafı düz koloniler
NA besi yerinde koloni morfolojisi	Parlak sarı etrafı düz koloni	Parlak sarı etrafı düz koloni
SCM besi yerinde koloni morfolojisi	Koyu gri etrafı açık renk haleli koloniler	Koyu gri etrafı açık renk haleli koloniler
Akşamsafası Bitkisinde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu	+	+
Domates Kotiledon Testi	+	+
Patojenite	+	+

4.5.5. *C. m* subsp. *michiganensis* İzolatlarının Bakır'a Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi

Nutrient Agar besi yerine çizilen *Cmm* re-izolatları ve referans kültürleri 25-26°C'de 7-14 gün inkübe edildikten sonra besi yeri üzerindeki gelişimleri değerlendirilmiştir. Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi izolatların tümü (%100) 30 ppm dozunda bakır sülfata dayanıklılık gösterirken iki izolat (%12.5) 100 ppm, beş izolat (%31.3) ise 200 ppm dozunda bakır sülfata duyarlılık göstermiştir. İzolatların hiçbirisi 300 ppm dozunda bakır sülfat içeren NA besi yerinde gelişim göstermemiş ve duyarlı olarak saptanmıştır. GSPB 382 kodlu orijinal izolatımız ise hiçbir uygulamada gelişmeyerek bakır ve iline duyarlı olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.3. *Cmm* izolatlarının bakır sülfat'a karşı dayanıklılıkları

İzolat Adı	Bakır Sülfat (ppm)			
	30	100	200	300
Cıcık 1	+	+	+	-
Cıcık 8b	+	+	+	-
1/2C Erd. Yay.	+	+	+	-
4/1A Erd.Yay.	+	+	+	-
6/1A Erd.Yay.	+	+	-	-
7/1A Erd.Yay.	+	+	-	-
10/1B Erd.Yay.	+	+	+	-
Ektar 1	+	-	-	-
31-9985 A Cmm	+	+	+	-
33-A (TT111)	+	+	+	-
24-2A	+	+	+	-
Coruh nehri 1	+	+	+	-
Dom.il.dem.	+	+	+	-
15/4a1	+	+	+	-
11/1b1	+	-	-	-
Dikili 3	+	+	-	-
GSPB 382	-	-	-	-

+: Gelişim var

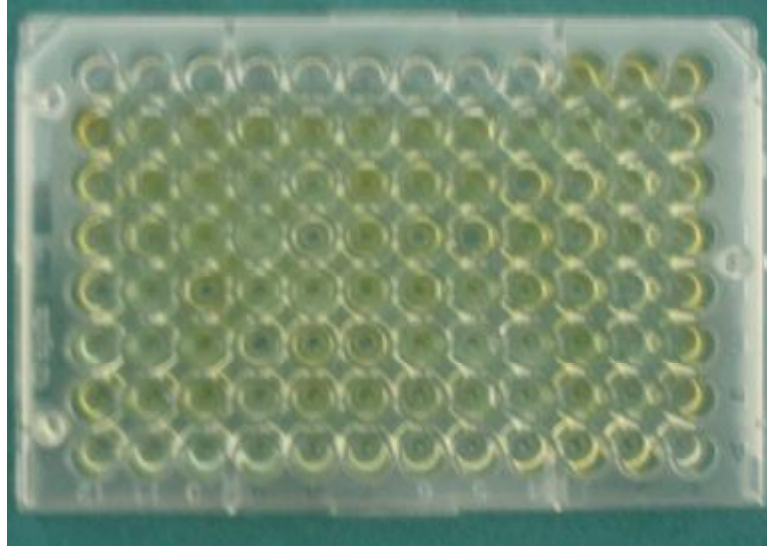
-: Gelişim yok

Üreticilerin bakırlı preperatları yoğun ve üretilen dozun üstünde kullanmaları nedeni ile zamanla dayanıklılık problemleri ortaya çıkabilmektedir. Özellikle Doğu Akdeniz bölgesinde standartlara uygun seracılık anlayışı yerine havalandırması hemen hemen hiç olmayan, yoğun nem tutan büyük tüneller şeklinde seracılık yapılmaktadır. Özellikle fungal patojenlere karşı yapılan yoğun bakır içerikli ilaçlamalardan bakteriyel patojenlerin de etkilendiği ve dayanıklılık geliştirdiği düşünülmektedir. Werner ve ark., 2002'nin bildirdiğine göre Cooksey (1990) uzun süreli ve sürekli bakırlı bileşiklerin kullanımı sonucu bakıra dayanıklı bakteri izolatlarının gelişebileceğini bildirilmektedir. Benzer şekilde Mirik (2005) biberlerde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas vesicatoria* subsp. *vesicatoria* izolatlarının bakır sülfat'a karşı dayanıklılıklarını incelediği doktora çalışmasında 30 ve 100 ppm dozunda bakır sülfata bütün izolatların dayanıklı olduğunu 150 ve 200 ppm bakır sülfata ise bütün izolatların duyarlı olduğunu saptamıştır.

4.6. Geleneksel Tanıyı Destekleyici Testler

4.6.1. *C. m* subsp. *michiganensis* İzolatlarının Indirekt-ELISA Testi İle Tanısı

Bölge izolatlarının Agdia firmasından satın alınan ticari tanı kiti ile yapılan Indirekt-ELISA çalışmasında, 405nm'de absorbens değerleri 1.051 ile 1.722 arasında kaydedilmiştir (Çizelge 4.4). Pozitif kontroldeki absorbens değeri 3.518 iken negatif kontrolde 0,389 olarak belirlenmiştir. Elde edilen absorbens değerlerinin negatif kontrolün iki katından fazla oluşu nedeniyle izolatlarımız *Cmm* olarak tanılanmıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Domates izolatlarına yapılan Indirekt ELISA testi sonucunda plakaların görünümü

Çizelge 4.4. ELISA plate okuyucusunda *Cmm* izolatlarının okunan absorbans değerleri (ölçümler 405 nm’de yapılmıştır)

İzolat Adı	İzolatın Alındığı Yer	Ortalama	Sonuç
PBS		0,386	-
Sağlıklı domates ekstraktı		0.402	-
Negatif Kontrol		0.389	-
Pozitif Kontrol		3,518	+
GSPB 382	Referans	1,511	+
Cıcık 1	Mersin	1,315	+
Cıcık 8b	Mersin	1,465	+
1/2C Erd. Yay.	Mersin	1,654	+
2/1A Erd. Yay.	Mersin	1,722	+
3/2A Erd. Yay.	Mersin	1,155	+
4/1A Erd.Yay.	Mersin	1,051	+
5/1B Erd.Yay.	Mersin	1,314	+
6/1A Erd.Yay.	Mersin	1,345	+
7/1A Erd.Yay.	Mersin	1,245	+
8/1A Erd.Yay.	Mersin	1,685	+
9/1A Erd.Yay.	Mersin	1,579	+
10/1B Erd.Yay.	Mersin	1,546	+
Ektar 1	Adana	1,200	+
Mucla	Adana	1,268	+
Dom.il.dem2	Adana	1,416	+
Çalışkanlar 1	Adana	1,702	+
31-9985 A Cmm	Bursa	1,639	+
33-A (TT111)	Bursa	1,452	+
34-1A	Bursa	1,605	+

Çizelge 4.4'ün devamı

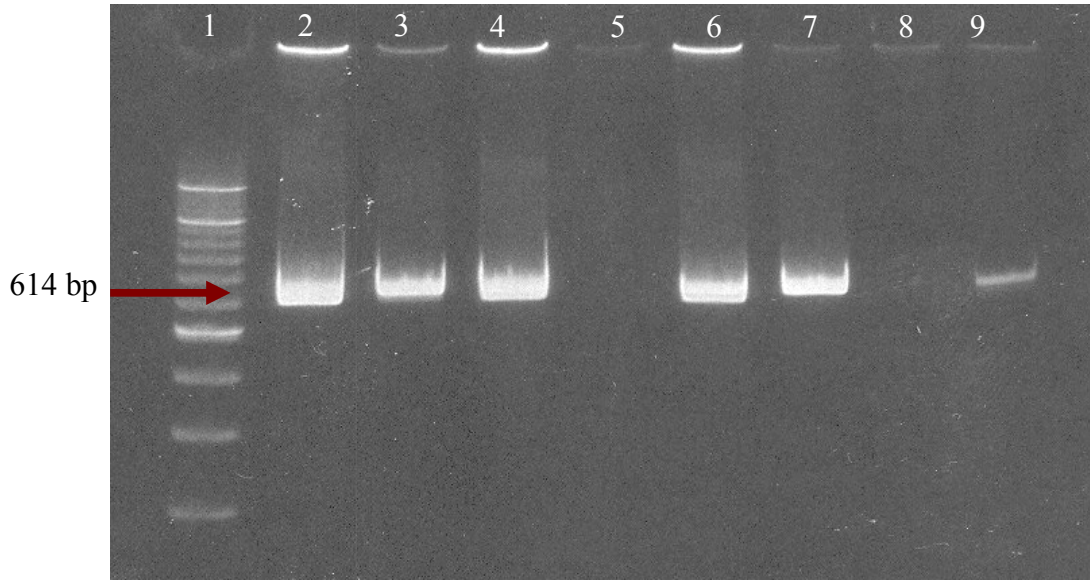
24-2A	Bursa	1,152	+
Coruh nehri 1	Artvin	1,466	+
Coruh nehri 1	Artvin	1,503	+
15/4a1	Antalya	1,299	+
11/1b1	Antalya	1,356	+
Dikili 3	İzmir	1,355	+
Dikili 5	İzmir	1,269	+
Dikili 6	İzmir	1,356	+

+: Pozitif sonuç

-: Negatif sonuç

4.6.2. *C. m. subsp. michiganensis* İzolatlarının PCR Testi İle Tanısı

Cmm izolatlarının DNA izolasyonu işleminden sonra saflaştırılan genomik DNA'ları ile iki farklı PCR çalışması yapılmıştır. Patojene spesifik olan CMM5:5'- GCGAATAAGCCCATATCAA-3' ve CMM6:5'- CGTCAGGAGGTTTCGCTAATA -3' primer dizilimleri kullanılarak yapılan PCR çalışması sonucunda tüm izolatlar %1.5 agaroz jel üzerinde Dreier ve ark., (1995)'nın bildirdiği gibi 614 bp büyüklüğünde bntlar oluştuğu saptanmıştır (Şekil 4.16). CM₃: 5'- 5'CCT CGT GAG TGC CGG GAA CGT ATC 3' ve CM₄: 5'- CCA CGG TGG TTG ATG CTC GCG AGA -3' primerleri kullanılarak yapılan PCR çalışması sonucunda ise Santos ve ark., (1997) 645 bp büyüklüğündeki bant oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.17). Bu çalışmada elde edilen bantlar Dreier ve ark., (1995) ve Santos ve ark., (1997) yaptığı çalışma ile birebir örtüşmektedir. Sonuç olarak bu çalışma çerçevesinde elde ettiğimiz izolatların *Cmm* olduğu moleküler çalışma ile de saptanmış ve izolatların spesifik, duyarlı ve hızlı tanısı yapılmıştır.



Şekil 4.16. Dreier ve ark., (1995)'nın primeri kullanılarak yapılan PCR işleminde oluşan bantlar. Çukur 1: 1 kb markır, Çukur2: GSPB 382, Çukur3: Muc 1c, Çukur4: Cıcık 1: Çukur5: Negatif kontrol, Çukur6: 33-A (TT111), Çukur7: Çoruh Nehri 1, Çukur8: Negatif kontrol, Çukur9: 15/4a1



Şekil 4.17. Santos ve ark., (1997)'nın primeri kullanılarak yapılan PCR işleminde oluşan bantlar. Çukur 1: 1 kb markır, Çukur2: GSPB 382, Çukur3: Muc 1c, Çukur4: Negatif kontrol, Çukur5: Cıcık 1, Çukur6: 33-A (TT111), Çukur7,8,9,10,11: Boş, Çukur12: Çoruh Nehri 1, Çukur13: 15/4a1, Çukur14:Dikili 3, Çukur15: Negatif kontrol, Çukur16: Erwinia spp., Çukur17: 10/1B, Çukur18: Negatif kontrol: Çukur19: 11/1b1, Çukur20: Pseudomonas spp, Çukur21: Dom.il. dem.

4.6.3. *C. m. subsp. michiganensis* İzolatlarının Yağ Asit Profillerinin Belirlenmesi

Cmm izolatlarının yağ asit profillerinin belirlenmesi için yapılan çalışma Atatürk Üniversitesi, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 6 *Cmm* izolatının yağ asit metil ester analizleri yapılmış ve 12 farklı yağ asidi izole edilmiştir (Çizelge 4.5). İzole edilen yağ asitleri, 10:0 OH (%0.58), 15:1 ANTEISO (%3.46), 15:0 ANTEISO (%48.6), 15:0 ISO (%1.83), 16:0 ISO (%11.59), 16:00 (%6.56), 17:0 ANTEISO (%28.45), 17:0 ISO (%1.29), 16:0 ISO 3OH (%0.49), 18:1 ISO H (%1.28), 18:1 w6c (%0.29), 18:00 (%0.65) olarak belirlenmiştir. İzole edilen yağ asitlerinin doymuş (16:00, 18:00), doymamış (18:1 w6c), bir metil grubuna bağlanmış (15:1 ANTEISO A, 15:0 ANTEISO, 15:0 ISO, 16:0 ISO, 17:0 ANTEISO, 17:0 ISO, 16:0 ISO 3OH, 18:1 ISO H) ve hidroksil (10:0 OH) olmak üzere 4 grup olduğu saptanmıştır. İzolatlar arasında genelde yağ asitleri miktarı açısından büyük benzerlikler bulunmaktadır. Yağ asitlerinden 15:1 ANTEISO A, 16:0 ISO, 16:00, 17:0 ANTEISO yağ asitlerinin her izolatta bulunduğu belirlenmiştir. 15:1 ANTEISO A yağ asidinin ise beş izolatta olduğu saptanmıştır. Diğer yağ asitleri açısından değişen oranlarda farklılıklar bulunmaktadır.

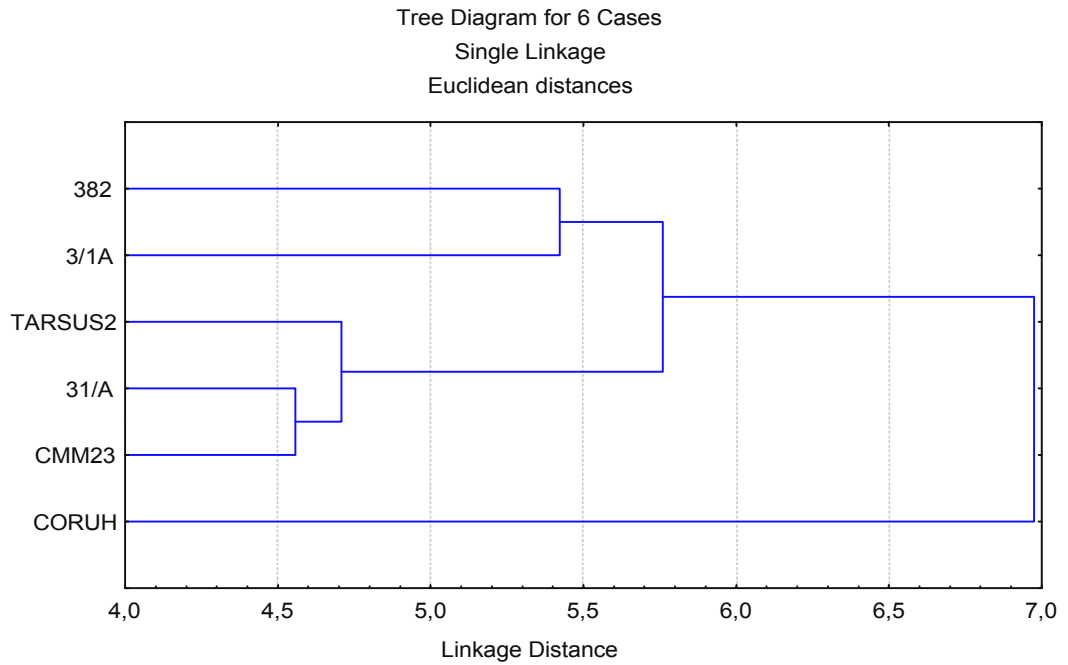
Çizelge 4.5. *Cmm* izolatlarından elde edilen yağ asitleri, bunların bulunma oranları (%) ve bu yağ asitlerine sahip izolat sayısı

Yağ Asitleri	İzolat Sayısı	Dağılım Aralığı	Ortalama (%)
10:0 OH	1	0.58	0.58
15:1 ANTEISO A	5	1.93-5.55	3.46
15:0 ANTEISO	6	46.58-51.35	48.6
15:0 ISO	3	1.34-2.1	1.83
16:0 ISO	6	7.15-17.8	11.59
16:00	6	4.07-11.32	6.56
17:0 ANTEISO	6	25.27-30.82	28.45
17:0 ISO	2	0.18-1.5	1.29
16:0 ISO 3OH	1	0.49	0.49
18:1 ISO H	1	1.28	1.28
18:1 w6c	1	0.29	0.29
18:00	1	0.65	0.65

Gitiatis ve Beaver (1990) 15:1 ANTEISO A ‘nın *Cmm* için karakteristik olduğunu bildirmişlerdir. Şahin ve ark., (2002) Doğu Anadolu bölgesinden

domates üretim alanlarından izole ettikleri 16 adet izolatu yağ asit metil ester analizleri ile %47-89 oranında *Cmm* olarak tanılamışlardır. Yağ asit analizlerine göre yapılan tanıda izolatlarımız %41-81 benzerlik oranıyla *Cmm* olduğu saptanmıştır.

İzole edilen yağ asitlerinin miktarına göre yapılan analiz sonucu oluşan dendogramda 6 izolatın %93 oranında birbirleri ile benzer oldukları saptanmış (Şekil 4.18) ve izolatlar bir grup içerisinde kümelenmişlerdir.



Şekil 4.18. Yağ asit profillerine göre küme analizi sonucu izolatların farklılık oranları

4.7. *C. m. subsp. michiganensis*'in Biyolojik Mücadelesi İle İlgili Çalışmalar

4.7.1. PGPR'ların İzolasyonu ve Aday PGPR İzolatlarının Seçimi

PGPR'lerin toplanması ve izolasyonu için yapılan çalışmalar iki bölüm olarak gerçekleştirilmiştir. Birinci bölümde Adana (Köylüoğlu köyü, Çukurova Üniversitesi domates üretim alanları), Mersin (Erdemli ilçesi Merkez, Yaylalar, Tarsus ilçesi), Antalya (Kumluca ilçesi) ve Muğla (Karadere ve Gökçü ilçeleri) illerinde domates yetiştirilen alanlardan sağlıklı bitkilerin kök bölgesi toprağından kılcal kökleri de içerecek şekilde 29 adet örnek alınmıştır. Alınan 29 toprak örneğinden toplam 386 adet aday izolat elde edilmiştir. İkinci kısımda ise Hatay (Kırıkhan ve Hassa İlçesi), Osmaniye (Karatopaklı, Karakütük, Gaffarlı, ve Reşadiye köyleri), Adana (Yumurtalık ve Ceyhan ilçeleri) illerinden 11 toprak örneği alınmış 113 aday izolat elde edilmiştir. Toplam olarak ise 499 adet aday PGPR izolatı ile çalışılmıştır. Şekil 4.19'de PGPR izolasyonu için örnek alınan bir domates tarlası, Şekil 4.20'de ise King B besi yerine topraktan yapılan izolasyon görülmektedir.



Şekil 4.19. PGPR izolasyonu için Mersin ili Erdemli ilçesinde toprak örneği alınan bir domates tarlasından görünüm



Şekil 4.20. Toprakta izole edilen aday PGPR'ların King B besiyerinde geliştirdikleri koloniler

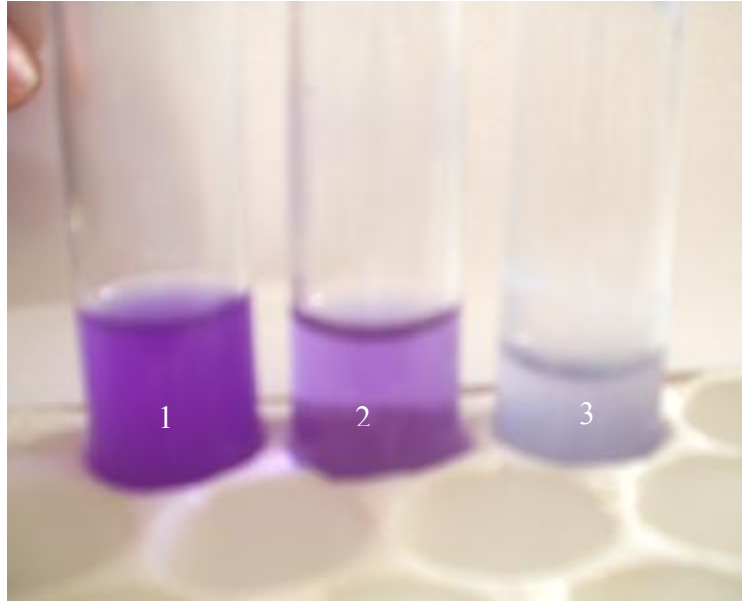
4.7.2. Aday PGPR İzolatlarının Seçimi

Toprakta elde edilen aday PGPR izolatları arasında seçim fosfor indirgeme ve azotu bağlama özelliklerine göre yapılmıştır. Fosfor ve Azot toprakta bitki gelişimi için en önemli besin elementleri grubunda yer almakta olup bitki gelişimini direkt olarak etkilemektedir (Çakmakçı 2005).

Fosfatı İndirgeme Özelliğine Göre Aday PGPR İzolatlarının Seçimi

Fosforun sadece toprakta bulunması yetmemekte, çoğu durumda toprakta fosfor miktarı yeterli olsa veya düzenli olarak gübreleme yapılsa dahi, bitkilerce alım etkinliği düşük olmaktadır. Alınabilir fosfor yüksek verim için genellikle yetersizdir ve uygulanan inorganik fosfor da gübrelemeden hemen sonra fiks edilmektedir. Kimyasal gübre fiyatlarının yükselmesi, çevreye olumsuz etkilerinin ortaya çıkması; doğal olarak meydana gelebilen, güvenilir, alternatif fosfor gübrelerinin ortaya konulmasını gündeme getirmiş; kaya fosfatını parçalayan bakterilerin, izolasyonu, tanısı, araştırılması, geliştirilmesi ve kullanımı benimsenmeye başlamıştır. Bunun içinde özellikle toprakta bulunan ve çözülmeyen formdaki fosfatı çözerek bitkinin alacağı forma getiren bakteriler önem kazanmıştır (Nautiyal 1999; Çakmakçı 2005).

Toprakta çözünmeyen formda bulunan fosfatı çözen PGPR'ların saptanması amacıyla yapılan çalışmada, birinci bölümde elde edilen 386 adet bakteri izolatu ile çalışılmıştır. Bu isolatlar tütünde aşırı duyarlılık ve patatesti pektolitik aktivite testlerinde negatif sonuç vermişlerdir (Çizelge 4.6). Fosfatı indirgeyen bakterilerin seçiminde spektrofotometre'de kolorimetrik ölçümler yapılmıştır. Bunun yanı sıra sıvı NBRIP besi yerinin içerdği bromofenol blue'da meydana gelen renk açılması da izolatu seçiminde yardımcı bir kriter olarak değerlendirilmiştir. Sıvı NBRIP besi yerine aşılana 386 adet izolatdan 34 tanesi ortamda renk açılması oluşturmuş ve 400nm'de ölçülen absorban değerleri 0.141 (E3.5.2 kodlu izolatu) ile 0.289 (N3.5.8 kodlu izolatu) arasında olmuştur. (Çizelge 4.7).Çalışmamız Johri ve ark. (1999)'nın yaptığı çalışma ile paralel sonuç ortaya koymuştur. Şekil 4.21'de ise aday PGPR izolatlarının sıvı NBRIP besi yerinde oluşturdukları renk açılması görülmektedir.



Şekil 4.21.Sıvı NBRIP besi yerinde aday PGPR izolatlarının oluşturduğu renk açılması. 1. Tüp negatif kontrol; 2. Tüp negatif sonuç veren bölge izolatu; 3. Tüp pozitif sonuç veren bölge izolatu

Çizelge 4.6. Toplam 499 adet aday PGPR İzolatının Listesi ve Yapılan Testler

İzolat Adı	Alındığı Yer	Çeşit	Renk	Pat.	Tüt.	Fos.
E1.5.1	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Beyaz	-	-	-
E1.6.2	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Sarı	-	-	+
E1.6.3	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Koyu Sarı	-	-	+
E1.5.4	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Krem	-	-	-
E1.6.5	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Krem	-	-	-
E1.6.6	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Beyaz	-	-	-
E1.4.7	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Krem	-	-	-
E1.4.8	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Beyaz	-	-	-
E1.4.9	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Yeşilimsi Şeffaf	-	-	-
E1.4.10	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Krem	-	-	-
E1.6.11	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Turuncu	-	-	-
E1.6.12	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Yeşilimsi Sarı	-	-	-
E1.4.13	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Beyaz	-	-	+
E1.4.14	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Beyaz	-	-	-
E1.4.15	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Sarı	-	-	-
E1.4.16	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Açık Sarı	-	-	-
E1.4.17	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Krem	-	-	-
E1.6.18	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E1.4.19	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Yeşilimsi	-	-	-
E1.5.20	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Açık sarı	-	-	-
E1.5.21	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Krem	-	-	-
E1.5.22	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Astona	Turuncu	-	-	-
E2.4.1	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Beyaz	-	-	-
E2.4.2	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Açık Sarı	-	-	-
E2.4.3	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Krem	-	-	-
E2.6.4	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Sarı	-	-	-
E2.6.5	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Beyaz	-	-	-
E2.5.6	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Yeşil	-	-	+
E2.5.7	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Beyaz	-	-	-
E2.4.8	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Krem	-	-	-
E2.5.9	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Açık Sarı	-	-	-
E2.4.10	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Krem	-	-	-
E2.5.11	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Beyaz	-	-	-
E2.6.12	Koyuncu/Erdemli/Mersin	Malike F1	Beyaz	-	-	-
E3.4.1	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

E3.4.1	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E3.4.2	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E3.4.3	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E3.4.4	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E3.4.5	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E3.4.6	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Turuncu	-	-	-
E3.4.7	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Turuncu	-	-	-
E3.5.1	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E3.5.2	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Açık yeşilimsi	-	-	+
E3.5.3	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E3.4.8	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E3.4.9	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E3.5.10	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E3.4.11	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E3.4.12	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Şeffaf sarı	-	-	+
E3.6.13	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Grimsi beyaz	-	-	-
E3.4.14	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E4.4.1	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E4.4.2	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E4.4.3	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E4.4.4	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E4.5.5	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E45.6	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	+
E4.5.7	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E4.4.8	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E4.4.9	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Sarı	-	-	-
E4.4.10	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

E4.11	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Turuncu	-	-	-
E4.5.12	Karyağdı/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E5.6.1	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Sarı	-	-	-
E5.4.2	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E5.5.3	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E5.4.4	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E5.4.5	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E5.4.6	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Şeffaf sarı	-	-	-
E5.4.7	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E5.4.8	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E5.4.9	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E5.4.10	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Turuncu	-	-	-
E5.4.11	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E5.4.12	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Krem	-	-	-
E5.4.13	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Turuncu	-	-	-
E5.4.14	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E5.4.15	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E5.4.16	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E5.4.17	Karyağdı/Erdemli/Mersin	Target	Gri beyaz	-	-	-
E6.4.1	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Krem	-	-	-
E6.4.3	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E6.5.4	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E6.6.5	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Turuncu	-	-	-
E6.4.6	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Gri beyaz	-	-	-
E6.4.7	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Krem	-	-	-
E6.4.8	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E6.5.9	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Turuncu	-	-	-
E6.5.10	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E6.6.11	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E6.6.12	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Krem	-	-	-
E6.6.13	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Beyaz	-	-	-
E6.6.14	Kocaköy/Erdemli/Mersin	Target	Sarı şeffaf	-	-	-
E7.4.1	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Koyu sarı	-	-	-
E7.4.2	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Yeşil sarı	-	-	-
E7.4.3	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E7.4.4	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem sarı	-	-	-
E7.4.5	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Koyu krem	-	-	-
E7.4.6	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz	-	-	-
E7.4.7	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

E7.4.8	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	+
E7.4.9	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Krem	-	-	-
E7.4.10	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Yeşilimsi sarı	-	-	-
E7.4.11	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Açık şeffaf sarı	-	-	-
E7.4.12	Kocaköy/Erdemli/Mersin	357-RN-F1	Beyaz mat	-	-	-
K1.4.1	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
K1.6.2	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Sarımsı	-	-	-
K1.4.3	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Sarı	-	-	-
K1.4.4	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Yeşilimsi sarı	-	-	-
K1.5.5	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
K1.4.6	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K1.4.7	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K1.4.8	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	beyaz	-	-	-
K1.5.9	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Şeffaf krem	-	-	-
K1.6.10	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K1.4.11	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K1.4.12	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K1.4.13	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
K1.4.14	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
K2.5.1	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K2.6.2	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
K2.6.3	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Sarı	-	-	-
K2.4.4	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
K2.4.5	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
K2.6.6	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Turuncu	-	-	-
K2.4.7	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K2.4.8	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Yeşilimsi sarı	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

K2.4.9	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Krem	-	-	-
K2.5.10	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Sarı	-	-	-
K2.4.11	Köylüoğlu/Adana	Tarla dom.	Yeşilimsi sarı	-	-	-
Ç1.4.1	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Sarı	-	-	-
Ç1.4.2	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç1.4.3	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem koyu	-	-	-
Ç1.4.4	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	+
Ç1.6.5	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç1.5.6	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Grimsi beyaz	-	-	-
Ç1.6.7	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Turuncu	-	-	-
Ç1.5.8	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç1.4.9	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
Ç1.6.10	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç1.4.11	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
Ç1.6.12	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç1.5.13	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç1.5.14	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
Ç2.5.1	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
Ç2.4.2	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Koyu turuncu	-	-	-
Ç2.4.3	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Turuncu	-	-	-
Ç2.6.4	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç2.5.5	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Beyaz	-	-	-
Ç2.4.6	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç2.6.7	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Yeşilimsi sarı	-	-	-
Ç2.4.8	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Krem	-	-	-
Ç2.4.9	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Sarı	-	-	-
Ç2.5.10	Ç.Ü. domates üretim alanı	Tarla dom.	Yeşilimsi sarı	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

Y1.4.1	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Krem	-	-	-
Y1.4.2	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Krem	-	-	-
Y1.4.3	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Beyaz	-	-	-
Y15.4	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Krem	-	-	-
Y1.6.5	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Beyaz	-	-	-
Y1.6.6	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Sarımsı	-	-	-
Y1.6.7	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Krem	-	-	+
Y1.6.8	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Sarı	-	-	-
Y1.6.9	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Krem	-	-	-
Y1.4.10	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Beyaz	-	-	-
Y1.4.11	Tapureli/Erd. Yayl./Mersin	Elif 190	Sarı	-	-	-
Y2.5.1	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Krem	-	-	-
Y2.5.2	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Beyaz	-	-	-
Y2.5.3	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Beyaz	-	-	-
Y2.5.4	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Krem	-	-	-
Y2.4.5	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Krem	-	-	-
Y2.4.6	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Beyaz	-	-	-
Y2.4.7	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Beyaz	-	-	-
Y2.4.8	Yağda/Erd. Yaylalar/Mersin	Elif 190	Krem	-	-	+
Y3.4.1	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Krem	-	-	-
Y3.6.2	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Krem	-	-	+
Y3.5.3	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Beyaz	-	-	-
Y3.5.4	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Krem	-	-	-
Y3.5.5	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Krem	-	-	-
Y3.5.6	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Beyaz	-	-	-
Y3.5.7	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Beyaz	-	-	+
Y3.5.8	Güneyli / Erd. Yayl./Mersin	Tutku	Krem	-	-	-
Y4.5.1	Elbeyli / Erd. /Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y4.4.2	Elbeyli / Erd. /Mersin	Bona	Beyaz	-	-	-
Y4.4.3	Elbeyli / Erd. /Mersin	Bona	Beyaz	-	-	-
Y4.4.4	Elbeyli / Erd. Yayl./Mersin	Bona	Sarımsı	-	-	-
Y4.4.5	Elbeyli / Erd. Yayl./Mersin	Bona	Sarımsı	-	-	-
Y4.4.6	Elbeyli / Erd. Yayl./Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y4.4.7	Elbeyli / Erd. Yayl./Mersin	Bona	Krem	-	-	+
Y4.4.8	Elbeyli / Erd. Yayl./Mersin	Bona	Turuncu	-	-	-
Y5.5.1	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Beyaz	-	-	-
Y5.5.2	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y5.5.3	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Sarı	-	-	-
Y5.5.4	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Gri beyaz	-	-	+
Y5.4.5	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Beyaz	-	-	-
Y5.4.6	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y5.5.7	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Sarı	-	-	-
Y5.5.8	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Beyaz	-	-	-
Y5.4.9	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y5.4.10	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Beyaz	-	-	-
Y5.4.11	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y5.4.12	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y5.4.13	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Sarımsı	-	-	-
Y5.4.14	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Krem	-	-	-
Y5.4.15	Güzeloluk/Erd./Mersin	Bona	Sarımsı	-	-	-
Y6.1	Hüsametli/ Erd./Mersin	Safir	Krem	-	-	-
Y6.2	Hüsametli/ Erd./Mersin	Safir	Krem	-	-	-
Y6.3	Hüsametli/ Erd./Mersin	Safir	Krem	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

Y6.4	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	+
Y6.5	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Sarımsı	-	-	-
Y6.6	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	+
Y6.7	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Turuncu	-	-	-
Y6.8	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Krem	-	-	-
Y6.9	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	-
Y6.10	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	-
Y6.11	Hüsametli/ Erd../Mersin	Safir	Krem	-	-	+
Y7.5.1	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Krem	-	-	-
Y7.4.2	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Beyaz	-	-	-
Y7.4.3	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Beyaz	-	-	-
Y7.4.4	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Krem	-	-	+
Y7.4.5	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Krem	-	-	-
Y7.4.6	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Turuncu	-	-	-
Y7.5.7	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Sarımsı	-	-	-
Y7.6.8	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Sarımsı	-	-	-
Y7.6.9	Tapureli/ Erd. Mersin	Safir 2	Krem	-	-	-
Y8.6.1	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Krem	-	-	-
Y8.6.2	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Beyaz	-	-	-
Y8.6.3	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Beyaz	-	-	-
Y8.6.4	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Krem	-	-	-
Y8.4.5	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Krem	-	-	-
Y8.4.6	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Turuncu	-	-	-
Y8.4.7	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Sarı	-	-	-
Y8.4.8	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Yeşilimsi	-	-	-
Y8.4.9	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Mat beyaz	-	-	-
Y8.4.10	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Grimsi	-	-	-
Y8.4.11	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Krem	-	-	-
Y8.4.12	Alibeyli/ Erd. Yayla./Mersin	Y. Talya	Beyaz	-	-	-
Y9.4.1	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	+
Y9.4.2	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Krem	-	-	-
Y9.5.3	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	-
Y9.4.4	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Sarımsı	-	-	-
Y9.4.5	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Şeffaf Krem	-	-	-
Y9.5.6	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	-
Y9.5.7	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Krem	-	-	-
Y9.5.8	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Sarı	-	-	-
Y9.5.7	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Krem	-	-	-
Y9.5.8	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Sarı	-	-	-
Y9.4.9	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Krem	-	-	+
Y9.4.10	Yeniyurt/ Erd../Mersin	Safir	Beyaz	-	-	-
N1.6.1	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Yeşilimsi	-	-	-
N1.6.2	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Koyu krem	-	-	-
N1.6.3	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
N1.6.4	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N1.6.5	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N1.6.6	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Sarı	-	-	-
N1.6.7	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N1.6.8	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
N1.5.9	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N1.5.10	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem zayıf	-	-	+
N1.5.11	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N1.5.12	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

N1.5.13	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Sarı	-	-	-
N1.5.14	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N14.15	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Kahverengi	-	-	-
N14.16	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N14.17	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Sarı	-	-	-
N14.18	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N14.19	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N14.20	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Açıksarı	-	-	-
N14.21	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Beyazımsı	-	-	-
N14.22	Gülek 1/Tarsus /Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N2.4.1	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşilimsi	-	-	-
N2.4.2	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşilimsi	-	-	-
N2.4.3	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N2.4.4	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N2.4.5	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Koyu krem	-	-	-
N2.5.6	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N2.5.7	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N2.5.8	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N2.5.9	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N2.5.10	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N2.5.11	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N2.6.12	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N2.6.13	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N2.6.14	Çukurbağ/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşilimsi	-	-	-
N3.6.1	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşil	-	-	-
N3.6.2	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N3.6.3	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarı	-	-	-
N3.6.4	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.6.5	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.6.6	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N3.5.7	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N3.5.8	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N3.5.9	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.5.10	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.5.11	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.5.12	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.5.13	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.5.14	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.4.15	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.4.16	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.4.17	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.4.18	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N3.4.19	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N3.4.20	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N3.4.21	Sarışıl/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.4.1	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N4.4.2	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N4.4.3	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.4.4	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.4.5	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.4.6	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.4.7	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N4.5.8	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

N4.5.9	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.5.10	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.5.11	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
N4.5.12	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.6.13	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşil sarı	-	-	-
N4.6.14	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.6.15	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.6.16	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N4.6.17	Boğazpınarı/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.4.1	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.4.2	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.5.3	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.5.4	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.5.5	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.5.6	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
N5.6.7	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Beyazımsı	-	-	-
N5.6.8	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.6.9	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
N5.6.10	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.6.11	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N5.6.12	Kömenlik /Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.4.1	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.4.2	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.4.3	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşilimsi	-	-	-
N6.4.4	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarı	-	-	-
N6.4.5	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
N6.4.6	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.5.7	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.5.8	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarı	-	-	-
N6.5.9	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.5.10	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.5.11	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.5.12	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşilimsi	-	-	-
N6.5.13	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.6.15	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarı	-	-	-
N6.6.16	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Koyu krem	-	-	-
N6.6.17	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.6.18	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
N6.6.19	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Yeşil	-	-	-
N6.6.20	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	-
N6.6.21	Namrun/Tarsus/Mersin	Belirsiz	Krem	-	-	+
Ku4.6	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Krem	-	-	-
Ku4.7	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ku4.3	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ku6.2	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Beyaz	-	-	+
Ku4.4	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Gri beyaz	-	-	-
Ku4.5	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Krem	-	-	-
Ku6.1	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ku5.8	Kumluca/Antalya	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Gö4.7	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Gö6.6	Göçük/Muğla	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
Gö5.1	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Gö.4.5	Göçük/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	-

Çizelge 4.6'nın devamı

Gö4.1	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Gö6.2	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Gö4.4	Göçük/Muğla	Belirsiz	Turuncu	-	-	-
Gö4.3	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Gö4.2	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Gö5.3	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Gö6.7	Göçük/Muğla	Belirsiz	Sarı	-	-	-
Gö6.5	Göçük/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Ka5.7	Karadere/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	+
Ka5.9	Karadere/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Ka5.12	Karadere/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ka5.8	Karadere/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Ka5.10	Karadere/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ka4.3	Karadere/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ka4.1	Karadere/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ka5.11	Karadere/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ka6.14	Karadere/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Ka6.13	Karadere/Muğla	Belirsiz	Beyaz	-	-	-
Ka4.2	Karadere/Muğla	Belirsiz	Sarımsı	-	-	-
Ka5.4	Karadere/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	-
Ka5.5	Karadere/Muğla	Belirsiz	Krem	-	-	+
R1.3.1	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R1.3.2	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R1.3.3	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R1.3.4	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R1.3.5	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R1.3.6	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R1.3.7	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R1.3.8	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R1.3.9	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R2.1	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	-	-	+
R2.3.1	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R2.3.2	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R2.3.3	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R2.3.4	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R2.3.5	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R2.3.6	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R2.3.7	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Gri beyaz	*	*	-
R2.3.8	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R2.4.1	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R2.4.2	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Gri beyaz	*	*	-
R2.4.3	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R2.5.1	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Krem	*	*	-
R2.5.2	Kırkhan/Hatay	Tar.dom	Sarı	*	*	+
R3.3.1	Hassa/Hatay	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R3.3.2	Hassa/Hatay	Belirsiz	Krem	*	*	-
R3.3.3	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R3.3.4	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R3.3.5	Hassa/Hatay	Belirsiz	Krem	*	*	-
R3.3.6	Hassa/Hatay	Belirsiz	Krem	-	-	+
R3.4.1	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R3.4.2	Hassa/Hatay	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R3.4.3	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-

Çizelge 4.6'nın devamı

R3.4.4	Hassa/Hatay	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R3.4.5	Hassa/Hatay	Belirsiz	Krem	*	*	-
R3.4.6	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R3.4.7	Hassa/Hatay	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R3.4.8	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R3.4.9	Hassa/Hatay	Belirsiz	Krem	*	*	-
R3.4.10	Hassa/Hatay	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R3.4.11	Hassa/Hatay	Belirsiz	Gri beyaz	*	*	-
R3.5.1	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R3.5.2	Hassa/Hatay	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R3.5.3	Hassa/Hatay	Belirsiz	Krem	*	*	-
R4.1	Hassa/Hatay	Safir	Beyaz	*	*	+
R4.2	Hassa/Hatay	Safir	Krem	*	*	-
R4.3.1	Hassa/Hatay	Safir	Beyaz	*	*	-
R4.3.2	Hassa/Hatay	Safir	Beyaz	*	*	-
R4.3.3	Hassa/Hatay	Safir	Krem	*	*	-
R4.3.4	Hassa/Hatay	Safir	Krem	*	*	+
R4.3.5	Hassa/Hatay	Safir	Sarı	*	*	-
R4.3.6	Hassa/Hatay	Safir	Beyaz	*	*	-
R4.3.7	Hassa/Hatay	Safir	Beyaz	*	*	-
R4.3.8	Hassa/Hatay	Safir	Yeşimsi	*	*	-
R4.3.9	Hassa/Hatay	Safir	Sarı	*	*	-
R4.3.10	Hassa/Hatay	Safir	Krem	*	*	-
R4.4.1	Hassa/Hatay	Safir	Turuncu	*	*	-
R4.4.2	Hassa/Hatay	Safir	Sarı	*	*	-
R4.4.3	Hassa/Hatay	Safir	Beyaz	*	*	-
R4.4.4	Hassa/Hatay	Safir	Beyaz	*	*	-
R4.4.5	Hassa/Hatay	Safir	Krem	*	*	-
R5.1	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	+
R5.2	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Yeşimsi	*	*	-
R5.4.1	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R5.4.2	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R5.4.3	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R5.4.4	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R5.4.5	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R5.4.6	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Turuncu	*	*	-
R5.4.7	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R5.4.8	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R5.4.9	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Turuncu	*	*	-
R5.4.10	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R5.4.11	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R6.3.1	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	-	-	+
R6.4.1	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R6.4.2	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R6.4.3	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R7.3.1	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Yeşimsi	*	*	-
R7.4.1	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R7.4.2	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R7.4.3	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R7.4.4	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R7.4.5	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R7.4.6	Kadirli/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	+
R8.3.1	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	+

Çizelge 4.6'nın devamı

R8.5.1	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R8.5.2	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R8.5.3	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R8.5.4	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R8.5.5	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R8.5.6	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R8.5.7	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R9.3.1	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R9.4.1	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R9.4.2	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R9.4.3	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R9.4.4	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R9.4.5	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	+
R9.5.1	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R9.5.2	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	-
R9.5.3	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R9.5.4	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Beyaz	*	*	-
R9.5.5	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Sarı	*	*	-
R9.5.6	Sumbastı/Osmaniye	Tar.dom	Krem	*	*	+
R10.3.1	Yumurtalık/Adana	Belirsiz	Beyaz	*	*	-
R10.3.2	Yumurtalık/Adana	Belirsiz	Krem	*	*	+
R10.3.3	Yumurtalık/Adana	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R11.3.1	Ceyhan/Adana	Belirsiz	Krem	*	*	-
R11.3.2	Ceyhan/Adana	Belirsiz	Beyaz	*	*	+
R11.4.1	Ceyhan/Adana	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R11.4.2	Ceyhan/Adana	Belirsiz	Krem	*	*	+
R11.4.3	Ceyhan/Adana	Belirsiz	Sarı	*	*	-
R11.4.4	Ceyhan/Adana	Belirsiz	Beyaz	*	*	-

+: Sonuç pozitif

-: Sonuç negatif

*: Test yapılmadı

Çizelge 4.7. Aday PGPR izolatları ve spektrofotometre’de 400 nm dalga boyunda ölçüm değerleri

İzolat Adı	A: 400 nm
E1.6.2	0.159
E1.6.3	0.155
E1.4.13	0.190
E2.5.6	0.180
E3.5.2	0.141
E3.4.12	0.184
E4.5.6	0.188
E5.4.6	0.188
E7.4.8	0.183
Ç1.4.4	0.189
Y1.6.7	0.223
Y2.4.8	0.240
Y3.6.2	0.186
Y3.5.7	0.202
Y4.4.7	0.236
Y5.5.4	0.243
Y6.4	0.174
Y6.11	0.152
Y6.6	0.141
Y7.4.4	0.204
Y9.4.1	0.223
Y9.4.9	0.238
N1.5.10	0.286
N14.22	0.274
N2.5.8	0.287
N3.6.2	0.261
N3.5.8	0.289
N3.4.20	0.269
N4.4.2	0.275
N6.4.5	0.238
N6.6.21	0.277
Ku6.2	0.168
Ka5.7	0.169
Ka5.5	0.171

İkinci kısımda çalışılan toprak örneklerinden toplam 113 adet bakteri izolatu elde edilmiştir. Çalışmanın bu kısmında çok sayıdaki aday bakteri izolatu arasından fosfor çözen bakterilerin seçimini oldukça hızlandıran ve kolaylaştıran katı NBRIP besi yeri kullanılmıştır. Katı NBRIP besi yerinde fosfor çözen bakterilerin etrafında bir zon oluşmaktadır. Bu yöntemde her bir petri kabına 9

adet farklı bakteri izolatı 3 tekerürlü olarak aşılanmış ve bu kolonilerin etrafında oluşan zon'a göre değerlendirme yapılmıştır (Şekil 4.22). Bakteri gelişimi sonunda oluşan zon çapını, bakteri kolonisine oranlayarak fosfor çözme indeksi belirlenmiş ve topraktan izole edilen 113 bakterinin 17 tanesinin 1.21 ile 6.60 arasında değişen indeks değerlerinde fosforu çözdüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Katı NBRIP besi yeri Kumar ve Narula (1999) yaptığı araştırmada olduğu gibi bizim çalışmamızda da başarı ile kullanılmıştır.



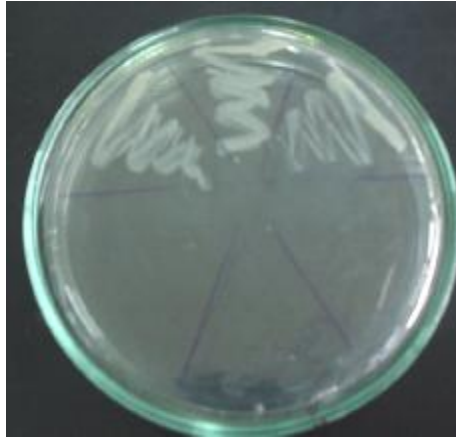
Şekil 4.22. Topraktan izole edilen bakterilerin katı NBRIP besi yerinde fosforu çözmelerinden dolayı oluşan zon ve bakteri kolonileri

Çizelge 4.8. Topraktan izole edilen aday PGPR bakterilerinin katı NBRIP besi yerinde ortalama koloni ve zon çapları ile indeks değerleri

İzolat Adı	Ort. Zon Çapı (mm)	Ort. Koloni Çapı (mm)	İndeks
R4.3.4	5.00	2.33	2.14
R1.3.3	3.00	2.00	1.50
R2.5.2	9.00	2.33	3.85
Y6.4	10.00	3.33	3.00
R2.1	11.00	1.66	6.60
R3.3.6	6.00	3.33	1.80
R4.1	11.00	4.33	2.53
R5.1	10.00	4.33	2.30
R6.3.1	5.66	3.66	1.54
R11.3.2	4.00	3.00	1.33
R7.4.3	7.66	7.33	1.04
R11.4.2	14.00	3.33	4.2
R7.4.6	6.33	4.00	1.58
R8.3.1	13.00	3.33	3.90
R9.5.6	5.33	4.33	1.23
R10.3.2	4.33	2.66	1.62
R9.4.5	5.66	4.66	1.21

Azotu Bağlama Yeteneğine Göre Aday PGPR İzolatlarının Seçimi

Topraktan elde ettiğimiz aday PGPR izolatlarının azotu bağlama yeteneklerinin belirlenmesi için izolatlarımız Jensen's (Ahmad ve ark., 2005) besi yerine aşılanmıştır. Her bir petri kabına 6 adet farklı bakteri izolatı aşılanmış ve bu çalışma 3 tekerürülü olarak yürütülmüştür. Azot içermeyen Jensen's besi yerinde gelişen izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir. Toplam 499 adet aday PGPR izolatı Jensen's besi yerine çizilmiş ve 21 tanesinde gelişim gözlenmiş ve bu izolatlar pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 4.23.). Jensen's besi yerinde gelişim gösteren izolatın listesi çizelge 4.9.'da verilmiştir. Cattelan ve ark., (1999) ile Ahmad ve ark., (2005)'de çalışmalarında azot fikse eden bakterilerin izolasyonunda azot içermeyen besi yerini kullanmışlar ve azot fikse eden bakterilerin seçiminde bu besi yerinin başarılı bir şekilde kullanıldığını bildirmişlerdir.



Şekil 4.23. Jensen's besi yerinde gelişen aday PGPR izolatları

Çizelge 4.9. Jensen seçici besiyerinde gelişim gösteren izolatlar

İzolat Adı	Jensen besi yerinde gelişim
R8.5.7	+
R1.3.4	+
R9.3.1	+
R4.4.5	+
R2.4.3	+
R1.3.9	+
R5.2	+
R4.2	+
R2.1	+

Çizelge4.9'un devamı

R7.3.1	+
R10.3.3	+
R6.4.3	+
R7.4.3	+
R11.4.2	+
R4.3.10	+
R5.4.11	+
R3.5.2	+
R5.4.11	+
R11.4.4	+
R3.4.1	+
R2.3.8	+

+:Pozitif sonuç

Fosforu çözen bakterilerin seçiminde sadece sıvı NBRIP besi yerinde renk açılması veya fosfor çözme indeksi yeterli değildir. Bu nedenle aday PGPR bakterinin sıvı besi yerinde çözdüğü fosfor miktarının saptanması gerekmektedir. Bu amaçla iki farklı yöntemle fosforu çözdüğü belirlenen toplam 51 adet aday PGPR izolatu ve Jensen besi yerinde gelişim gösteren toplam 21 izolattan en iyi sonucu veren 30 tanesi seçilerek sıvı NBRIP besi yerindeki fosfor çözme miktarı belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Seçilen 30 izolatu sıvı NBRIP besi yerinde çözdüğü fosfor miktarı

İzolat Ad	Çözünen P miktarı (pmm)
Kontrol	9,6
E3.5.2	725.83
Y6.4	704.66
Y1.6.7	644.66
R6.3.1	631.33
Y9.4.9	574.63
R3.3.6	550.61
N6.6.21	501.41
R10.3.2	497.96
Y6.4	489.16
R2.5.2	486.7
R11.4.2	476.01
N3.5.8	468.55
N3.6.2	457.73
R2.1	446.7
N6.4.5	428.21
N1.5.10	398.65

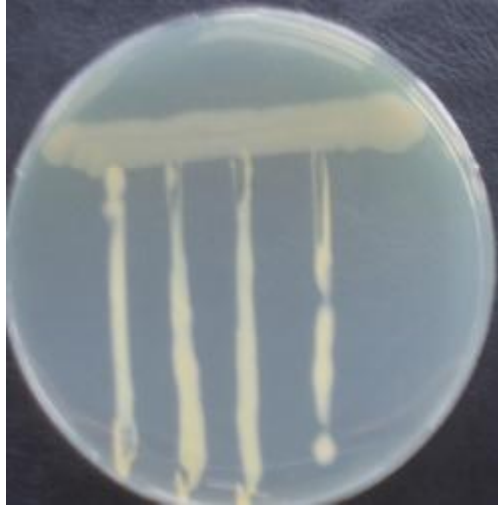
Çizelge 4.10'un devamı

Y3.6.2	397.01
N1.4.22	392.85
E2.5.6	391.93
R7.4.6	357.41
Ka.5.7	341.93
N4.4.2	338.35
E7.4.8	320.6
Y2.4.8	289.93
R5.1	266.8
R4.1	260.85
E3.4.12	257.4
R8.3.1	226.63
Y3.5.7	213.98
R4.3.4	211.56

Çizelge 4.10'de görüldüğü üzere sıvı NBRIP besi yerinde 725.83 ppm ile en fazla fosfor çözen bakteri izolatu E3.5.2 kodlu izolattır. Saksı çalışmalarında kullanılmak üzere fosfor çözme indeksi en yüksek olan ilk yedi izolat ile [E3.5.2 (725.83 ppm), Y6.4 (704.66 ppm), Y1.6.7 (644.66 ppm), R6.3.1 (631.33 ppm), Y9.4.9 (574.63 ppm), R3.3.6 (550.61 ppm), N6.6.21 (501.41 ppm) kodlu bakteri izolatları] fosfor çözme indeksi diğerlerine nazaran düşük (446.7 ppm) olmasına rağmen azot fikse etme özelliğine sahip olan R2.1 izolatu seçilmiştir.

4.7.3. Seçilen Aday PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etkilerinin Belirlenmesi

Saksı çalışmalarında kullanılmak fosforu indirgeme ve azotu fikse etme yeteneklerine göre seçilen 8 adet aday PGPR izolatının *Cmm*'e karşı siderefor ve antagonistik etkilerinin belirlenmesi için kurulan petri denemelerinde hiçbir aday PGPR izolatının patojen gelişimini engelleyemediği saptanmış ve bu nedenle zon oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.24). Yapılan bu çalışma ile hastalık etmeninin gelişiminin engellenmesinde denediğimiz aday PGPR izolatının siderefor ya da antagonistik etki mekanizmasına sahip olmadıkları saptanmıştır.



Şekil 4.24. Aday PGPR izolatının 80 μM FeCl_3 içeren King B besi yerinde *Cmm* 'in gelişimini engelleyememesi.

4.7.4. Çalışmada Kullanılacak Patojen Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Çalışmada virülensliği yüksek bir bölge izolatı olan 3/1A re kodlu izolat kullanılmıştır. Petri sayımlarına göre izolatımızın 600 nm'de 0.2 değerine ait süspansiyonun ml'de 1.1×10^8 hücre yoğunluğunda olduğu saptanmıştır. Bu süspansiyon petri yaymaları ile birlikte eş zamanlı olarak domates fidelerine inokule edilmiştir. İnokulasyondan 1.5 ay sonra yapılan ölçümlerde -6 seyreltmesinde herhangi bir semptom görülmemiştir. -5, -4, ve -3 seyreltmesinde sadece inokulasyon noktasında çok hafif bir renk değişimi gözlenmiş, dışsal semptom saptanmamıştır. -2 seyreltmesinde ise inokulasyon noktasında çok hafif bir renk değişimi ve etrafında koflaşma saptanmış, dışsal semptom gözlenmemiştir. -1 seyreltme ile inokule edilen fidelerde ise dıştan bakıldığında yapraklarda tipik tek taraflı solgunluk semptomu görülmüştür. Bitkinin iç kısmında ise iletim demetlerinde ort. 3.6 cm kahverengilik gözlenmiştir. Hastalık belirtisinin görüldüğü en düşük bakteri konsantrasyonu olan 1/10 seyreltme (1.1×10^7) ileriki çalışmalarda kullanılmıştır.

4.7.5. Aday PGPR'ların Domates'te Bakteriyel Solgunluk Hastalığının Gelişimi Üzerine Etkisi

Aday PGPR'ların domates'te bakteriyel solgunluk hastalığının gelişimi üzerine etkisi tohum, saksı ve tarla çalışması ile araştırılmıştır. Çalışmanın saksı kısmı Ç. Ü. Bitki Koruma Bölümü iklim odasında ve Ç. Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında Mart- Mayıs 2006 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Ç. Ü. Bitki Koruma Bölümü iklim odasında ve Ç. Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında saksı denemesinin görünümü

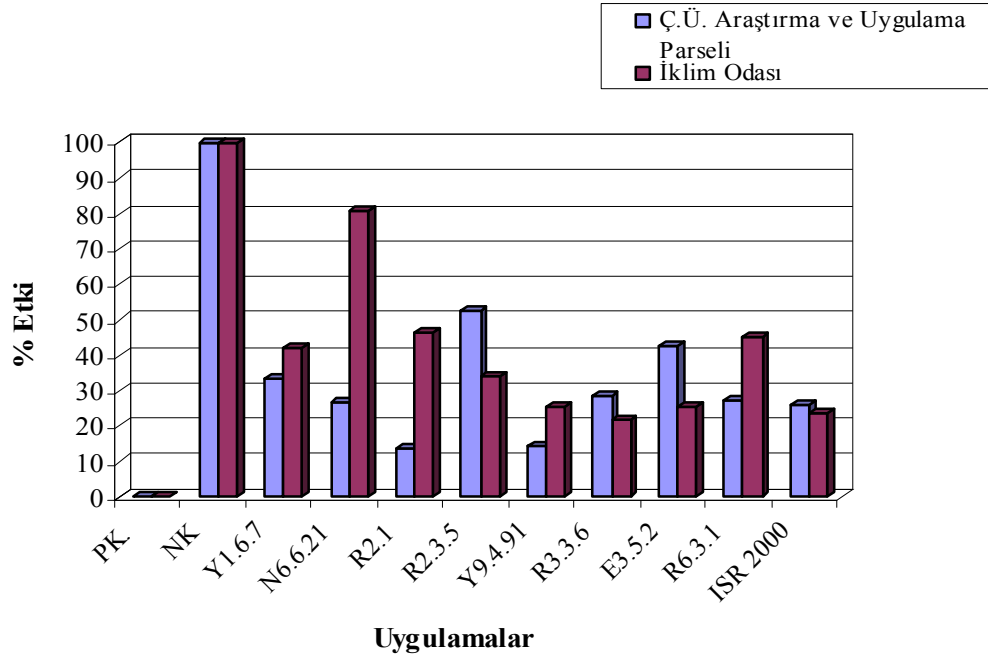
Pozitif kontrol olarak kökleri suya daldırılan ve gövdeden *Cmm* (3/1A kodlu re-izolat) ile bulaştırılan bitkilerde inokulasyondan 32 gün sonra tipik yaprak belirtileri gözlenmeye başlanmıştır. İnokulasyondan 60 gün sonra ise pozitif kontrol bitkilerde gövde belirtileri de gözlenmiş ve değerlendirme yapılmıştır. Uygulamalarımızın *Cmm* üzerine etkisine baktığımız zaman N6.6.21 kodlu PGPR izolatının Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parselinde kurulan denemede %80.5 gibi büyük bir oranda hastalığı baskıladığını görmekteyiz. Aynı uygulama iklim odasında kurulan denemede ise hastalık çıkışını %26.4 oranında baskılamıştır. İklim odasında hastalığı engellemede en yüksek başarıyı gösteren izolat ise %52.3'lik oran ile Y6.4 izolatı olmuştur. Aynı izolatın Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parselinde yapılan denemede %34.1 oranında hastalığı baskıladığı

saptanmıştır. *Cmm*’i baskılamada en zayıf kalan izolatlar ise Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parselinde yapılan denemede %21.5’lik sonuç ile R3.3.6 izolatı olurken, iklim odasında yapılan denemede ise %13.9 ile R2.1 izolatı olarak karşımıza çıkmaktadır. Negatif kontrol olarak hiçbir uygulama yapılmayan bitkilerde ise herhangi bir hastalık simptomsu gözlenmemiştir (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.26).

Çizelge 4.11. PGPR izolatlarının saksı çalışmasında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme oranları

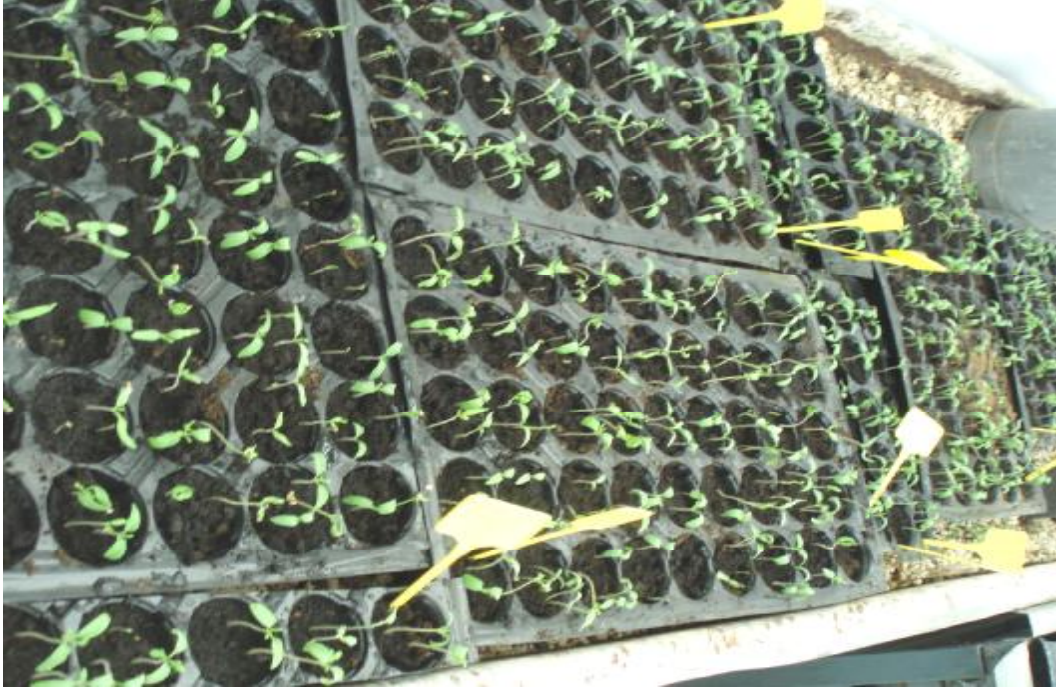
Uygulamalar	Saksı Çalışması			
	İklim odası		Araştırma ve Uygulama Parseli	
	İletim Demetlerinde lezyon boyu (cm)*	% Etki	İletim Demetlerinde lezyon boyu (cm)*	% Etki
Pozitif Kont.	5.6 ^a	0.0	6.8 ^a	0.0
Negatif Kont.	0.0 ^e	100.0	0.0 ^f	100.0
Y1.6.7	3.7 ^{bcd}	33.3	3.9 ^{cd}	42.2
N6.6.21	4.1 ^{bc}	26.5	1.3 ^e	80.5
R2.1	4.8 ^{ab}	13.9	3.6 ^d	46.2
Y6.4	2.7 ^d	52.3	4.5 ^{bcd}	34.1
Y9.4.91	4.8 ^{ab}	14.2	5.0 ^{bc}	25.6
R3.3.6	4.0 ^{bc}	28.5	5.3 ^b	21.5
E3.5.2	3.2 ^{cd}	42.6	5.0 ^{bc}	25.6
R6.3.1	4.1 ^{bc}	27.0	3.7 ^d	44.9
ISR 2000	4.1 ^{bc}	26.1	5.2 ^{bcd}	23.7

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).



Şekil 4.26.Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının sakslı koşullarında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme yeteneği

Cmm ile bulaşık domates tohumlarından gelişen fidelerin iletim demetlerinde birinci denemede ortalama 3.5 cm, ikinci denemede ise ortalama 4.9 cm kahverengileşme ölçülmüştür. ISR 2000 uygulaması hastalığı sırası ile %14 ve %33 oranında baskılamıştır. Yapılan uygulamalar arasında en iyi sonucu hastalığı birinci denemede %46, ikinci denemede ise %39 oranında engelleyen Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması göstermiştir. Denemeye üçüncü aday PGPR olarak katılan Y6.4 kodlu izolat hastalık gelişimini birinci denemede %6, ikinci denemede ise %29 oranında engellemiştir. Fakat bu izolatın diğer iki aday PGPR izolatı ile girdiği kombinasyonlarda hastalık engelleme oranını önemli ölçüde düşürdüğü gözlenmiştir (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.29). Şekil 4.27’de tohum denemesinin genel görünümü, Şekil 4.28’de ise pozitif kontrolde hasta domates fidesi yer almaktadır. Romero ve ark., (2003) yaptıkları bir çalışmada cherry çeşidi domates tohumlarını PGPR ile muamele ettiklerinde domates fidelerinin bakteriyel solgunluk hastalığına karşı daha dayanıklı olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar sonuçta domateslerde bakteriyel solgunluk hastalığının kontrolünde PGPR’ların kullanılabileceğini bildirmişlerdir.



Şekil 4.27. İklim odasında tohum denemesinin genel görünümü

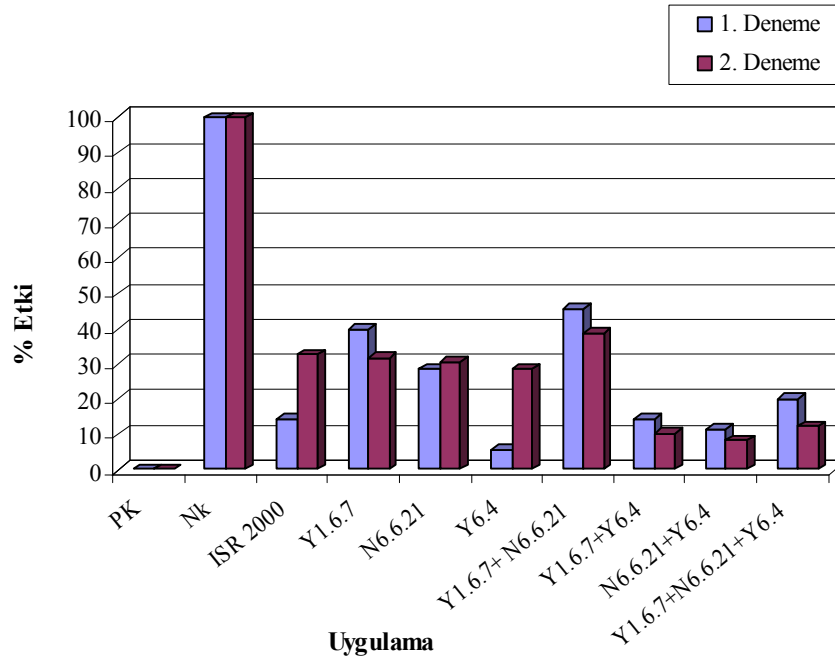


Şekil 4.28. Pozitif kontrolde hasta domates fidesinin görünümü

Çizelge 4.12. PGPR izolatlarının tohumda domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme oranları

Uygulamalar	Tohum Çalışması			
	1. Deneme		2. Deneme	
	İletim Demetlerinde lezyon boyu (cm)*	% Etki	İletim Demetlerinde lezyon boyu (cm)*	% Etki
Pozitif Kontrol	3.5 ^a	0.0	4.9 ^a	0.0
Negatif Kontrol	0.0 ^c	100.0	0.0 ^d	100.0
ISR2000	3.0 ^{ab}	14.3	3.3 ^{bc}	32.7
Y1.6.7	2.1 ^{ab}	40.0	3.1 ^{ab}	31.6
N6.6.21	2.5 ^{ab}	28.6	3.4 ^{ab}	30.6
Y6.4	3.3 ^{ab}	5.7	3.5 ^{bc}	28.6
Y1.6.7+N6.6.21	1.9 ^b	45.7	3.0 ^c	38.8
Y1.6.7 + Y6.4	3.0 ^{ab}	14.3	4.4 ^{ab}	10.2
N6.6.21 + Y6.4	3.1 ^{ab}	11.4	4.5 ^{ab}	8.2
Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4	2.8 ^a	20.0	4.3 ^{ab}	12.2

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

**Şekil 4.29.** Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının domates tohumlarında bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme yeteneği

Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama parselinde 2006 ve 2007 yıllarında kurulan iki yıllık tarla denemelerinde (Şekil 4.30-4.33) birinci yılda pozitif kontrolde iletim demetlerinde lezyon boyu ortalaması 40.2 cm iken ISR 2000 uygulamasında bu oran %33.8'lik etkinlikle %26.6 cm'e düşmüştür. PGPR uygulanan bitkilerde ise iletim demetlerinde lezyon boyu Y1.6.7 kodlu izolatta 19.9 cm. N6.6.21 kodlu izolatta 20.1 cm. ikisinin kombinasyonu ile yapılan uygulamada ise 20.1 cm olarak belirlenmiştir. En etkili uygulama ise hastalık şiddetini %50.6 oranında azaltan Y1.6.7 izolatında saptanmıştır. N6.6.21 uygulaması hastalığı %50.1 Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması da %50.0 oranında hastalık gelişimini engellemiştir. Tarla çalışmalarının ikinci yılında ise pozitif kontrol bitkilerde ortalama 23.3 cm iletim demetlerinde lezyon boyu saptanırken Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması da bu rakam 15 cm'e düşmüş ve uygulamanın hastalık gelişimini %35.8 oranında baskıladığı saptanmıştır. Y1.6.7 ve N6.6.21 izolatlarının hastalık gelişimini %28.3 oranında engellerken, ISR 2000 uygulamasının %22.9 oranında etkinlik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.13. ve Şekil 4.34). Yapılan istatistiki analizler sonucunda uygulamaların hepsinin pozitif kontrolden farklı olduğu bulunmuştur.

Doğal koşullar altında iki kez tekrar edilen deneme sonuçlarına göre denenen iki PGPR izolatı (Y1.6.7 ve N6.6.21) ve kombinasyonları domates bakteriyel solgunluk hastalığını baskı altına almada başarılı olmuştur. Özellikle birden çok izolat karışımının tekli uygulamalardan daha etkin sonuçlar verdiği Romero ve ark., (2003) ile Anith ve ark., (2004) tarafından yapılan çalışmalarda da ortaya konmuştur. Mirik (2005) tarafından yapılan doktora tezinde, PGPR izolatlarının ve kombinasyonlarının biber bakteriyel leke hastalığının şiddetini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Bağlar'da yapılan bir çalışmada ise kök boğazı uru etmeni *Agrobacterium vitis*'i engellemede PGPR'ların rolü araştırılmış ve kullanılan 10 adet PGPR izolatından beşinin ur sayısı, büyüklüğü ve ağırlığını önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Küsek, 2007).



Şekil 4.30. Domates fidelerinin aday PGPR izolatlarına ve ISR 2000 süspansiyonlarına daldırılması



Şekil 4.31. Tarla denemesinden genel bir görünüm



şekil 4.32. Tarla denemesinde hasta domates bitkisi

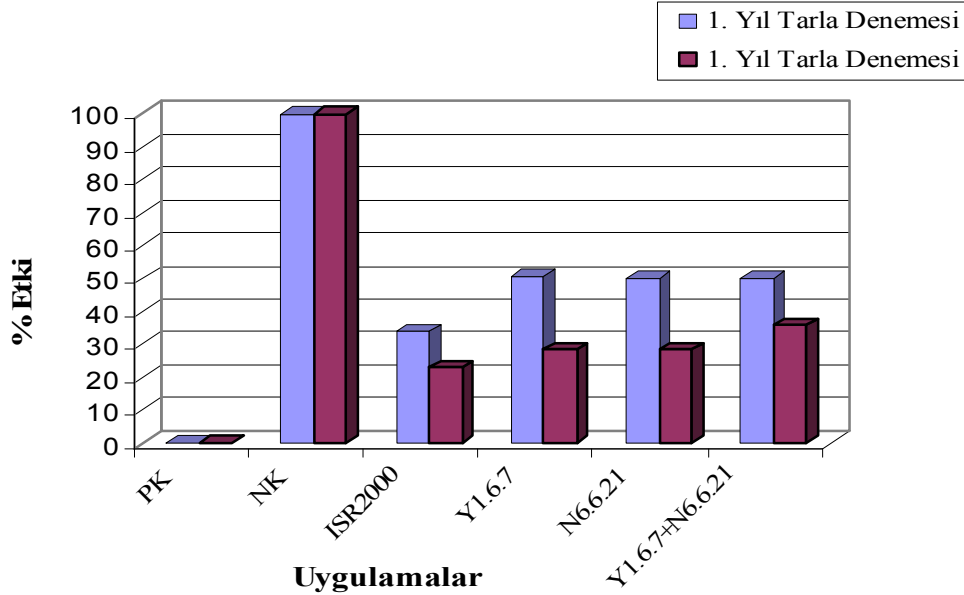


şekil 4.33. Tarla denemesinde enfekteli domates bitkilerinin görünümü

Çizelge 4.13. PGPR izolatlarının tarla çalışmasında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme oranları

Uygulamalar	Tarla Çalışması			
	2006 Tarla		2007 Tarla	
	İletim Demetlerinde lezyon boyu (cm)*	% Etki	İletim Demetlerinde lezyon boyu (cm)*	% Etki
Pozitif Kontrol	40.2 ^a	00.	23.3 ^a	0.0
Negatif Kontrol	0.0 ^d	100.0	0.0 ^d	100.0
ISR2000	26.6 ^b	33.8	18.0 ^b	22.9
Y1.6.7	19.9 ^c	50.6	16.8 ^{bc}	28.3
N6.6.21	20.1 ^c	50.1	16.8 ^{bc}	28.3
Y1.6.7+N6.6.21	20.1 ^c	50.0	15.0 ^c	35.8

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

**Şekil 4.34.** Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarla koşullarında domates bakteriyel solgunluk hastalığını engelleme yeteneği

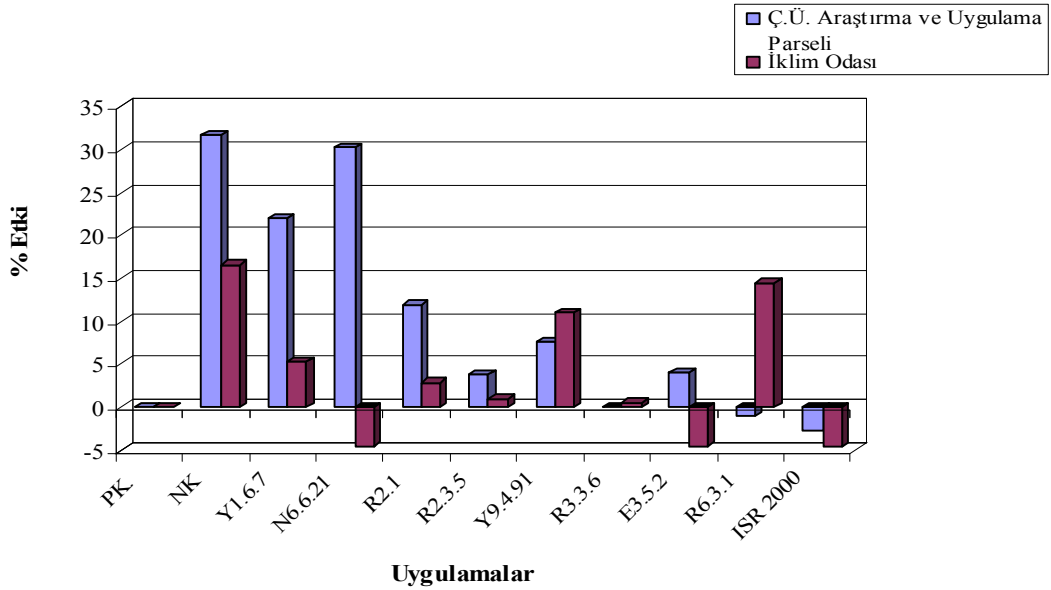
PGPR izolatlarının karıştırılarak kullanımı genellikle sinerjistik etki göstermekte ve hastalığı baskılamada daha etkin bir rol üstlenmektedir. Birden çok biyolojik mücadele etmeninin karıştırılması farklı kontrol mekanizmalarını aktive ederek (siderefor üretimi, antagonistik etki, antibiyotik üretimi vb.) daha çok sayıda hastalık etmenine karşı koruma sağladığı daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Raupach ve Kloepper (1998) hıyarlarda *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ve *Erwinia tracheiphila*'ya karşı iki *Bacillus* ve bir *Curtobacterium flaccumfaciens* izolatını tek tek ve kombine ederek denemişler ve kombinasyonların hastalığı baskılamada daha etkili olduğunu saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde iki PGPR izolatının karışımı hastalığı baskılamada en ümitvar sonucu vermiştir.

4.7.6. Aday PGPR'ların Enfekteli Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi

Saksı Çalışması: Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serası ve iklim odası koşullarında kurulan saksı denemesinde *Cmm* ile enfekteli domates bitkilerinin köklerine daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, dal sayısına, bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler toplu halde Çizelge 4.14 ve 4.15'de gösterilmiştir.

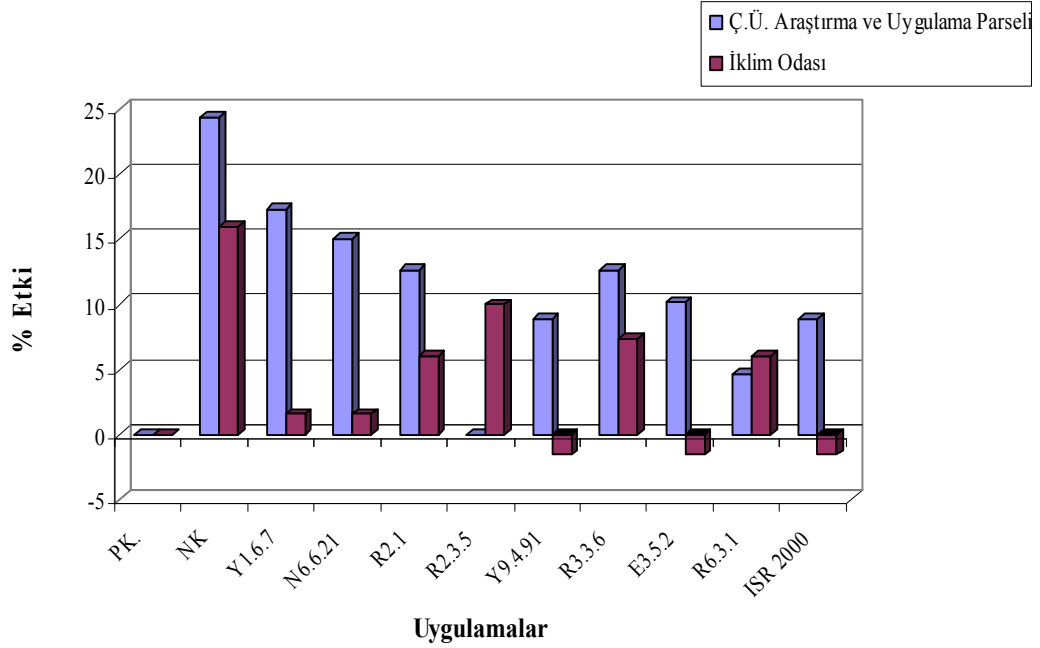
Yapılan saksı denemesinde kökten PGPR uygulamasının domates bitkilerinin bitki boyuna olan etkisi değerlendirilmiştir. Y1.6.7 ve N6.6.21 uygulamaları Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında kurulan denemede bitki boyunu pozitif kontrole göre sırası ile %22 ve %30.3 oranında artırmış ve negatif kontrol ile istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. R3.3.6 R6.3.1 ve ISR 2000 uygulamaları ise negatif bir etki göstermişler ve bitki boyunda pozitif kontrole göre azalmaya neden olmuşlardır. Ç.Ü. Bitki Koruma bölümü iklim odasında kurulan ikinci denemede ise birinci denemeye göre bitki boyunda genel bir düşüş gözlenmiştir. En etkili uygulama %14.5'lik artış ile R6.3.1 uygulaması olarak saptanmış, bunu %10.9'luk artış ile Y9.4.9 uygulaması takip etmiştir. Bu iki uygulama istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. N6.6.21, E3.5.2 ve

ISR 2000 uygulamaları ise bitki boyunu sırası ile %-4.6, %-4.6 ve -%4.7 oranlarında azaltmıştır. Y1.6.7, N6.6.21, R2.1, Y6.4, R3.3.6 ve E3.5.2 uygulamaları istatistiki olarak pozitif kontrolden farksız bulunmuştur (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.35).



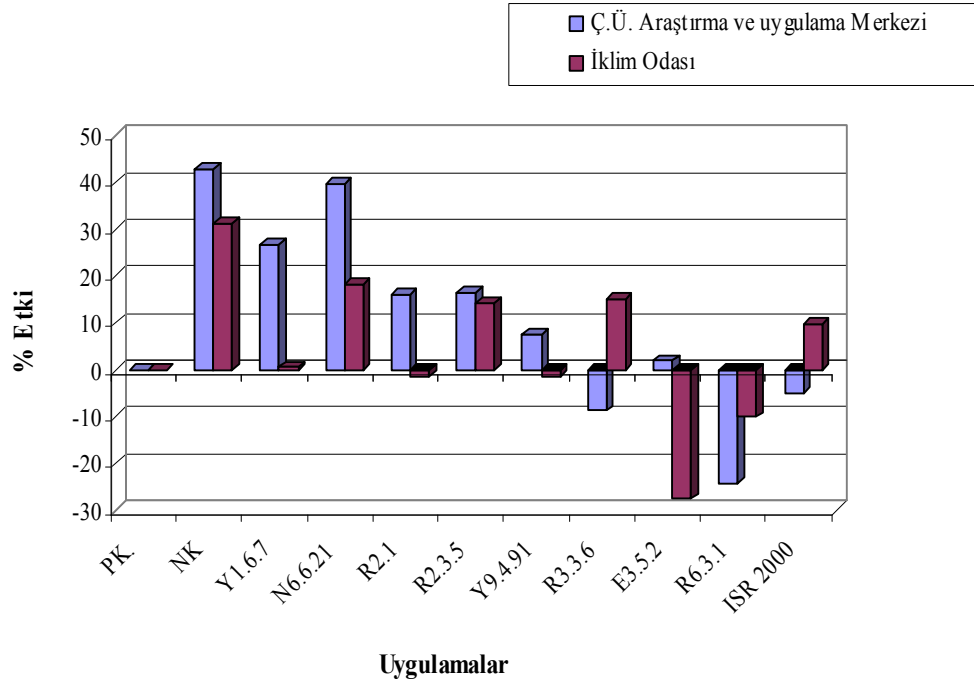
Şekil 4.35. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde bitki boyuna olan etkisi

Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parselinde kurulan saksı çalışmasında gövde çapını artırmada en etkili uygulamanın %17.3'lük artış gösteren Y1.6.7 uygulaması olduğu saptanmıştır. Bu uygulamayı %15.1'lik artış ile N6.6.21 uygulaması takip etmiştir. Uygulamalardan hiç biri gövde çapını negatif yönde etkilemezken bütün uygulamalar istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. İklim odasında kurulan denemede ise Y6.4 uygulaması %10'luk artışa neden olarak en etkili uygulama olarak saptanmış, bunu %6'lık artışla R2.1 ve R6.3.1 uygulamaları takip etmiştir. Bu uygulamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir fark saptanmamıştır. Y9.4.9, E3.5.2 ve ISR 2000 uygulamaları ise gövde çapını %1.6 oranında azaltmış ve istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır (Çizelge 4.14, Şekil 4.36).



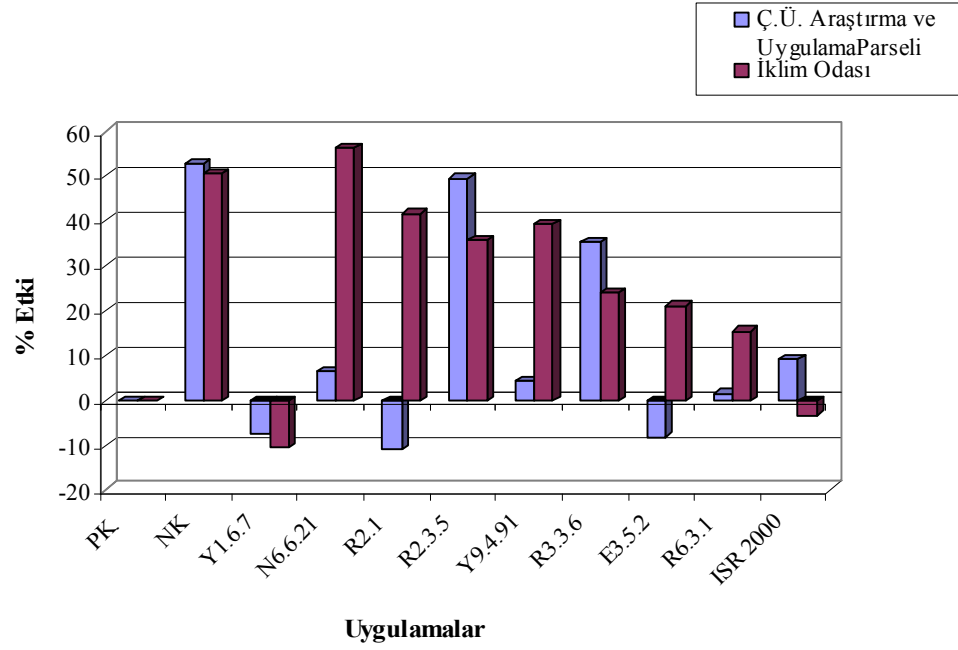
Şekil 4.36. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde gövde çapına olan etkisi

Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parselinde kurulan saksı çalışmasında PGPR uygulamalarının pozitif kontrolle karşılaştırıldığında bitki yaş ağırlığını %2 -39.8 oranında artırdığı saptanmıştır. En iyi sonucu %39.8'lik artışla N6.6.21 uygulaması göstermiştir. Bunu %28.8'lik artışla Y1.6.7 uygulaması göstermiştir. ISR 2000, R3.3.6 ve R6.3.1 uygulamalarında ise negatif bir etki gözlenmiş ve bu uygulamaların sırası ile %4.8, -8.9 ve -24.3 oranlarında bitki yaş ağırlığını azalttığı saptanmıştır. İklim odasında kurulan denemede ise yine N6.6.21 uygulaması %18.2'lik artışa neden olarak en iyi uygulama olarak belirlenmiştir. Bu uygulamayı %15.2'lik artışla R3.3.6 uygulaması izlemiş bu iki uygulamanın istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer aldığı saptanmıştır. R2.1 ve Y9.4.9 (%-10.2 ve %-27.7) uygulamalarının ise bitki yaş ağırlığını pozitif kontrole göre daha da azalttıkları belirlenmiş ve bu uygulamaların istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer aldığı saptanmıştır (Çizelge 4.15, Şekil 4.37).



Şekil 4.37. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde bitki yaş ağırlığına olan etkisi

Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parselinde kurulan saksı çalışmasında bitki kuru ağırlığını artıran en iyi uygulamanın %49.4'lük artışla Y6.4 uygulaması olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı %35.3'lük artış ile R3.3.6 uygulaması takip etmiştir. Y1.6.7, R2.1 ve E3.5.2 uygulamaları ise bitki kuru ağırlığını pozitif kontrole göre sırası ile %-7.3, %-8.2 ve %-10.9 oranında azaltmıştır. İklim odasında kurulan denemede ise N6.6.21 uygulaması %56.3. R2.1 uygulaması %41.7, Y9.4.9 uygulaması %39.2, Y6.4 uygulaması ise %35.8 oranında bitki kuru ağırlığını artırmıştır. ISR 2000 uygulaması %-3.4, Y1.6.7 uygulaması ise %-10.5 oranında azaltmıştır. Tüm uygulamalar kontrole göre istatistiki olarak farklı olarak bulunmuştur. (Çizelge 4.15, Şekil 4.38).



Şekil 4.38. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Çizelge 4.14. PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)			Gövde Çapı (mm)		
	Uygulama Parseli		% Etki	Uygulama Parseli		% Etki
	Serası	Ortalama*		Serası	Ortalama*	
Pozitif Kontrol	16.4 ^d	0.0	12.9 ^{cd}	0.0	0.6 ^f	0.0
Negatif Kontrol	24.0 ^a	31.7	15.4 ^a	24.4	0.8 ^a	16.0
Y1.6.7	21.0 ^{ab}	22.0	13.6 ^c	17.3	0.6 ^b	1.6
N6.6.21	23.0 ^a	30.3	12.3 ^d	15.1	0.6 ^{bc}	1.6
R2.1	18.6 ^{bc}	12.0	13.2 ^{cd}	12.7	0.7 ^{bcd}	6.0
Y6.4	17.1 ^{cd}	3.8	13.0 ^{cd}	0.0	0.7 ^f	10.0
Y9.4.9	17.8 ^{cd}	7.6	14.4 ^b	8.8	0.6 ^{cde}	-1.6
R3.3.6	16.4 ^d	-0.1	12.9 ^{cd}	12.7	0.7 ^{bcd}	7.4
E3.5.2	17.1 ^{cd}	4.0	12.3 ^d	10.1	0.6 ^{cde}	-1.6
R6.3.1	16.2 ^{cd}	-1.1	15.0 ^{ab}	4.6	0.7 ^{cd}	6.0
ISR 2000	16.0 ^e	-2.8	12.3 ^d	8.8	0.6 ^{def}	-1.6

*Şiltun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

Çizelge 4.15. PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinin bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Yaş Ağırlığı (g)			Bitki kuru Ağırlığı (g)		
	Uygulama Parseli		İklim Odası	Uygulama Parseli		İklim Odası
	Serası	% Etki	Ortalama *	Serası	% Etki	Ortalama *
Pozitif Kontrol	6.5 ^{cde}	0.0	5.6 ^{bc}	1.3 ^b	0.0	2.4 ^{def}
Negatif Kontrol	11.4 ^a	43.0	8.2 ^a	2.8 ^a	52.9	4.9 ^{ab}
Y1.6.7	8.9 ^a	26.8	5.7 ^{bc}	1.2 ^b	-7.3	2.2 ^{ef}
N6.6.21	10.8 ^a	39.8	6.9 ^{ab}	1.4 ^b	6.4	5.5 ^a
R2.1	7.7 ^{bcd}	16.0	5.6 ^{bc}	1.2 ^b	-10.9	4.2 ^{abc}
Y6.4	7.8 ^{bc}	16.6	6.6 ^{ab}	2.6 ^a	49.4	3.8 ^{bed}
Y9.4.9	7.0 ^{bcde}	7.7	5.6 ^{bc}	1.4 ^b	4.3	4.0 ^{bc}
R3.3.6	6.0 ^{cde}	-8.9	6.6 ^{ab}	2.0 ^{ab}	35.3	3.2 ^{cde}
E3.5.2	6.6 ^{cde}	2.0	4.4 ^c	1.2 ^b	-8.2	3.1 ^{cde}
R6.3.1	5.2 ^c	-24.3	5.1 ^{bc}	1.3 ^b	1.5	2.9 ^{cdef}
ISR 2000	6.2 ^{de}	-4.8	6.2 ^{abc}	1.5 ^b	9.0	2.3 ^f
						-3.4

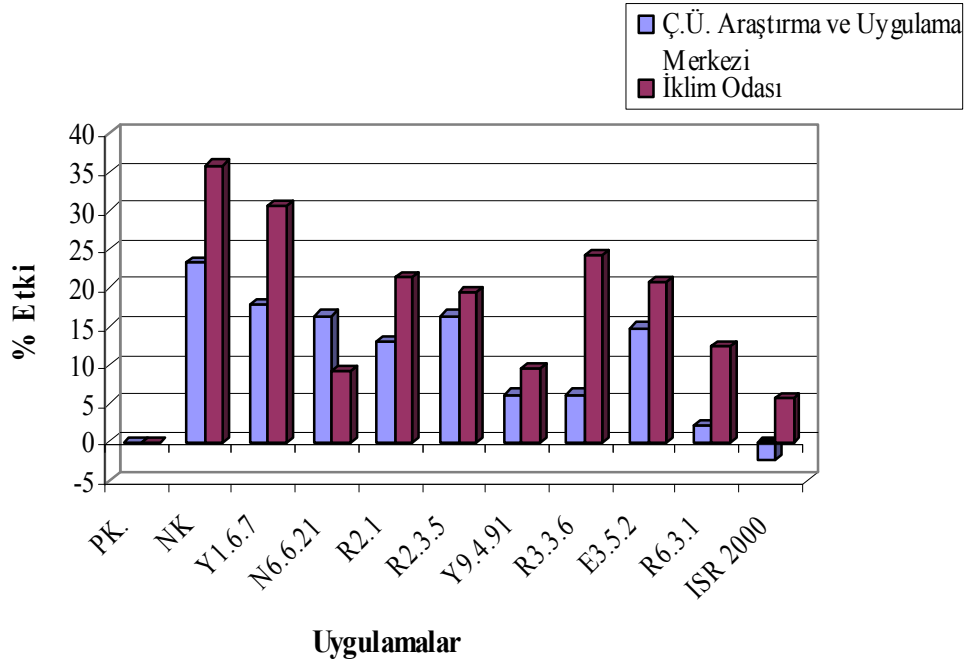
*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

Saksı çalışmasında Y1.6.7 uygulaması dal sayısında %17.8 ve %30.3 ‘lük artış sağlayarak en etkili uygulama olmuştur. Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parselinde N6.6.21 ve Y6.4 uygulamaları %16.4’lük artış ile aynı etkiyi göstermişler. ISR 2000 uygulaması ise %-2.3 oranında dal sayısını azaltmıştır. İklim odasında kurulan ikinci denemede R3.3.6, R2.1, E3.5.2 ve Y6.4 uygulamaları sırası ile %24.3. %21.4. %20.7 ve %19.4’lük artış göstererek Y1.6.7 uygulaması ile istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır. N6.6.21, Y9.4.9, R6.3 ve ISR 2000 uygulamalarının ise pozitif kontrolle aynı grup içerisinde yer alarak uygulamalar arasında farkın istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.39)

Çizelge 4.16. Aday PGPR izolatlarının enfekteli domates bitkilerinin saksıda dal sayısına etkisi

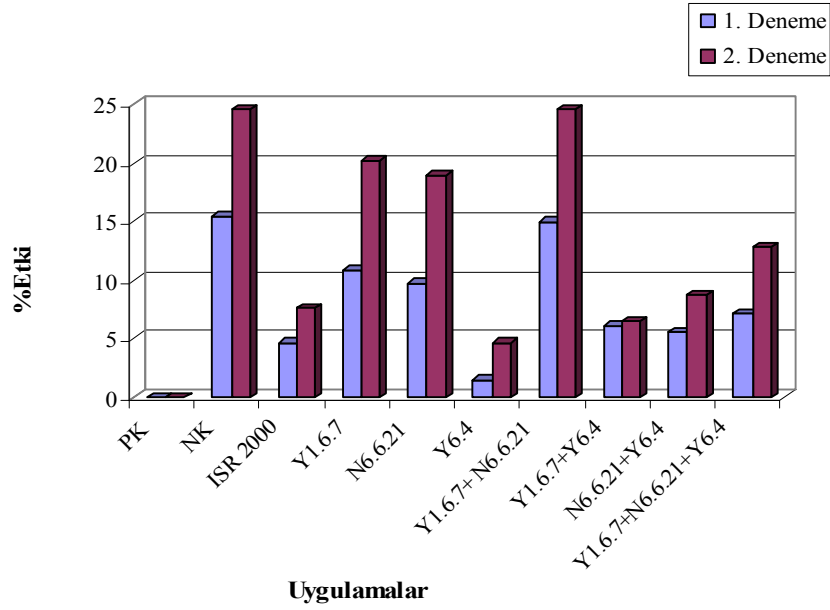
Uygulamalar	Dal Sayısı (Adet)			
	Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli		İklim Odası	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Pozitif Kontrol	7.7 ^a	0.0	8.3 ^e	0.0
Negatif Kontrol	10.0 ^a	23.3	13 ^a	35.9
Y1.6.7	9.3 ^a	17.8	12 ^{ab}	30.6
N6.6.21	9.2 ^a	16.4	9.2 ^{cde}	9.2
R2.1	8.8 ^a	13.1	10.6 ^{bcd}	21.4
Y6.4	9.2 ^a	16.4	10.3 ^{bcd}	19.4
Y9.4.9	8.2 ^a	6.1	9.2 ^{cde}	9.5
R3.3.6	8.2 ^a	6.1	11 ^{bc}	24.3
E3.5.2	9.0 ^a	14.8	10.5 ^{bcd}	20.7
R6.3.1	7.8 ^a	2.0	9.5 ^{cde}	12.3
ISR 2000	7.5 ^a	-2.3	8.9 ^{de}	5.7

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).



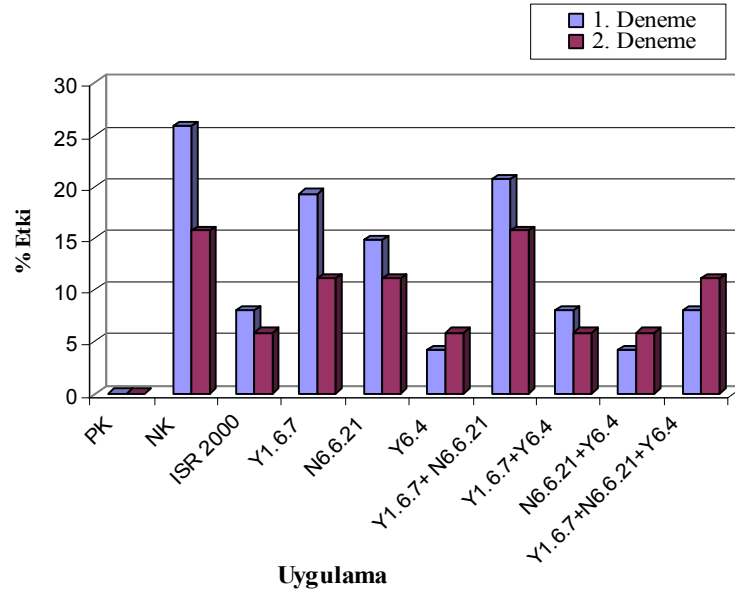
Şekil 4.39. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda enfekteli domates bitkilerinde dal sayısına olan etkisi

Vişol Çalışması: İklim odası koşullarında yapılan vişol çalışmasında *Cmm* ile bulaştırılan domates tohumlarından gelişen fidelerde PGPR izolatlarının ve kombinasyonlarının etkinliği belirlenmiştir. Uygulamaların bitki boyuna olan etkisine baktığımız zaman her iki denemede de en etkili uygulamanın %14.9 ve %20.5 etki gösteren Y1.6.7+ N6.6.21 uygulaması olduğu saptanmış, bu uygulamanın istatistiki olarak diğer uygulamalardan farklı olduğu ve negatif kontrol ile aynı grup içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Bu uygulamayı tekli uygulamalar olan Y1.6.7 (%10.9 ve %20.2) ve N6.6.21 (%9.7 ve %18.9) uygulamalar takip etmiştir. Her iki uygulamada da Y6.4 tekli uygulaması en az artışa neden olmuş ve girdiği kombinasyonlarda uygulamaların etkinliğini düşürdüğü gözlenmiştir. ISR 2000 uygulaması ise bitki boyunda birinci denemede %4.7, ikinci denemede ise %7.6'lık bir artışa neden olmuştur (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.40).



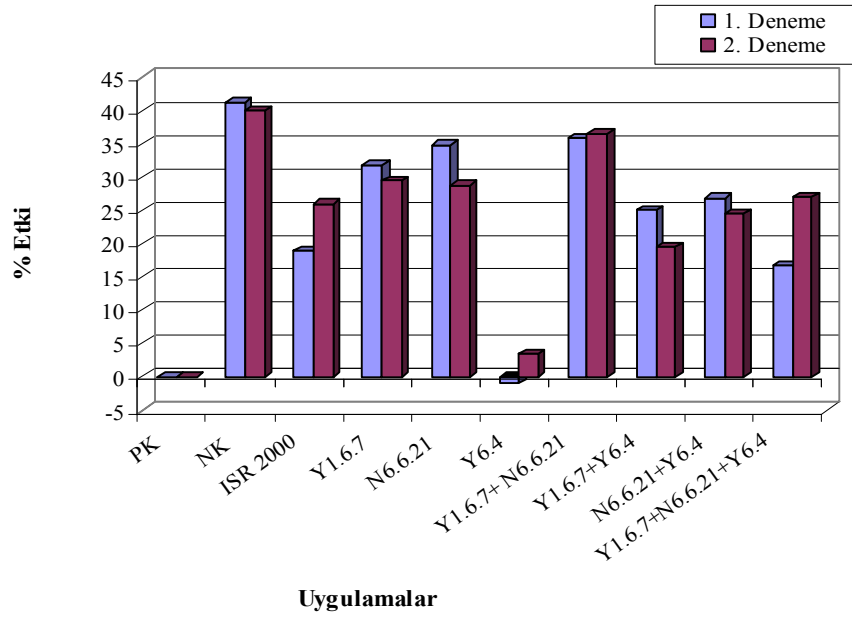
Şekil 4.40. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki boyuna olan etkisi

Viyol çalışmasında PGPR uygulaması yapılan bitkilerin gövde çapları %4.2- 20.7 oranında artmıştır. Her iki uygulamada da Y1.6.7+ N6.6.21 uygulaması gövde çapını %20.7 ile %15.8 oranında artırmıştır. Benzer şekilde bu kombinasyonun tekli uygulamaları da gövde çapında %19.3 ile %11.1 oranında artışa neden olmuştur. ISR 2000 uygulaması ise bitki boyunu %8 ve %5.9 oranlarında artırmıştır. Y6.4 uygulaması ve girdiği kombinasyonlarda diğer uygulamalara göre bir düşüş saptanmıştır. Uygulamalar arasında ise herhangi bir istatistiki fark bulunamamıştır (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.41).



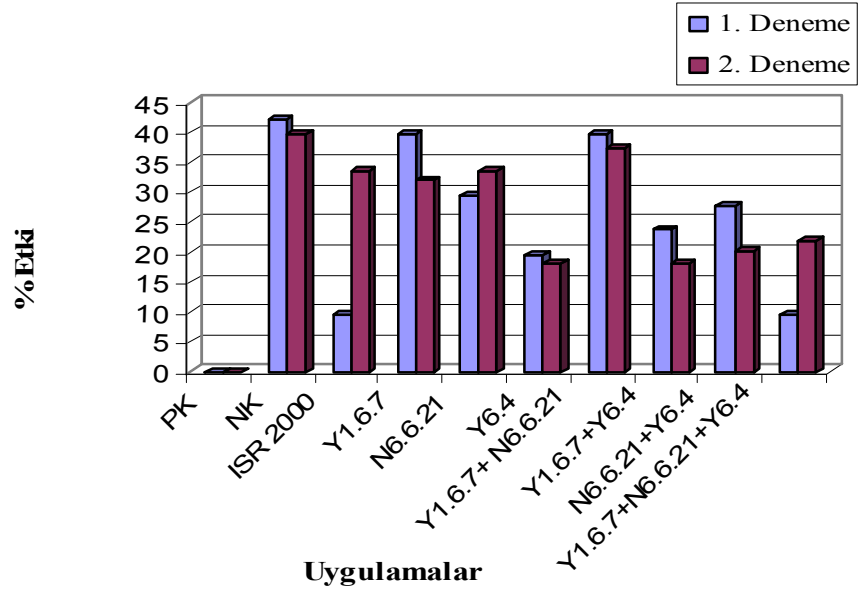
Şekil 4.41. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde gövde çapına olan etkisi

Viyol çalışmasında kurulan birinci ve ikinci denemede bitki yaş ağırlığındaki en etkili ilk üç uygulamanın istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer alan Y1.6.7+ N6.6.21 (%35.8). N6.6.21 (%34.8) ve Y1.6.7 (%31.8) uygulamaları olduğu belirlenmiştir. Y6.4 uygulaması birinci denemede %-1’lik ikinci olarak kurulan denemede ise %-3.4’lük azalma göstermiş ve en başarısız uygulama olarak saptanmıştır. Ayrıca bu uygulama diğer PGPR uygulamaları ile girdiği kombinasyonlarda da tekli uygulamalara göre düşüşe neden olmuştur. ISR 2000 uygulaması ise birinci denemde bitki yaş ağırlığında %18.9. ikinci denemede ise %25.9’luk artışa neden olmuştur. Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4 uygulaması ise istatistiki olarak pozitif kontrol ile aynı grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.42).



Şekil 4.42. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki yaş ağırlığına olan etkisi

Yapılan viyol çalışmasında bitki kuru ağırlığını artıran en iyi uygulamanın birinci denemede %39.6. ikinci denemede ise %37.3 oranıyla yer alan Y1.6.7+N6.6.21 uygulamasının olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı Y1.6.7 ve N6.6.21 uygulamaları takip etmiştir. İstatistiki olarak aynı grup içerisinde yer alan bu üç uygulamada bitki kuru ağırlığını %29.3- 39.6 arasında değişen oranlarda artırmıştır. ISR 2000 uygulaması ise birinci denemede %9.4. ikinci denemede ise %33.3 oranında artış sağlamış ve istatistiki olarak diğer uygulamalardan farksız çıkmıştır (Çizelge 4.18. ve Şekil 4.43)



Şekil 4.43. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Çizelge 4.17. PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen bitkilerin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu(cm)				Gövde Çapı (mm)			
	1. Deneme		2. Deneme		1. Deneme		2. Deneme	
	Ortalama *	% Etki	Ortalama *	% Etki	v	% Etki	Ortalama *	% Etki
Pozitif Kontrol	16,3 ^c	0,0	15,3 ^d	0,0	2,3 ^a	0,0	3,2 ^a	0,0
Negatif Kontrol	19,1 ^a	15,4	20,2 ^a	24,5	3,1 ^a	25,8	3,8 ^a	15,8
ISR 2000	17,1 ^{cde}	4,7	16,5 ^{cd}	7,6	2,5 ^a	8,0	3,4 ^a	5,9
Y1.6.7	18,2 ^{ab}	10,9	19,1 ^{ab}	20,2	2,9 ^a	19,3	3,6 ^a	11,1
N6.6.21	18,0 ^{bc}	9,7	18,8 ^{ab}	18,9	2,7 ^a	14,8	3,6 ^a	11,1
Y6.4	16,5 ^{de}	1,5	16,0 ^{cd}	4,7	2,4 ^a	4,2	3,4 ^a	5,9
Y1.6.7+N6.6.21	19,1 ^a	14,9	20,2 ^a	24,5	2,9 ^a	20,7	3,8 ^a	15,8
Y1.6.7+Y6.4	17,3 ^{bcd}	6,1	16,3 ^{cd}	6,4	2,5 ^a	8,0	3,4 ^a	5,9
N6.6.21+Y6.4	17,2 ^{bcd}	5,5	16,7 ^{cd}	8,7	2,4 ^a	4,2	3,4 ^a	5,9
Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4	17,5 ^{bcd}	7,1	17,5 ^{bc}	12,9	2,5 ^a	8,0	3,6 ^a	11,1

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0,05$).

Çizelge 4.18. PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Yaş Ağırlığı (g)				Bitki Kuru Ağırlığı (g)			
	1. Deneme		2. Deneme		1. Deneme		2. Deneme	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Pozitif Kontrol	3.0 ^b	0.0	3.2 ^b	0.0	0.3 ^c	0.0	0.3 ^a	0.0
Negatif Kontrol	5.1 ^a	41.2	5.2 ^a	39.9	0.5 ^a	42.0	0.5 ^a	39.6
ISR 2000	3.7 ^{ab}	18.9	4.3 ^{ab}	25.9	0.3 ^{abc}	9.4	0.5 ^a	33.3
Y1.6.7	4.4 ^{ab}	31.8	4.5 ^{ab}	29.4	0.5 ^{ab}	39.6	0.5 ^a	31.9
N6.6.21	4.6 ^{ab}	34.8	4.4 ^{ab}	28.7	0.4 ^{abc}	29.3	0.5 ^a	33.3
Y6.4	3.07 ^b	-1.0	3.3 ^{ab}	3.4	0.4 ^{abc}	19.4	0.4 ^a	17.9
Y1.6.7+N6.6.21	4.7 ^{ab}	35.8	5.0 ^{ab}	36.5	0.5 ^{ab}	39.6	0.5 ^a	37.3
Y1.6.7+Y6.4	4.0 ^{ab}	25.0	3.9 ^{ab}	19.4	0.4 ^{abc}	23.7	0.4 ^a	17.9
N6.6.21+Y6.4	4.1 ^{ab}	26.8	4.2 ^{ab}	24.5	0.4 ^{abc}	27.5	0.4 ^a	20.0
Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4	3.6 ^b	16.7	4.3 ^{ab}	26.9	0.3 ^{bc}	9.4	0.4 ^a	22.0

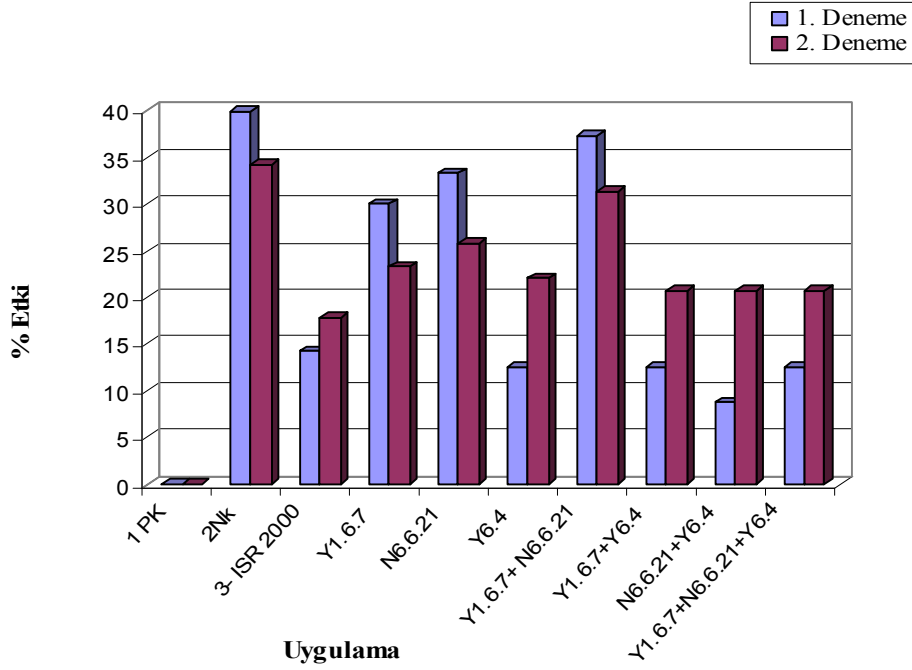
*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

Viyol çalışmasında pozitif kontrol ile karşılaştırıldığı zaman PGPR uygulamaları bitki dal sayısında %8.7-37.3 oranlarında artış meydana getirmiştir. Y1.6.7+ N6.6.21 ikili uygulaması bitki dal sayısında yapılan birinci denemede %37.3, ikinci denemede ise %31.3'lük bir artış ile en etkili uygulama olarak saptanmıştır. İstatistiki olarak incelendiğinde ise bu uygulamanın kontrolden farksız olduğu belirlenmiştir. Diğer uygulamalar ise kontrol ile aynı grupta yer almıştır. ISR 2000 uygulaması ise sırası ile %14.3 ile %17.9 oranında bitki dal sayısında artışa neden olmuştur. Y1.6.7 ve N6.6.21 uygulamaları ise dal sayısında %23.3 ile %33.3 arasında değişen oranlarda artış sağlamışlardır. Y6.4 uygulaması ise hem tekli uygulamalarda en düşük artışı (%12.5 -%22) göstermiş hemde girdiği ikili ve üçlü kombinasyonlarda tekli uygulamalara göre bir azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.42).

Çizelge 4.19. Aday PGPR izolatlarının enfekteli domates bitkilerinin viyolde dal sayısına etkisi

Uygulamalar	Dal Sayısı (Adet)			
	1. Deneme		2. Deneme	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Pozitif Kontrol	4.2 ^c	0.0	4.6 ^a	0.0
Negatif Kontrol	7.0 ^a	40.0	7.0 ^a	34.3
ISR 2000	4.9 ^{abc}	14.3	5.6 ^a	17.9
Y1.6.7	6.0 ^{abc}	30.0	6.0 ^a	23.3
N6.6.21	6.3 ^{abc}	33.3	6.2 ^a	25.8
Y6.4	4.8 ^{abc}	12.5	5.9 ^a	22.0
Y1.6.7+ N6.6.21	6.7 ^{ab}	37.3	6.7 ^a	31.3
Y1.6.7+Y6.4	4.8 ^{abc}	12.5	5.8 ^a	20.7
N6.6.21+Y6.4	4.6 ^{bc}	8.7	5.8 ^a	20.7
Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4	4.8 ^{abc}	12.5	5.8 ^a	20.7

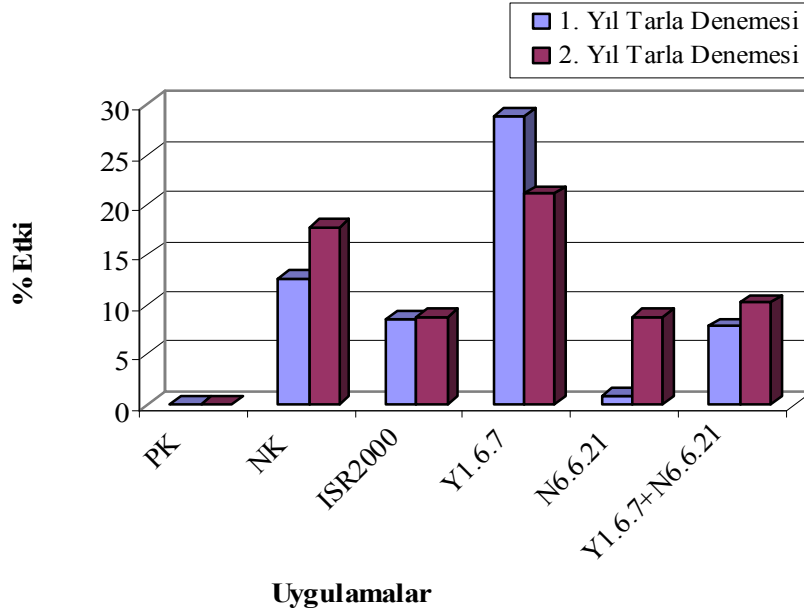
*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).



Şekil 4.44. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde enfekteli domates tohumlarından gelişen fidelerde dal sayısına olan etkisi

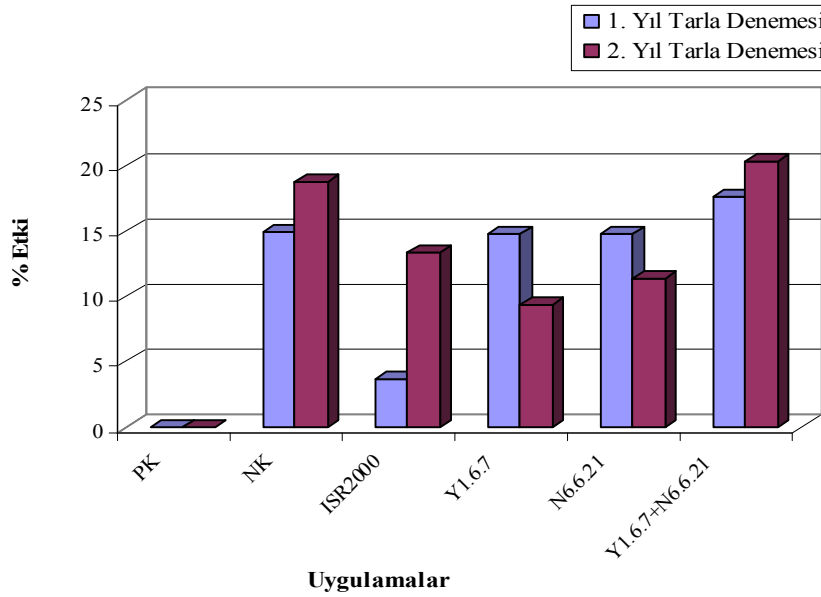
Tarla Çalışması: *Cmm* ile enfekteli domates fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, dal sayısına, kök boyuna ve verime etkisi iki yıl yapılan tarla çalışmaları ile araştırılmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 4.20 ve 4.21’ de toplu olarak gösterilmiştir.

Her iki yıl yapılan çalışmalarda pozitif kontrol bitkilere oranla uygulama yapılan bitkilerde bitki boyu bakımından istatistiki anlamda farklar olduğu ortaya konmuştur. Y1.6.7 kodlu PGPR izolatı birinci yıl tarla denemesinde bitki boyunu %29 ikinci yıl ise %21 oranında artıran en etkili uygulama olmuştur. Bu uygulamanın istatistiki olarak diğer uygulamalardan farklı olduğu belirlenmiştir. ISR 2000 uygulaması ise her iki denemede de %8 artış sağlamıştır. Uygulamaların hiç biri bitki boyunda negatif etki göstermemiştir (Şekil 43, Çizelge 4.20). Saksı çalışmalarında da bitki boyunu en fazla artıran izolatlardan biri olan Y1.6.7 izolatı tarla denemesinde de en etkili izolat olarak belirlenmiştir. Bu sonuç iki yıl yapılan tarla çalışmaları ile de desteklenmiştir.



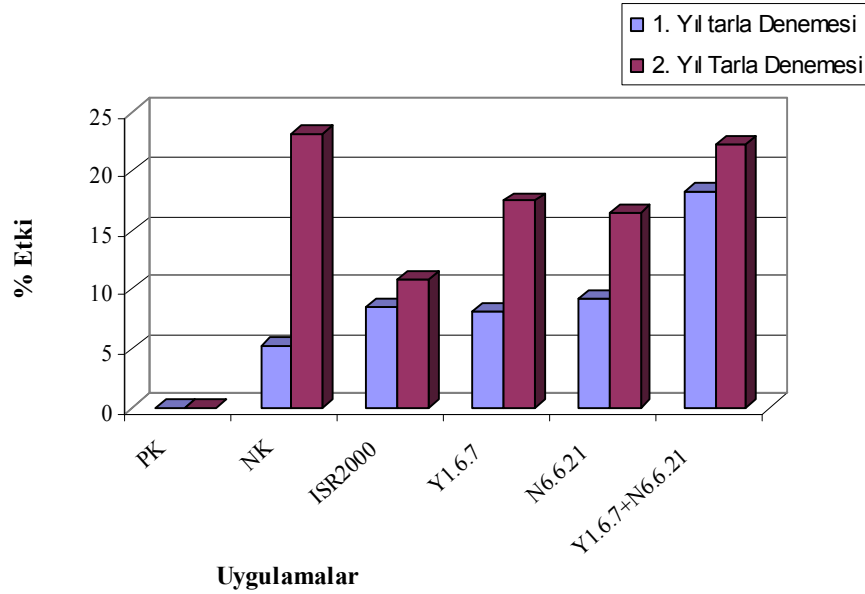
Şekil 4.45. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin bitki boyuna olan etkisi

Tarla koşullarında PGPR uygulamaları enfekteli domates bitkilerinin köklerine uygulandıklarında gövde çapında istatistiki düzeyde önemli bir fark oluşturmamışlardır. Uygulamalar gövde çapında %3.7 ile 20.4 arasında değişen oranlarda artış sağlamıştır. Y1.6.7+ N6.6.21 uygulaması 2006 yılında %17.6. 2007 yılında ise %20.4'lük bir artış sağlayan en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Birinci yıl yapılan tarla denemesinde ISR 2000 uygulaması en az artış gösteren uygulama (%3.7) olurken, ikinci yıl Y1.6.7 uygulaması (%9.3) en az artış sağlayan uygulama olmuştur. (Şekil 4.44, Çizelge 4.20). Yapılan ilk saksı çalışmasının sonuçlarına baktığımız zaman tarla çalışması ile birbirini desteklediğini görmekteyiz. İkinci saksı çalışmasında ise izolatlarımız bitki gövde çapında daha düşük oranda artış oluşturmıştır.



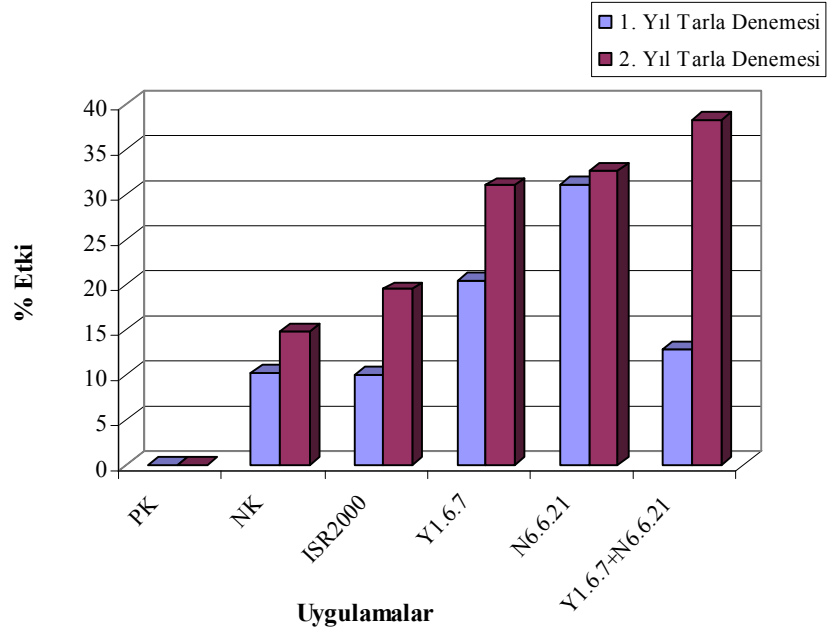
Şekil 4.46. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin gövde çapına olan etkisi

Köklerden yapılan uygulamalar tarla koşullarında bitki dal sayısında ilk yıl %8.2-18.4. ikinci yıl ise %10.8-22.4 oranında artışa neden olmuştur. Y1.6.7 + N6.6.21 ikili karışımının bitki dal sayısını artıran en etkili uygulama olduğu saptanmıştır. Y1.6.7, N6.6.21 ve ISR 2000 uygulamaları 2006 yılında yapılan denemede sırası ile %8.5. %8.2 ve 9.2, ikinci yılda ise %10.8. %17.5 ve %16.5 oranında bitki dal sayısında pozitif kontrole göre artış göstermişlerdir. İstatistiki olarak uygulamalar ile pozitif kontrol arasında fark olduğu saptanmış ve tüm uygulamalar etkili olarak belirlenmiştir (Şekil 4.45, Çizelge 4.21).



Şekil 4.47. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin dal sayısına olan etkisi

PGPR uygulaması tarla koşullarında ilk yıl kök boyunda %10.18-31.09. ikinci yıl ise %14.7-38.3 oranında artış oluşturmuştur. 2006 yılında yapılan çalışmada en etkili uygulamalar N6.6.21 (%31.1) ve Y1.6.7 (%20.4) olarak saptanmıştır. İstatistiki olarak da aynı grup içerisinde yer alan ve pozitif kontrolden farklı olan bu iki uygulama kök boyunu artırmada oldukça etkili sonuç vermiştir. ISR 2000 uygulaması ise bitki boyunu %10.2 oranında artırmış ve Y1.6.7 + N6.6.21 ve pozitif kontrol ile aynı istatistiki grup içerisinde yer almıştır. 2007 yılında kurulan ikinci tarla denemesinde ise Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu %11.8 artış ile en etkili uygulama olup istatistiki olarak da diğer bütün uygulamalardan farklı bir gruba yerleşmiştir. Bu uygulamayı aynı istatistiki grup içerisinde yer alan N6.6.21 (%10.8) ve Y1.6.7 (%10.2) uygulamaları takip etmiştir. ISR 2000 uygulaması ise negatif kontrol ile aynı istatistiki grup içerisinde yer almış ve pozitif kontrolden farklı bulunmuştur (Şekil 4.46; Çizelge 4.21).



Şekil 4.48. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin kök boyuna olan etkisi

Çizelge 4.20. PGPR izolatlarının tarla koşullarında enfekteli domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)			Gövde Çapı (mm)		
	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2		Tarla Denemesi 2	
	Ort.*	% Etki	Ort.*	% Etki	Ort.*	% Etki
Pozitif Kontrol	100.1 ^b	0.0	77.5 ^c	0.0	11.7 ^b	9.8 ^b
Negatif Kontrol	114.6 ^{ab}	12.6	94.3 ^{ab}	17.8	13.7 ^a	12.0 ^a
ISR 2000	109.5 ^{ab}	8.6	85.0 ^{bc}	8.8	12.1 ^a	11.3 ^a
Y1.6.7	140.9 ^a	29.0	98.3 ^a	21.1	13.7 ^a	10.8 ^{ab}
N6.6.21	101.1 ^b	0.9	85.0 ^{bc}	8.8	13.7 ^a	11.0 ^{ab}
Y1.6.7 + N6.6.21	108.6 ^{ab}	7.8	86.2 ^{bc}	10.1	14.2 ^a	12.2 ^a

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

Çizelge 4.21. PGPR izolatlarının tarla koşullarında enfekteli domates bitkilerinin dal sayısı ve kök boyuna olan etkisi

Uygulamalar	Dal Sayısı (Adet)			Kök Boyu (cm)		
	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2		Tarla Denemesi 2	
	Ort.*	% Etki	Ort.*	% Etki	Ort.*	% Etki
Pozitif Kontrol	13.3 ^b	0.0	16.5 ^c	0.0	8.2 ^c	7.3 ^d
Negatif Kontrol	15.1 ^{ab}	5.23	21.5 ^a	23.3	9.9 ^{bc}	8.5 ^c
ISR 2000	15.7 ^{ab}	8.6	18.5 ^{bc}	10.8	9.8 ^{bc}	9.0 ^c
Y1.6.7	15.6 ^{ab}	8.2	20.0 ^{ab}	17.5	11.1 ^{ab}	10.5 ^b
N6.6.21	15.8 ^{ab}	9.2	19.8 ^{ab}	16.5	12.8 ^a	10.8 ^b
Y1.6.7 + N6.6.21	17.6 ^a	18.4	21.3 ^a	22.4	10.1 ^{bc}	11.8 ^a

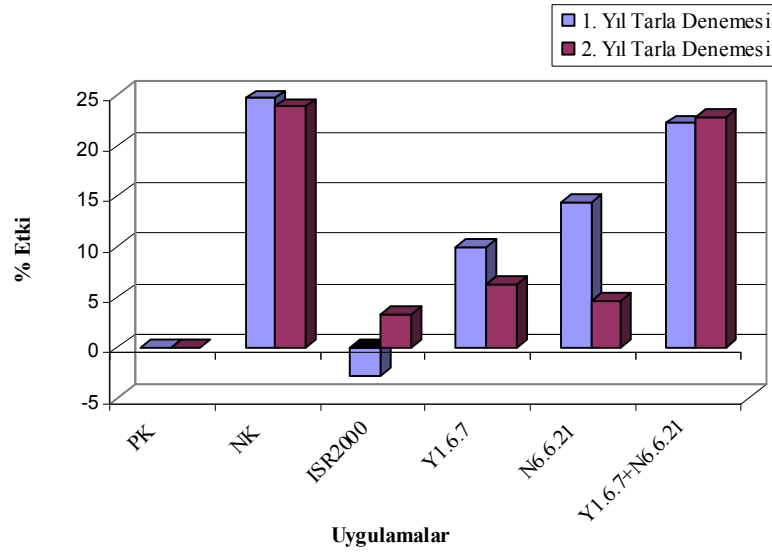
*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

2006 yılında kurulan ilk tarla denemesinde en etkili uygulamanın tarla verimini %22.2 oranında artıran Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu olduğu saptanmış ve bu uygulama istatistiki olarak da farklı bir grup içerisinde yer almıştır. Bu kombinasyonun tek uygulamaları olan N6.6.21 verimi %14.4, Y1.6.7 ise %9.9 artırmıştır. ISR 200 uygulamasında ise tersi bir durum gözlenmiş ve pozitif kontrole göre %-2.8'lik bir azalma saptanmıştır. 2007 yılında kurulan ikinci tarla denemesinde ise yine Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması %22.8'lik verim artışı ile en etkili uygulama olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak diğer uygulamalardan farklı bir grupta yer almıştır. Bu uygulamayı verimde %6.3 artış sağlayan Y1.6.7 ile %4.6 artış sağlayan N6.6.21 kodlu izolatlar takip etmiştir. ISR 2000 uygulaması ise verimde %3.3'lük bir artışa neden olmuştur. Son üç uygulama pozitif kontrolden istatistiki olarak farklı fakat birbirleri ile aynı grup içerisinde yer almışlardır (Şekil 4.47, Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Köklere daldırma şeklinde uygulanan aday PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates bitkilerinde verime olan etkisi

Uygulamalar	Verim (kg)			
	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Pozitif Kontrol	2.6 ^{bc}	0.0	2.1 ^c	0.0
Negatif Kontrol	3.4 ^a	24.7	2.7 ^a	23.9
ISR 2000	2.5 ^c	-2.8	2.1 ^{bc}	3.3
Y1.6.7	2.8 ^{bc}	9.9	2.2 ^b	6.3
N6.6.21	3.0 ^{ab}	14.4	2.2 ^{bc}	4.6
Y1.6.7 + N6.6.21	3.3 ^a	22.2	2.7 ^a	22.8

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).



Şekil 4.49. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında enfekteli domates fidelerinin verimine olan etkisi

Ç.Ü Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Parseli serasında yürütülen saksı çalışmasında kontrol olarak kökleri suya daldırılan. patojenin gövdeden inokule edildiği kontrol bitkilerle. ISR 2000 ve PGPR izolatlarının bitki büyümesine olan etkisine bakıldığında en etkili uygulamalar; bitki boyunda %30.3 ile N6.6.21, gövde çapında %17.3 ile Y1.6.7, bitki yaş ağırlığında %39.8 ile Y6.4, bitki kuru ağırlığında %49.4 ile Y6.4 ve dal sayısında ise %17.8 ile Y1.6.7 olarak saptanmıştır.

Ç.Ü. Bitki Koruma Bölümü iklim odasında kurulan ikinci saksı denemesinde ise bitki boyunda %14.5 ile R6.3.1, gövde çapında %10 ile Y6.4, bitki yaş ağırlığında %18.2 ile N6.6.21, bitki kuru ağırlığında %56.3 ile N6.6.21 ve dal sayısında ise %30.6 ile Y1.6.7 en etkili uygulamalar olarak belirlenmiştir.

Ç.Ü. Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında kurulan iki viyol denemesinde de Y1.6.7 + N6.6.21 ikili kombinasyonu bütün uygulamalarda en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması sırası ile bitki boyunda %14.9 ile %24.5, gövde çapında %20.7 ile %15.8, bitki yaş ağırlığında %35.8 ile %36.5, bitki kuru ağırlığında %39.6 ile % 373 ve dal sayısında %37.3 ile %31.3 artış oluşturmuştur.

Ç.Ü Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Parselinde 2006 yılında kurulan tarla denemesinde bitki boyunda %29.9 ile Y1.6.7, gövde çapında %17.6 ile Y1.6.7 + N6.6.21, dal sayısında %18.4 ile Y1.6.7 + N6.6.21, kök boyunda %31.1 ile N6.6.21 ve verimde %22.2 ile Y1.6.7 + N6.6.21 uygulamaları en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. 2007 yılında kurulan ikinci tarla denemesinde ise bitki boyunda %21.2 ile Y1.6.7, gövde çapında %20.4 ile Y1.6.7 + N6.6.21, dal sayısında %22.4 ile Y1.6.7 + N6.6.2, kök boyunda %38.3 ile Y1.6.7 + N6.6.21 ve verimde %22.8 ile Y1.6.7 + N6.6.21 en etkili uygulamalar olmuştur.

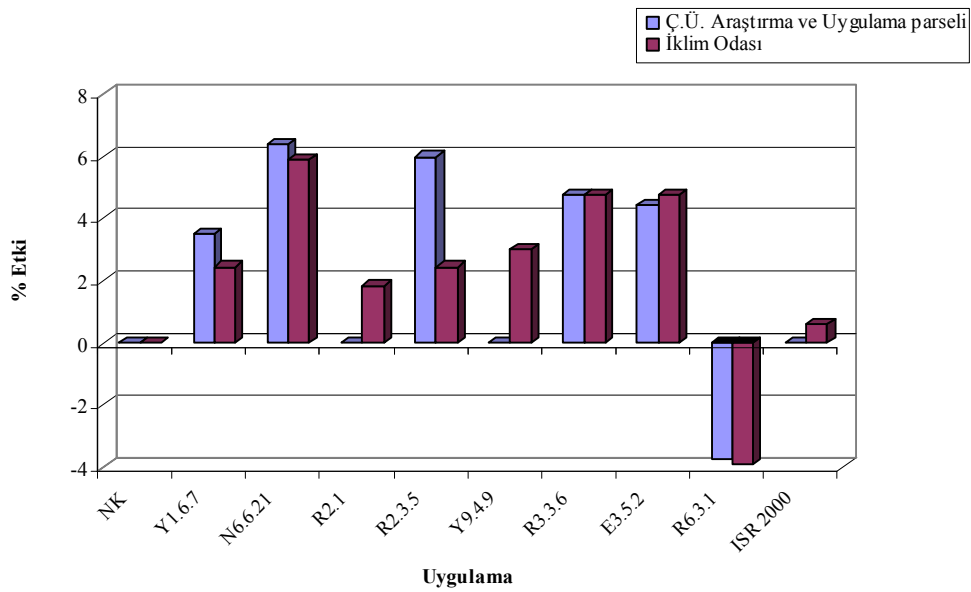
Doğal koşullar altında iki yıl tekrar edilen tarla denemelerinin sonuçları saksı ve viyol çalışmaları ile paralellik göstermiştir. Y1.6.7 ve N6.6.21 domatestte bitki büyümesini teşvik eden başarılı izolatlar olarak belirlenmiştir. Bu iki izolatın kombine olarak kullanıldığı uygulamaların bir çoğunda kombinasyon tekli uygulamalardan daha iyi sonuç vermiştir. Utkhede ve Koch (2004) domateslerde yaptıkları çalışmada *Cmm*'e karşı *Bacillus* ve *Trichoderma* türlerini içeren çeşitli uygulamalar yapmışlar bunların hastalık şiddetini %54 ile %74 oranında azalttığını saptamışlardır. Mirik (2005) *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria* ile bulaşık biberlerde yaptığı çalışmada PGPR'ların bitki gelişimini değişik oranlarda artırdığını bildirmektedir

4.7.7. Aday PGPR'ların Sağlıklı Domates Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi

Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serası ve iklim odası koşullarında kurulan saksı denemesinde sağlıklı domates bitkilerinin köklerine daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna. gövde çapına. dal sayısına. bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.23, 4.24 ve 4.25'de gösterilmiştir.

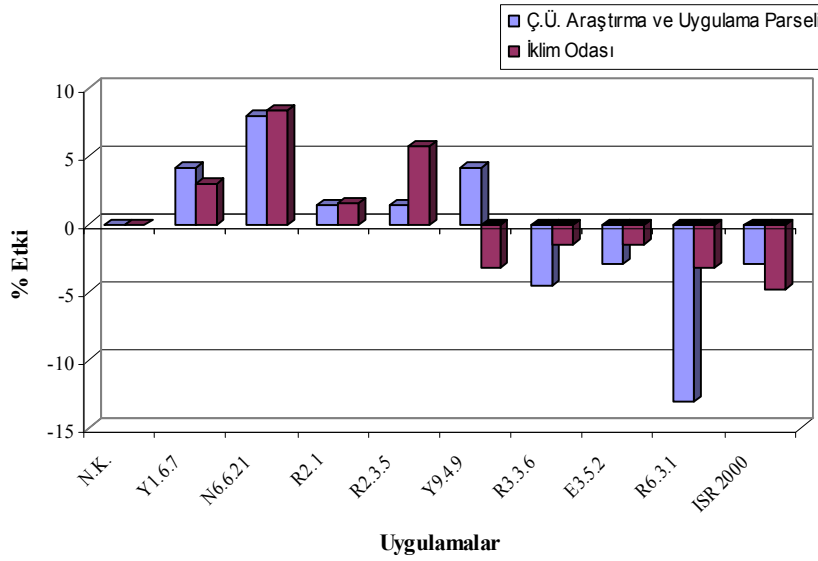
Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serası kurulan saksı denemesinde izolatların sağlıklı bitkide, bitki boyuna olan etkilerine baktığımız zaman en etkili uygulamaların bitki boyunu sırası ile %6.4 ve %6 oranında artıran N6.6.21 ve R3.3.5 uygulamalarında elde edildiği görülmüştür. Bunu %4.8 ile R3.3.6 uygulaması takip etmiştir. Bütün uygulamalar istatistiki olarak aynı grup

içerisinde yer alırken sadece bitki boyunu %-3.8 oranında azaltan R6.3.1 uygulaması farklı bir grup içerisinde yer almıştır. İklim odasında kurulan saksı denemesinde ise birinci denemeye paralel olarak N6.6.21 uygulaması bitki boyunu %5.9 artırarak birinci sırada yer almış, bunu %4.8’lik artışa neden olan R3.3.6 ve E3.5.2 uygulamaları izlemiştir. R6.3.1 uygulaması ise bitki boyunda %-3.9’luk azalma ile diğer uygulamalardan istatistiki olarak farklı tek uygulama olmuştur (Şekil 4.48, Çizelge 4.23).



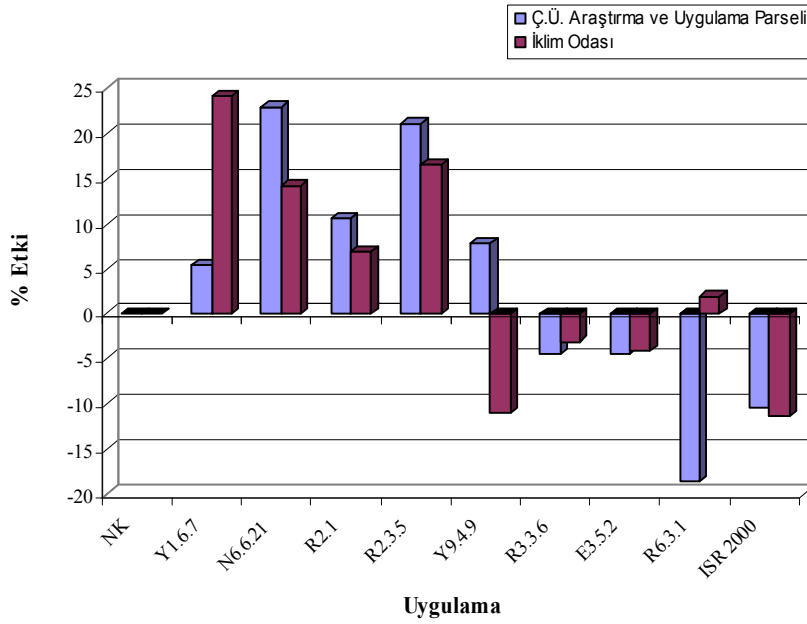
Şekil 4.50. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki boyuna olan etkisi

Saksı çalışmasında N6.6.21 uygulaması hem Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında hem de iklim odasında kurulan denemelerde sırası ile %8.0 ve %8.5’lik artış sağlayarak en etkili uygulama olmuştur. Bu uygulamayı Ç.Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında Y1.6.7 (%4.1), iklim odasında kurulan denemede ise Y6.4 (%5.8) uygulaması takip etmiştir. Y9.4.9 uygulaması birinci denemede gövde çapında %4.2 oranında artışa neden olurken, ikinci denemede tersi bir etki göstermiş ve %-3.2 oranında azalmaya neden olmuştur. R3.3.6, E3.5.2, R6.3.1 ve ISR 2000 uygulamalarında yer alan bitkilerin her iki denemede de kontrol bitkilere göre gövde çapında herhangi bir artışa neden olmadıkları hatta tam tersine azalmaya neden oldukları saptanmıştır (Şekil 4.49, Çizelge 4.23).



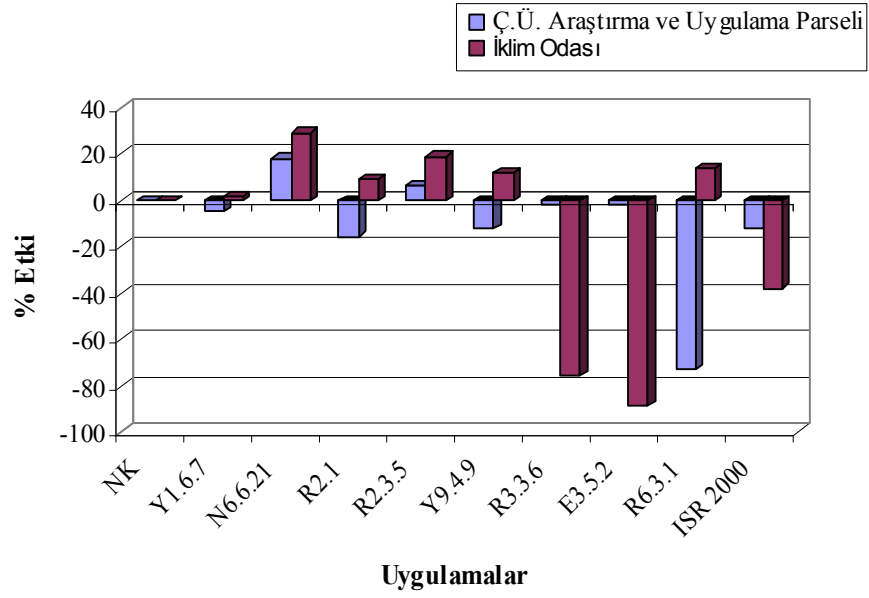
Şekil 4.51. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki gövde çapına olan etkisi

Saksı çalışmasında kontrolle kıyaslandığı zaman N6.6.21 uygulaması Ç. Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında kurulan denemede bitki yaş ağırlığında %22.9'luk bir artış sağlayarak ilk sırada yer almıştır. Y6.4 uygulaması ise %21.1 oranında artışa neden olarak N6.6.21 uygulaması ile istatistiki olarak aynı grupta yer alarak diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur. İklim odasında kurulan denemede ise Y1.6.7 uygulaması %24.2'lik bir artış göstermiş olup diğer uygulamalardan istatistiki olarak farklı bir grup içerisinde yer almıştır. Bu uygulamayı Y6.4 (%16.6), N6.6.21 (%14.2) ve R2.1 (%6.9) uygulamaları takip etmiş ve bu uygulamalar istatistiki olarak kontrolden farklı bulunarak ve etkili uygulamalar olarak belirlenmiştir. R3.3.6, E3.5.2 ve ISR 2000 uygulamaları ise kontrolle karşılaştırıldığı zaman bitki yaş ağırlığında her iki deneme de %3.1 ile %18.6 arasında değişen oranlarda azalmaya neden olmuşlar ve etkisiz uygulamalar olarak saptanmışlardır (Şekil 4.50, Çizelge 4.24).



Şekil 4.52. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki yaş ağırlığına olan etkisi

Saksı çalışmasında bitki kuru ağırlığını arttıran en iyi uygulamanın her iki denemede N6.6.21 (sırası ile %18.2 ve %29.2) uygulaması olduğu belirlenmiştir. Ç. Ü. Araştırma ve Uygulama Parseli serasında kurulan denemede Y6.4 uygulaması birinci denemede %6.3, ikinci deneme de ise %19 oranında artış sağlayarak ikinci en iyi izolat olmuştur. Y1.6.7, R2.1, Y9.4.9, R3.3.6, E3.5.2 ve R6.3.1 uygulamaları denemelerin birinde veya ikisinde birden bitki kuru ağırlığını kontrole göre azaltmışlar ve etkisiz uygulamalar olarak değerlendirilmişlerdir (Şekil 4.51, Çizelge 4.24).



Şekil 4.53. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Çizelge 4.2.3. PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)			Gövde Çapı (mm)		
	Ç. Ü. Uygulama Parseli Serası		İklim Odası	Ç. Ü. Uygulama Parseli Serası		İklim Odası
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Negatif Kontrol	22.0 ^{ab}	0.0	16.0 ^{ab}	0.0	0.7 ^{ab}	0.7 ^a
Y1.6.7	22.8 ^a	3.5	16.4 ^{ab}	2.4	0.7 ^{ab}	0.7 ^a
N6.6.21	23.5 ^a	6.4	17.0 ^a	5.9	0.8 ^a	0.7 ^a
R2.1	22.0 ^{ab}	0.0	16.3 ^{ab}	1.8	0.7 ^{ab}	0.7 ^a
Y6.4	23.4 ^a	6.0	16.4 ^{ab}	2.4	0.7 ^{ab}	0.7 ^a
Y9.4.9	22.0 ^{ab}	0.0	16.5 ^{ab}	3.0	0.7 ^{ab}	0.6 ^a
R3.3.6	23.1 ^a	4.8	16.8 ^{ab}	4.8	0.7 ^{ab}	0.6 ^a
E3.5.2	23.0 ^a	4.4	16.8 ^{ab}	4.8	0.7 ^{ab}	0.6 ^a
R6.3.1	21.2 ^b	-3.8	15.4 ^b	-3.9	0.6 ^b	0.6 ^a
ISR 2000	22.0 ^{ab}	0.0	16.1 ^{ab}	0.6	0.7 ^{ab}	0.6 ^a

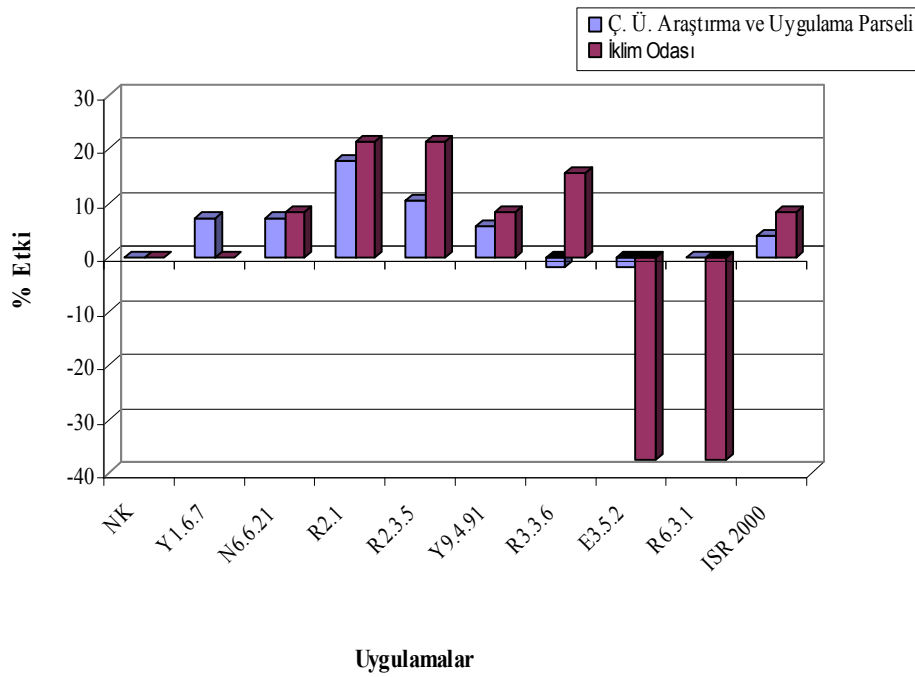
*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, $p \leq 0.05$).

Çizelge 4.24. PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinin bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına etkisi

Uygulamalar	Bitki Yaş Ağırlığı (g)			Bitki Kuru Ağırlığı (g)		
	Ç. Ü. Uygulama		İklim Odası	Ç. Ü. Uygulama		İklim Odası
	Ortalama*	% Etki		Ortalama*	% Etki	
Negatif Kontrol	10.5 ^{bed}	0.0		0.4 ^{ab}	0.0	0.0
Y1.6.7	11.1 ^{bc}	5.4	14.6 ^a	0.4 ^{ab}	-25.0	1.9
N6.6.21	13.6 ^a	22.9	12.9 ^b	0.5 ^a	16.7	29.2
R2.1	11.8 ^b	10.6	11.9 ^c	0.4 ^{ab}	-25.0	8.9
Y6.4	13.3 ^a	21.1	13.2 ^c	0.5 ^a	0.0	19.0
Y9.4.91	11.4 ^{bc}	7.8	9.9 ^e	0.3 ^b	-25.0	12.1
R3.3.6	10.1 ^{cde}	-4.5	10.7 ^{de}	0.4 ^{ab}	-25.0	-75.9
E3.5.2	10.1 ^{cde}	-4.4	10.6 ^{de}	0.4 ^{ab}	-25.0	-88.9
R6.3.1	8.9 ^e	-18.6	11.3 ^d	0.3 ^b	-66.7	13.6
ISR 2000	9.5 ^{de}	-10.4	9.9 ^e	0.3 ^b	-25.0	-37.8

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).

Saksı çalışmasında sağlıklı domates bitkilerinde dal sayısını artıran en iyi uygulamaların R2.1 (%17.7 ve %21.4) ve Y6.4 (%10.5 ve %21.4) uygulamaları olduğu belirlenmiştir. Y1.6.7 uygulamasında ilk denemede %7.3'lük bir artış saptanırken, ikinci denemede herhangi bir artış gözlenmemiş kontrol ile aynı sonucu vermiştir. N6.6.21 uygulaması ise ilk denemede %7.3 oranında artış sağlarken ikinci kurulan denemede bu oran %8.3'e yükselmiştir. ISR 2000 uygulaması ise dal sayısında %3.7 ve %8.3 oranında artışa neden olmuştur. R3.3.6, E3.5.2 ve R6.3.1 uygulamaları bitki dal sayısını %-2 ile %-37.5 arasında değişen oranlarda azaltmışlardır. Uygulamalar arasında istatistiki anlamda çeşitli oranlarda farklar olduğu saptanmıştır (Şekil 4.52, Çizelge 4.25).



Şekil 4.54. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinde bitki dal sayısına olan etkisi

Çizelge 4.25. PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı domates bitkilerinin bitki yaş ağırlığına ve bitki kuru ağırlığına etkisi

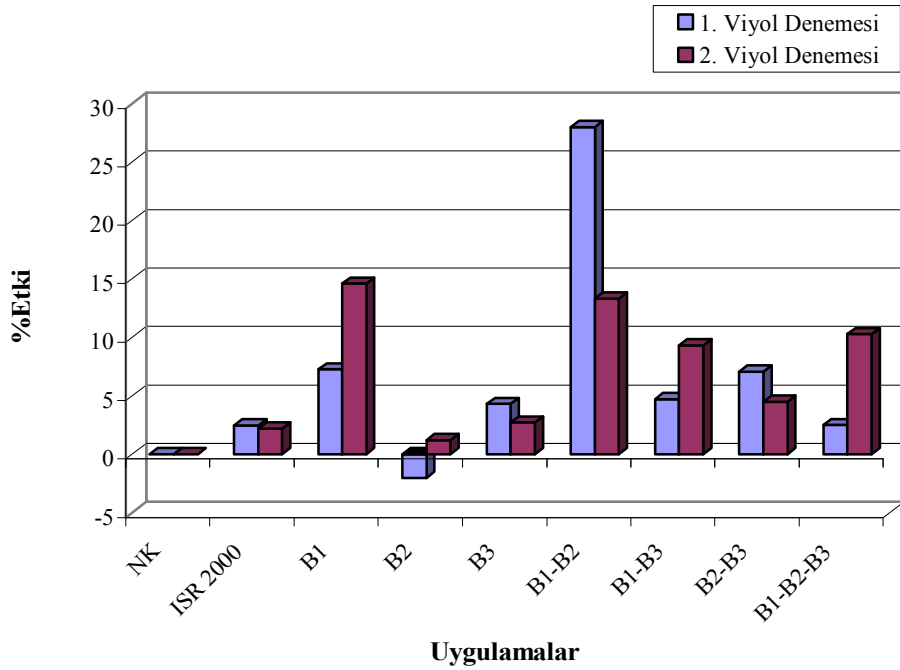
Uygulamalar	Dal Sayısı (Adet)			
	Ç.Ü.Uygulama Parseli Serası		İklim Odası	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama	% Etki
Negatif Kontrol	8.5 ^b	0.0	11.0 ^b	0.0
Y1.6.7	9.2 ^{ab}	7.3	11.0 ^b	0.0
N6.6.21	9.2 ^{ab}	7.3	12.0 ^{ab}	8.3
R2.1	10.3 ^a	17.7	14.0 ^a	21.4
Y6.4	9.5 ^{ab}	10.5	14.0 ^a	21.4
Y9.4.91	9.0 ^b	5.6	12.0 ^{ab}	8.3
R3.3.6	8.3 ^b	-2.0	13.0 ^{ab}	15.4
E3.5.2	8.3 ^b	-2.0	8.0 ^c	-37.5
R6.3.1	8.5 ^b	0.0	8.0 ^c	-37.5
ISR 2000	8.8 ^b	3.7	12.0 ^{ab}	8.3

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).

Viyol Çalışması: İklim odası koşullarında iki kez tekrarlanan viyol çalışmasında sağlıklı domates tohumları viyollere ekilmiş ve 10 hafta süre ile PGPR’lar püskürtme şeklinde fidelere uygulanmıştır. Uygulanan PGPR’ların bitki boyuna, dal sayısına, gövde çapına, bitki kuru ağırlığına ve bitki yaş ağırlığına etkisi araştırılmış olup sonuçlar Çizelge 4.26, Çizelge 4.27 ve Çizelge 4.28’de verilmiştir.

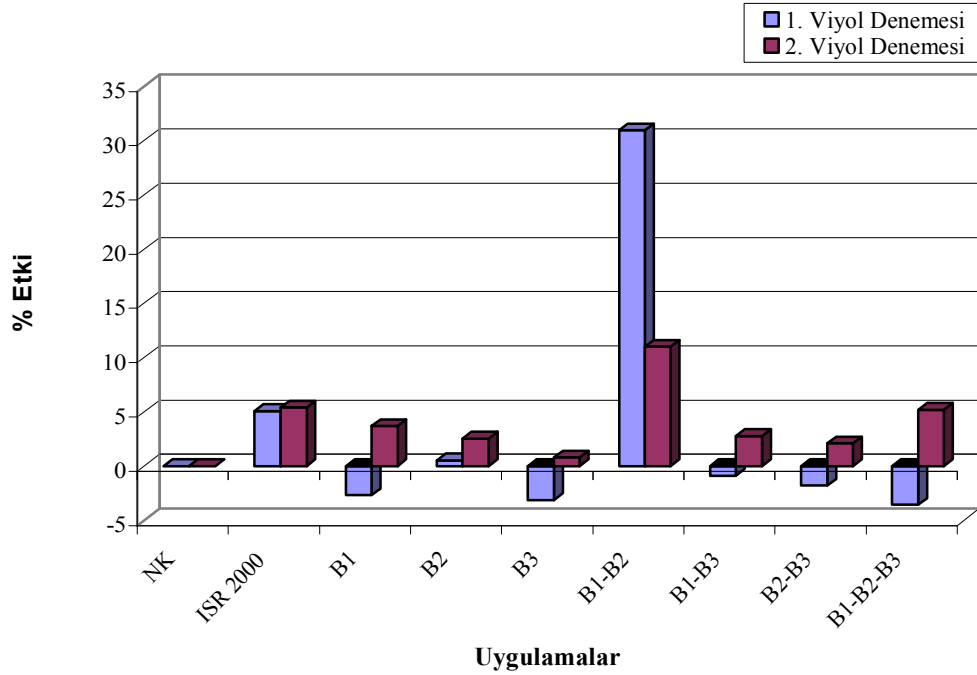
Klima odası koşullarında yapılan viyol denemesinde uygulamaların bitki boyuna olan etkisi araştırılmıştır. Y1.6.7+ N6.6.21 kombinasyonu birinci denemede %28’lik etki ile en iyi sonucu vermiş ve istatistiki olarak bütün uygulamalardan farklı bulunmuştur. Diğer uygulamalar bitki boyuna %-2 ile %7 arasında değişen oranlarda etki etmişler ve istatistiki olarak aynı grupta yer almışlardır. İkinci denemede ise Y1.6.7 uygulaması %15’lik artış ile en etkili uygulama olurken, Y1.6.7+ N6.6.21 kombinasyonu %13’lük artış ile ikinci sırada yer almıştır. Bitki boyunu %10 oranında artıran Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4 üçlü

kombinasyonu ile %9 oranında artıran Y1.6.7+Y6.4 ikili kombinasyonu istatistiki anlamda farksız bulunmuşlar ve aynı grupta yer almışlardır. Diğer uygulamalar ise bitki boyunu %0 ile %5 arasında değişen oranlarda etkilemişlerdir (Şekil 4.53, Çizelge 4.26).



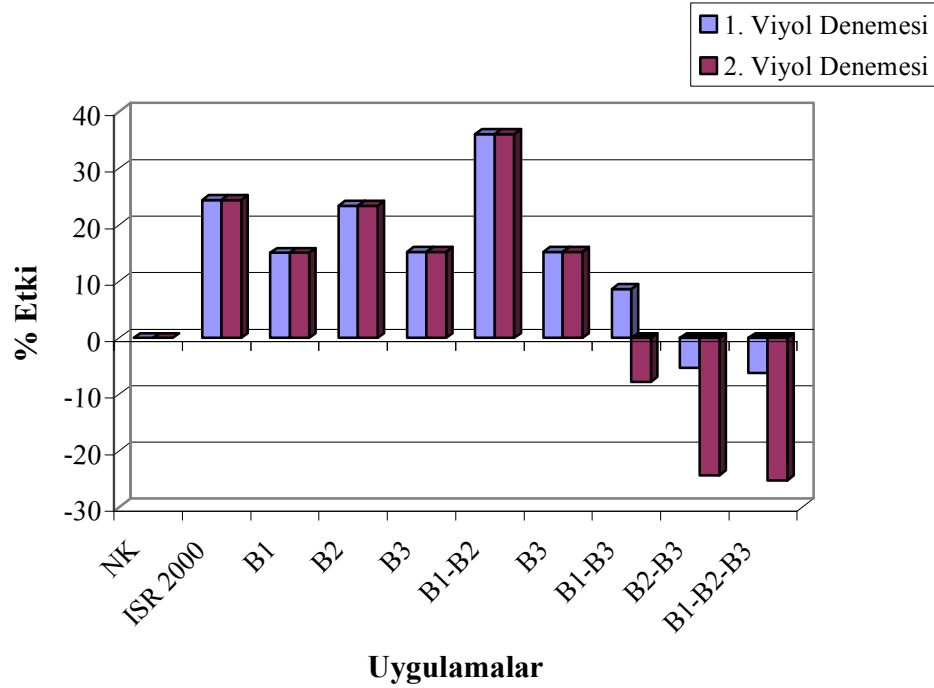
Şekil 4.55 Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki boyuna olan etkisi

Tohumdan geliştirilen fidelerde uygulamaların gövde çapına olan etkisine baktığımız zaman Y1.6.7+ N6.6.21 kombinasyonunun her iki denemede en iyi sonucu (sırası ile %31 ve %11) verdiği saptanmış ve diğer bütün uygulamalardan istatistiki olarak farklı bir grup içerisinde yer aldığı belirlenmiştir. Her iki denemede de uygulamalar ile kontrol arasında istatistiki anlamda herhangi bir fark gözlenmemiştir (Şekil 4.54, Çizelge 4.26).



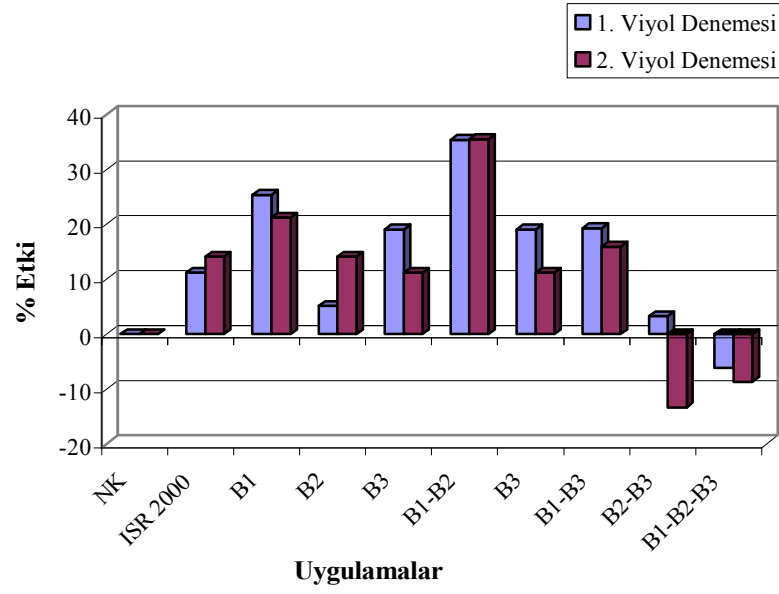
Şekil 4.56. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde gövde çapına olan etkisi

Tohumdan geliştirilen fidelerde uygulamaların bitki yaş ağırlığına olan etkisine baktığımız zaman, Y1.6.7+ N6.6.21 kombinasyonunun her iki çalışmada da en iyi sonucu (%35- %36) verdiği belirlenmiştir. N6.6.21 uygulaması ise sırası ile %24 ve %23'lük artış ile ikinci en etkili uygulama olarak saptanmıştır. Y6.4 uygulaması ise tekli ve diğer uygulamalar ile kombine edilerek uygulandığında bitki yaş ağırlığında kontrole kıyasla bir azalmaya neden olmuştur. Uygulamalar farklı istatistikî gruplar içerisine dağılmış durumdadır (Şekil 4.55, Çizelge 4.27).



Şekil 4.57. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki yaş ağırlığına olan etkisi

Viyol çalışmasında tohumdan gelişen fidelerde bitki kuru ağırlığında Y1.6.7+ N6.6.21 kombinasyonu her iki çalışmada da en etkili izolat (%35-%36) olarak saptanmış ve istatistiki olarak her iki denemede de diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur. N6.6.21+Y6.4 kombinasyonu bitki kuru ağırlığını ilk denemede %3 oranında artırırken, ikinci denemede %-13 oranında azaltmıştır. Y1.6.7+ N6.6.21+Y6.4 üçlü kombinasyonu ise bitki kuru ağırlığında %-6, %-9 oranında azalmaya neden olmuştur. Diğer uygulamalar ise bitki kuru ağırlığını %5 ile %25 arasında değişen değerlerde artırmışlardır (Şekil 4.56, Çizelge 4.27).



Şekil 4.58. Domates tohumlarına uygulanan PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Çizelge: 4.26. PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen bitkilerin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)				Gövde Çapı (mm)			
	1. Deneme		2. Deneme		1. Deneme		2. Deneme	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Negatif Kontrol	16.0 ^b	0.0	16.5 ^d	0.0	2.9 ^b	0.0	2.7 ^b	0.0
ISR 2000	16.4 ^b	2.0	16.8 ^{bed}	2.0	3.1 ^b	5.0	2.9 ^{ab}	5.0
Y1.6.7	17.3 ^b	7.0	19.3 ^a	15.0	2.8 ^b	-3.0	2.8 ^b	4.0
N6.6.21	15.7 ^b	-2.0	16.7 ^{cd}	1.0	2.9 ^b	1.0	2.8 ^b	3.0
Y6.4	16.8 ^b	4.0	16.9 ^{bed}	3.0	2.8 ^b	-3.0	2.8 ^b	1.0
Y1.6.7+ N6.6.21	22.3 ^a	28.0	18.9 ^a	13.0	4.2 ^a	31.0	3.1 ^a	11.0
Y1.6.7+Y6.4	16.8 ^b	5.0	18.2 ^{abc}	9.0	2.9 ^b	-1.0	2.8 ^b	3.0
N6.6.21+Y6.4	17.3 ^b	7.0	17.2 ^{bed}	5.0	2.9 ^b	-2.0	2.8 ^b	2.0
Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4	16.4 ^b	2.0	18.3 ^{ab}	10.0	2.8 ^b	-4.0	2.9 ^{ab}	5.0

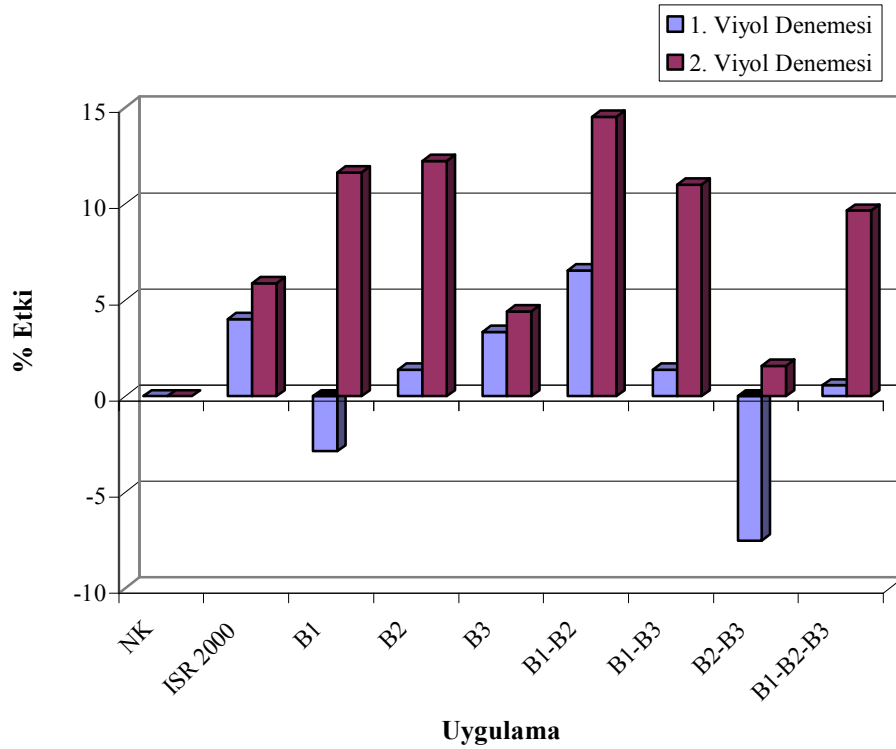
*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).

Çizelge: 4.27. PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Yaş Ağırlığı (g)				Bitki Kuru Ağırlığı (g)			
	1. Deneme		2. Deneme		1. Deneme		2. Deneme	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Negatif Kontrol	2.8 ^{bc}	0.0	2.4 ^{cd}	0.0	0.3 ^c	0.0	0.2 ^{bc}	0.0
ISR 2000	3.1 ^{bc}	8.0	3.2 ^b	24.0	0.3 ^{bc}	11.0	0.27 ^{bc}	14.0
Y1.6.7	2.9 ^{bc}	3.0	2.8 ^{bc}	15.0	0.4 ^{ab}	25.0	0.3 ^b	21.0
N6.6.21	3.7 ^{ab}	24.0	3.1 ^b	23.0	0.3 ^{bc}	5.0	0.27 ^{bcv}	14.0
Y6.4	2.7 ^{bc}	-7.0	2.8 ^{bc}	15.0	0.4 ^{bc}	19.0	0.26 ^{bc}	11.0
Y1.6.7+N6.6.21	4.4 ^a	35.0	3.8 ^a	36.0	0.5 ^a	35.0	0.36 ^a	36.0
Y1.6.7+Y6.4	2.6 ^{bc}	-8.0	2.6 ^{cd}	9.0	0.4 ^{bc}	19.0	0.28 ^{bc}	16.0
N6.6.21+Y6.4	2.3 ^c	-21.0	2.3 ^d	-5.0	0.3 ^{bc}	3.0	0.21 ^c	-13.0
Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4	2.9 ^c	-30.0	2.3 ^d	-6.0	0.27 ^c	-6.0	0.21 ^c	-9.0

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırmalı testi, p≤0.05).

Tohumdan geliştirilen fidelerde uygulamaların dal sayısına olan etkisine baktığımız zaman Y1.6.7+ N6.6.21 kombinasyonunun birinci denemede %7’lik, ikinci denemede ise %15’lik artışla en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir. İlk denemede diğer uygulamalar dal sayısını %-8 ile %4 arasında değişen oranlarda etkilemişler ve istatistiki anlamda birbirinden farksız bulunmuşlardır. İkinci denemede ise diğer uygulamalar %0 ile %12 arasında değişen oranlarda bitki dal sayısını etkilemişlerdir. ISR 2000. Y6.4. N6.6.21+Y6.4 ve Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4 uygulamaları istatistiki anlamda kontrolden farksız bulunmuşlardır (Şekil 4.57, Çizelge 4.28).



Şekil 4.59. Domates tohumlarına uygulanan aday PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen fidelerde dal sayısına olan etkisi

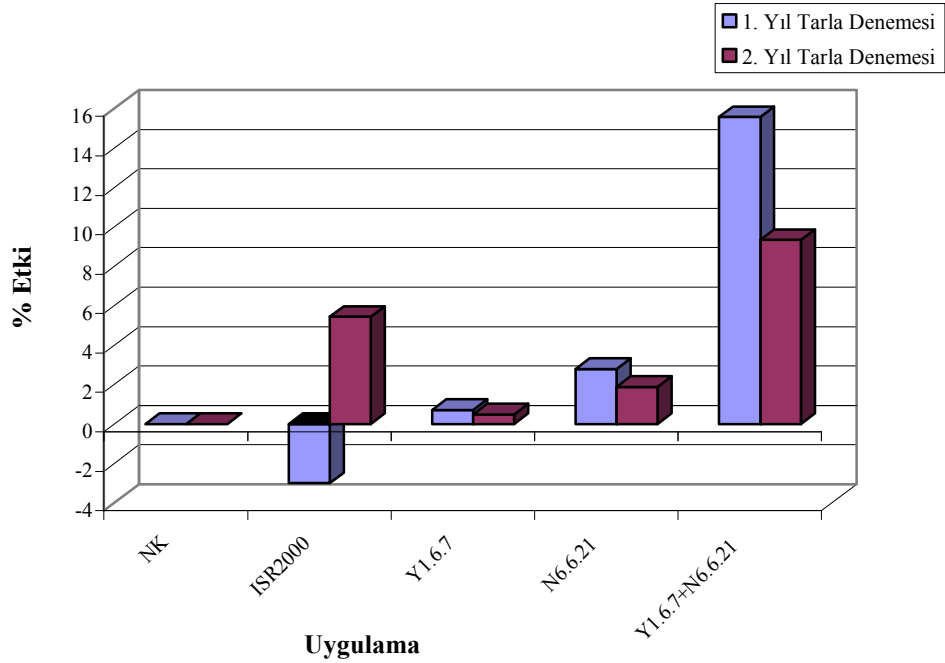
Çizelge 4.28. Aday PGPR izolatlarının viyolde sağlıklı domates tohumlarından gelişen bitkilerin dal sayısına olan etkisi

Uygulamalar	Dal Sayısı (Adet)			
	1. Deneme		2. Deneme	
	Ortalama*	% Artış	Ortalama*	% Artış
Negatif Kontrol	4,76 ^{ab}	0.0	4,33 ^d	0.0
ISR 2000	4,96 ^{ab}	4.0	4,6 ^{abcd}	6.0
Y1.6.7	4,63 ^{ab}	-3.0	4,9 ^{ab}	12.0
N6.6.21	4,83 ^{ab}	1.0	4,93 ^{ab}	12.0
Y6.4	4,93 ^{ab}	3.0	4,53 ^{bcd}	4.0
Y1.6.7+ N6.6.21	5,1 ^a	7.0	5,06 ^a	15.0
Y1.6.7+Y6.4	4,83 ^{ab}	1.0	4,86 ^{abc}	11.0
N6.6.21+Y6.4	4,43 ^{ab}	-8.0	4,4 ^{cd}	2.0
Y1.6.7+N6.6.21+Y6.4	4,79 ^{ab}	1.0	4,79 ^{abcd}	10.0

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).

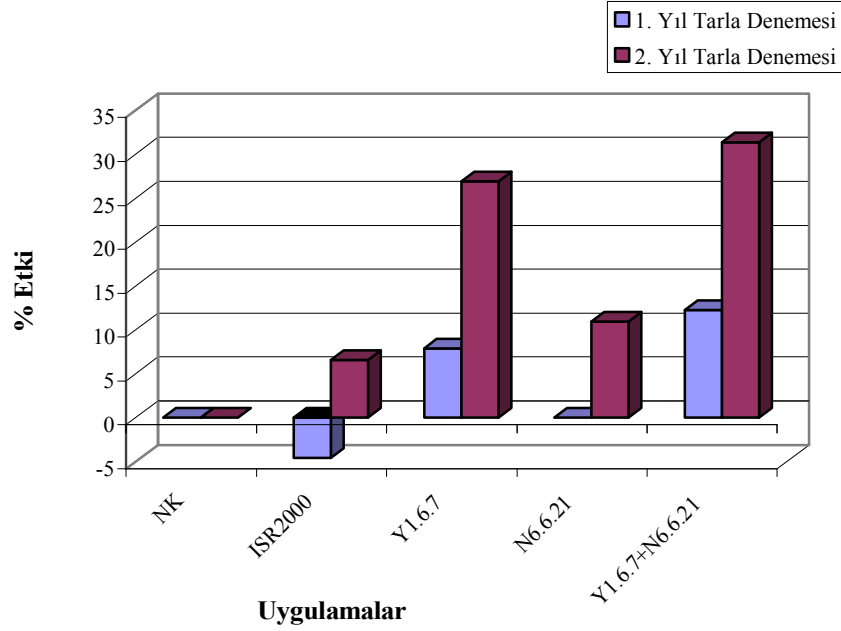
Tarla Çalışması: İki yıl yapılan tarla denemelerinde sağlıklı biber bitkilerinin köklerine daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, dal sayısına, kök boyuna ve verim'e olan etkisi araştırılmış, elde edilen sonuçlar Çizelge 4.29, 4.30 ve 4.31'de verilmiştir.

Tarla koşullarında yapılan denemede her iki yılda da Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu bitki boyunda sırası ile %12.6 ve %9.3 oranında artış sağlayarak en etkili uygulama olarak belirlenmiş ve istatistiki olarak negatif kontrolden farklı bir grupta yer almıştır. Bu kombinasyonu ilk yıl denemesinde N6.6.21 (%2.8) ve Y1.6.7 (%0.7) uygulamaları takip etmiştir. ISR 2000 uygulaması ise %-3'lük bir azalmaya neden olmuştur. İkinci yıl kurulan denemede ise N6.6.21 (%1.9) uygulaması yine ikinci sırada yer alırken. ISR 2000 uygulaması (%5.4) üçüncü. Y1.6.7 (%0.5) ise dördüncü sırada yer almıştır (Şekil 4.58, Çizelge 4.29).



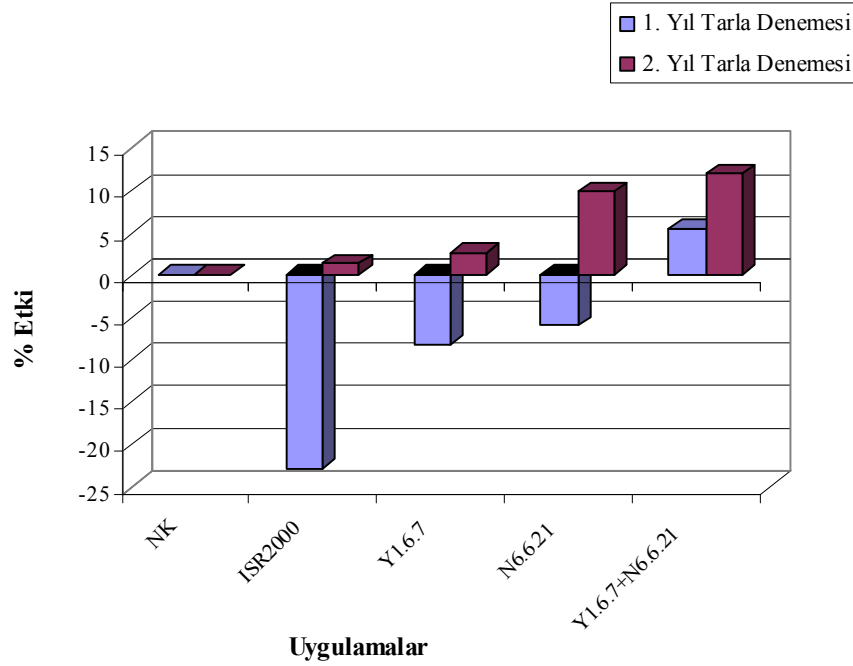
Şekil 4.60. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates bitki boyuna olan etkisi

Tarla koşullarında 2006 yılında aday PGPR izolatlarının gövde çapına olan etkisinin belirlenmesi amacıyla kurulan denemede N6.6.21 uygulaması negatif kontrol ile aynı sonucu vermiş olup etkisiz uygulama olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde ISR 2000 uygulaması ise gövde çapında negatif kontrole göre %-4.6 oranında azalmaya neden olmuştur. N6.6.21 ve ISR 2000 istatistiki olarak negatif kontrol ile aynı grupta yer almış ve etkisiz uygulamalar olarak belirlenmişlerdir. Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması gövde çapında %15.6'lık artış ile en etkili uygulama olmuştur. 2007 yılında yapılan çalışmada ise benzer şekilde Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması gövde çapında %31.3'lük artış sağlayarak en etkili uygulama olurken, bunu %26.9 oranında artış sağlayan Y1.6.7 uygulaması izlemiştir. Bu iki uygulama istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almış ve diğer uygulamalardan farklı olmuşlardır. Gövde çapında %10.9 artış sağlayan N6.6.21 ve %6.6 oranında artış sağlayan ISR 2000 uygulamaları ise istatistiki olarak negatif kontrol ile aynı grupta yer almışlardır (Şekil 4.59, Çizelge 4.29).



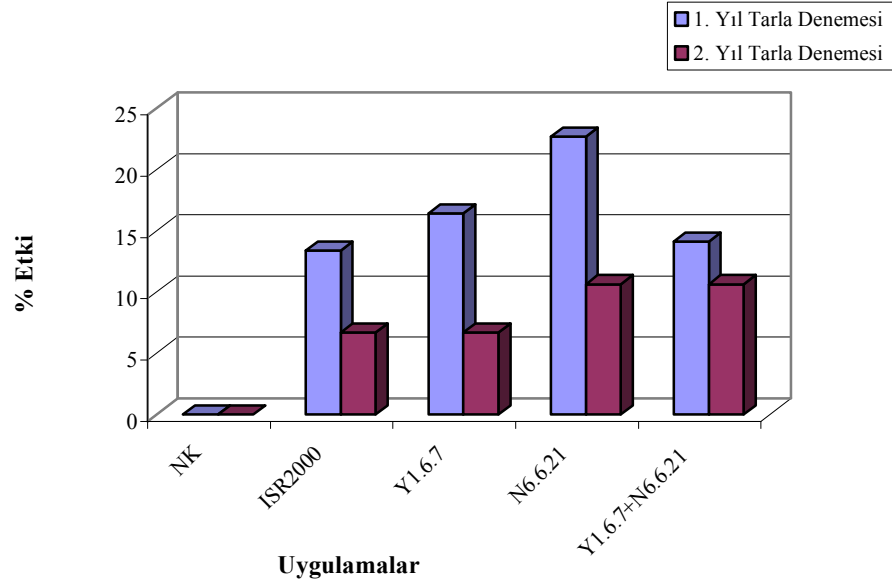
Şekil 4.61. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates gövde çapına olan etkisi

Tarla denemesinin ilk yılında N6.6.21 izolatı dal sayısını %-5.9, Y1.6.7 izolatı %-8.2 oranında azaltırken, ISR 2000 uygulamasında bu oran %-22.8 olmuştur. Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu ise dal sayısını %5.6 oranında artırmış ve kontrolden farklı olmasa da etkili bir uygulama olarak değerlendirilmiştir. İkinci yıl yapılan tarla çalışmasında ise Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu %12’lik artış ile en iyi sonucu vermiştir. Diğer uygulamalar ise %1.4 ile %9.9 arasında değişen oranlarda bitki dal sayısını artırmışlardır. İkinci yıl yapılan tarla denemesinde uygulamalar arasında istatistiki bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.60, Çizelge 4.30).



Şekil 4.62. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates dal sayısına olan etkisi

Köklerine daldırma şeklinde yapılan PGPR uygulamaları tarla koşullarında kök boyunda 2006 yılında %13.4- 22.7, 2007 yılında %6.7- 10.2 oranında artışa neden olmuştur. 2006 yılında N6.6.21 uygulaması %22.7'lik artış ile en etkili uygulama olarak saptanmış ve negatif kontrolden istatistiki olarak farklı bir grup içerisinde yer almıştır. 2007 yılında kurulan tarla denemesinde ise Y1.6.7 + N6.6.21 ve N6.6.21 uygulamaları kök boyunda %10.6'lık artışa neden olmuşlar ve en etkili uygulamalar olarak belirlenmişlerdir. Diğer uygulamalar ve negatif kontrolden farklı bir istatistiki grup içerisinde yer almışlardır. Y1.6.7 ve ISR 2000 uygulamaları ise %6.7 oranında artış göstermelerine rağmen negatif kontrol ile aynı istatistiki grupta yer almışlar ve etkisiz olarak değerlendirilmişlerdir (Şekil 4.61, Çizelge 4.30).



Şekil 4.63. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates kök boyuna olan etkisi

Çizelge 4.29. PGPR izolatlarının tarlada sağlıklı domates bitkilerinin bitki boyuna ve gövde çapına olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)			Gövde Çapı (mm)		
	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2
	Ortalama *	% Etki	Ortalama *	% Etki	Ortalama *	% Etki
Negatif Kontrol	102.3	0.0	104.3	0.0	13.7 ^b	0.0
ISR 2000	99.3 ^b	-3.0	110.3	5.4	13.1 ^b	-4.6
Y1.6.7	103.0 ^b	0.7	104.8	0.5	14.9 ^{ab}	7.87
N6.6.21	105.2 ^b	2.8	106.3	1.9	13.7 ^b	0.0
Y1.6.7 + N6.6.21	121.2 ^a	15.6	115.0	9.3	15.6 ^a	12.3

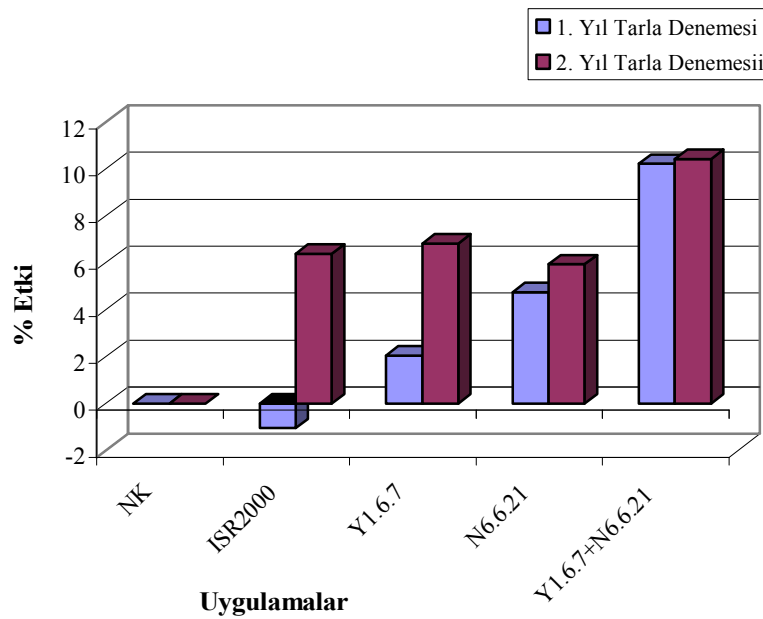
*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).

Çizelge 4.30. PGPR izolatlarının tarlada sağlıklı domates bitkilerinin dal sayısı ve kök boyuna olan etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu (cm)			Gövde Çapı (mm)		
	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2
	Ortalama *	% Etki	Ortalama *	% Etki	Ortalama *	% Etki
Negatif Kontrol	23.7 ^a	0.0	18.3	0.0	6.9 ^b	0.0
ISR 2000	19.3 ^b	-22.8	18.5	1.4	8.0 ^{ab}	13.4
Y1.6.7	21.9 ^{ab}	-8.2	18.8	2.7	8.4 ^{ab}	16.4
N6.6.21	22.4 ^{ab}	-5.9	20.3	9.9	9.0 ^a	22.7
Y1.6.7 + N6.6.21	25.1 ^a	5.6	20.8	12.0	8.1 ^{ab}	14.1

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).

2006 -2007 yılında kurulan tarla denemelerinde en fazla artış, %10.2 ve 10.4'lük verim artışı ile Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonunda gerçekleşmiştir. Birinci yıl yapılan tarla denemesinde Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonunu, N6.6.21 uygulaması %4.7, Y1.6.7 uygulaması %2'lik verim artışı ile takip etmiştir. ISR 2000 uygulaması %-1 oranında verimi azaltmıştır. Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu hariç diğer bütün uygulamalar negatif kontrol ile aynı istatistiki grup içerisinde yer almışlardır. 2007 yılında kurulan denemede ise Y1.6.7 uygulaması %6.8, ISR 2000 uygulaması %6.4, N6.6.21 uygulaması ise %5.9'lık verim artışı sağlamıştır. Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu istatistiki olarak diğer uygulamalardan ayrı bir grup içerisinde yer almış en etkili uygulama olmuştur (Şekil 4.62, Çizelge 4.31).



Şekil 4.64. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2006-2007 yıllarında sağlıklı domates verimine olan etkisi

Çizelge 4.31. PGPR izolatlarının tarlada sağlıklı domates bitkilerinin verimine olan etkisi

Uygulamalar	Verim (g)			
	Tarla Denemesi 1		Tarla Denemesi 2	
	Ortalama*	% Etki	Ortalama*	% Etki
Negatif Kontrol	3.3 b	0.0	3.0	0.0
ISR 2000	3.9 b	-1.0	3.2	6.4
Y1.6.7	3.4 ab	2.0	3.2	6.8
N6.6.21	3.4 ab	4.7	3.2	5.9
Y1.6.7 + N6.6.21	3.7 a	10.2	3.4	10.4

*Sütun içerisindeki ortalama değerler yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi. $p \leq 0.05$).

Ç.Ü Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Parseli serasında yürütülen saksı çalışmasında sadece su püskürtülen kontrol bitkiler, ISR 2000 ve aday PGPR izolatlarının sağlıklı bitkide bitki büyümesine olan etkisine bakıldığında en etkili uygulamalar; bitki boyunda %6.4 ile N6.6.21; gövde çapında %8.0 ile N6.6.21; bitki yaş ağırlığında %22.9 ile N6.6.21; bitki kuru ağırlığında %18.2 ile N6.6.21 ve dal sayısında ise %17.7 ile R2.1 uygulamaları en etkili uygulamalar olarak saptanmıştır.

Ç.Ü. Bitki Koruma Bölümü iklim odasında kurulan ikinci saksı denemesinde ise bitki boyunda %5.9 ile N6.6.21, gövde çapında %8.5 ile N6.6.21, bitki yaş ağırlığında %24.2 ile Y1.6.7, bitki kuru ağırlığında %29.2 ile N6.6.21 ve dal sayısında ise %21.4 ile R2.1 ve Y6.4 en etkili uygulamalar olarak belirlenmiştir.

Ç.Ü. Bitki Koruma Bölümü iklim odalarında sağlıklı fide gelişimine aday PGPR'ların etkisinin belirlenmesi için kurulan iki viyol denemesinde de Y1.6.7 + N6.6.21 ikili kombinasyonu bütün uygulamalarda en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması sırası ile bitki boyunda %28 ile %9, gövde çapında %31 ile %11, bitki yaş ağırlığında %35 ile %36, bitki kuru ağırlığında %35 ile %36 ve dal sayısında %7 ile %15 artış oluşturmıştır.

Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Parselinde 2006 yılında kurulan tarla denemesinde bitki boyunda %15.6 ile Y1.6.7 + N6.6.21, gövde çapında %12.3 ile Y1.6.7 + N6.6.21, dal sayısında %5.6 ile Y1.6.7 + N6.6.21, kök boyunda %22.7 ile N6.6.21 ve verimde %10.2 ile Y1.6.7 + N6.6.21 uygulamaları

en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. 2007 yılında kurulan ikinci tarla denemesinde ise bitki boyunda %9.3 ile Y1.6.7 + N6.6.21, gövde çapında %31.3 ile Y1.6.7 + N6.6.21, dal sayısında %12 ile Y1.6.7 + N6.6.21, kök boyunda %10.6 ile N6.6.21 ve Y1.6.7 + N6.6.21 uygulamaları; verimde ise %10.4 ile Y1.6.7 + N6.6.21 uygulaması en etkili uygulama olarak bulunmuştur. Doğal koşullar altında iki yıl tekrar edilen tarla denemelerinin sonuçları saksı ve viyol çalışmaları ile paralellik göstermiştir. Y1.6.7 + N6.6.21 kombinasyonu domatestede bitki büyümesini teşvik eden başarılı uygulama olarak belirlenmiştir.

Weller (1988) aday PGPR izolatlarının bitki büyümesine olan etkisinin bakterinin köklere kolonize olmasına ve orada yaşayabilme yeteneğine bağlı olduğunu bildirmiştir. Bu nedenle aday PGPR izolatlarının bitki büyümesine olan etkisinde farklılıklar ortaya çıkabilmektedir. Pierson ve Weller, (1994) floresan *Pseudomonas*'ları kombine ederek buğday bitkilerine uyguladıklarında tekli uygulamalara göre verimde daha yüksek oranda artış saptamışlardır. Kaysılarda yapılan bir çalışmada yapraklara püskürtülen bir *Bacillus* izolatının iki yıl yapılan denemeler sonucunda hem verimde hemde sürgün uzunluğunda önemli oranda artışa neden olduğu bildirilmiştir (Esikten ve ark., 2003). Khalid ve ark., (2003) buğdaylarda, Asghar ve ark., (2004) ise kanola'da yaptıkları çalışmalarda bitki rizosferinden elde ettikleri rizobakterileri kullanarak buğday ve kanola'da bitki boyunun, sürgün uzunluğunun, sürgün ağırlığının, kök sayısının, kök uzunluğunun ve verimin arttığını bildirmişlerdir.

Çakmakçı ve ark., (2001) şeker pancarı ve arpa üretim alanlarından elde ettikleri *Bacillus*, *Burkholderia* ve *Pseudomonas* cinsine ait izolatların, ürün miktarında ve kalitesinde önemli artışlar oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Mirik (2005), biberlerde yaptığı çalışmada biber rizosferinden elde ettiği izolatların bitki büyümesine olan etkilerini incelemiş ve bu izolatların sağlıklı bitkilerde bitki büyümesini farklı oranlarda artırdığını bildirmiştir. Bizim yaptığımız saksı, viyol ve tarla çalışmaları sonucunda elde ettiğimiz bulgularda bu konuda yapılan çalışmalarla benzer sonuçlar vermiş ve bitki kök bölgesinden elde edilen rizobakterilerin domateslerde bitki büyüme artırıcı olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Domatesin tarımsal üretim içerisindeki ekonomik önemi, bitkilerin sağlıklı kalabilmesi için maksimum düzeyde hastalık ve zararlı kontrolünü gerektirmektedir. Domateste bakteriyel solgunluk hastalığına neden olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in tanılanması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerle biyolojik mücadele olanakları ve PGPR'ların bitki büyümesine olan etkilerini hedefleyen bu doktora çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. Domates bakteriyel solgunluğuna neden olan *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* izolatlarını toplamak için Mersin ve Adana illerinde domates yetiştiriciliği yapılan tarla ve seralardan tipik hastalık semptomu gösteren bitkiler alınmış, Antalya, Bursa, Artvin ve İzmir illerinden üreticilerin laboratuvarımıza gönderdiği domates bitkileri incelenerek toplam 57 adet izolat elde edilmiştir. İzolatlar domateste patojenite özelliklerinin belirlenmesinin ardından farklı besi yerlerindeki koloni morfolojisi, fizyolojik ve biyokimyasal testlere göre *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensi* olarak tanılanmıştır. İzolatların tanısı Indirekt-ELISA, PCR ve yağ asit metil ester analizleriyle de desteklenmiştir.

2. Üreticiler ile yapılan görüşmelerde hastalığa karşı bakırlı preparatlarla mücadele yapıldığı gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan 16 izolatın tamamı 30 ppm dozunda bakıra dayanıklı olarak saptanmıştır. 100 ppm dozunda bakıra izolatların sadece %12.5'u, 200 ppm dozunda bakıra ise izolatların %31.3'ü duyarlı olarak bulunmuştur. 300 ppm dozundaki bakıra ise bütün izolatlar duyarlı olarak belirlenmiştir. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı ile mücadelede kültürel önlemler, tohum uygulamaları ve biyolojik mücadele stratejileri birlikte kullanılmalıdır.

3. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı ile mücadelede yoğun kimyasal kullanımına rağmen etkili bir sonucun alınamaması ve kullanılan kimyasalların insan ve çevre sağlığına olan olumsuz etkileri alternatif yöntemler ile mücadeleyi gündeme getirmiştir. Çalışmamızda bu hastalığın PGPR'lar ile mücadele olanakları saksı, viyol ve tarla çalışmaları ile araştırılmıştır. Domates bitkilerinin

kök bölgesinden toplam 499 adet izolat elde edilmiştir. Bunlar içinde fosfor çözme indeksi en yüksek olan veya azot bağlama özelliğine sahip 30 adet izolat seçilerek sıvı NBRIP besiyeri yerinde çözebildiği fosfor miktarı belirlenmiş ve en yüksek fosfor çözen 8 (Y1.6.7, N6.6.21, R2.1, Y6.4, Y9.4.9, R3.3.6, E3.5.2 ve R6.3.1 kodlu izolatlar) izolat belirlenerek saksı çalışmasında kullanılmıştır.

4. Saksı çalışmasında seçilen 8 PGPR izolatı ve ISR 2000 isimli ticari preparat kök uygulaması şeklinde bitkiye verildiğinde uygulamalarımız ilk çalışmada %13.9-52.3; ikinci çalışmada ise %21.5- 80.5, oranında hastalık gelişimini engellemiştir. Viyol denemesinde, saksı çalışması sonucunda en etkili bulunan üç izolat (Y1.6.7, N6.6.21 ve Y6.4) ve kombinasyonları kullanılmıştır. İzolatlarımızın ilk viyol denemesinde %5.7- 45.7 ikinci viyol denemesinde %8.2- 38.8 oranında hastalık gelişiminin engellendiği belirlenmiştir. Tarla çalışmasında ise saksı çalışmasında en etkili bulunan iki izolat (Y1.6.7 ve N6.6.21) ve kombinasyonu denenmiştir. Çalışmanın ilk yılında izolatlarımızın hastalık gelişimini %33.8- 50.6, ikinci yılında ise %22.9-35.8 oranında engellediği saptanmıştır. Bu izolatlar sadece bakteriyel patojenle mücadele etmeyip aynı zamanda enfekteli ve sağlıklı domates bitkilerinde bitki büyümesini farklı oranlarda artırmıştır.

5. Yapılan bu çalışmalar sonucunda domates'lerde *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in mücadelesinde PGPR kullanımının ümitvar sonuçlar verdiği ortaya konmuştur. İlerleyen dönemlerde başarılı sonuçlar veren izolatların, tanımlanması formülasyonu ve preparat haline getirilmesi hedeflerimiz arasında yer almaktadır.

KAYNAKLAR

- AGRIOS, G. N., 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elviesier Academic Press. London, UK. 530 p.
- AHMAD, F., AHMAD, I., and KHAN, M. S., 2005. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of azotobacter and fluorescent pseudomonas in the pserence and absence of tryptophan. Turk J. Biology, 29:29-34.
- ALARCON, C., CASTRO, J., MUNOZ, F., ARCE-JOHNSON, P., and DELGADO, J., 1998. Protein(s) from the gram-positive bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* induce a hypersensitive response in plants. Phytopathology, 88:306.
- ANITH, K. N., MOMOL, M. T., KLOEPPER, J. W., MAROIS, J. J., OLSON, S. M., and JONES, J. B., 2004. Efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria, acibenzolar-s- methyl, and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato. Plant Diseases, 88:669-673.
- ANONYMOUS, 2005. Tarımsal Yapı ve Üretim. Başbakanlık D.İ.E. Yayınları
- ANTONIOU, P. P., TJAMOS, E. J., PANAGOPOULOS, S. G., 1995. The use of soil solarization for controlling bacterial canker of tomato in plastic houses in Greece. Plant Pathology, 44:438-447.
- ANWAR A., van der ZOUWEN, P. S., ILYAS, S., and van der WLOF, J. M., 2004. Bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) of tomato in commercial seed production in Indonesia. Plant Diseases, 88:680-684.
- ASGHAR, H., ZAHIR, Z.A., and ARSHAD, M., 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield and oil concent for canola (*Brassica napus* L.). Australian Journal of Agricultural Research, 55:187-194.
- BACH, H. J., JESSEN, I., SCHLOTER, M. and MUNCH J. C., 2003. A Taqman-PCR protocol for quantification and differentiation of the phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subspecies. Journal of Microbiological Methods, 52:85-91.

- BACKMAN, A. C., BENGTSSON, M., and WITZGALL, P., 1997. Pheromone release by individual females of codling moth, *Cydia pomonella*. Journal of Chemical Ecology, 23:807- 815.
- BARTON, C. J., 1948. Photometric analysis on phosphate rock. Analytical Chemistry, 20:1068-1073.
- BASIM, E., 2002. Isparta ve çevresindeki sera domateslerinde görülen bakteriyel patojenlerin belirlenmesi. S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6:1-8.
- BASIM, E., BASIM, H., DICKSTEIN E. R. and 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, 88:1048.
- BASIM, E., BASIM, H., ÖZCAN, M., 2005. Antibacterial activities of turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. Journal of Food Engineering, 77:992–996.
- BAYSAL, Ö., 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 Pathology, 52:747- 753.
- BLACK, R., SEAL, S., ABUBAKAR, Z., NONO-WOMDIM, R., and SWAI, I., 1999. Wilt pathogens of solanaceae in Tanzania: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas corrugata*, and *Ralstonia solanacearum*. Plant Diseases, 83:1070.
- BOLKAN, H. A., 1987. Tomato seed assay–detection of seed-borne plant pathogenic bacteria using semi-selective media. California Plant Disease Conference Workshop, p11-14.
- BORA, T., ÖZAKTAN, H., 1998. Bitki hastalıkları ile biyolojik savaş. Prizma Matbaası, İzmir. s 205.
- BOUDYACH, E. H., FATMI, M., AKHAYAT, O., BENIZRI, E., and AIT BEN AOUMAR, A., 2001. Selection of antagonistic bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and evaluation of their efficiency

- against bacterial canker of tomato. *Biocontrol Science and Technology*, 11:141-149.
- BUROKIENE, D., 2006. Early detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seedlings. *Agronomy Research*, 4:151-154.
- CABALLERO-MELLADO, J., ONOFRE-LEMUS, J., ESTRADA-de los SANTOS, P., and MARTINEZ-AGUILAR, L., 2007. The Tomato rhizosphere, an environment rich in nitrogen-fixing *Burkholderia* species with capabilities of interest for agriculture and bioremediation. *Applied and Environmental Microbiology*, 73:5308-5319.
- CAKMAKÇI, R., KANTAR, F., and SAHIN, F., 2001. Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164:527 – 531.
- CARLTON, W. M., GLEASON, M. L., and BRAUN, E. J., 1994. Effects of pruning on tomato plants supporting epiphytic populations of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Plant Diseases*, 78:742-745.
- CARUSO, F., and KUC, J., 1979. Induced resistance of cucumber to anthracnose and angular leaf spot by *Pseudomonas lachrymans* and *Colletotrichum lagenarium*. *Physiol. Plant Pathology*, 14:191-201.
- CATTELAN, A.J., HARTEL, P. G., FUHRMANN, J. J., 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63:1670–1680.
- CHALDECOTT, M. A., and PREECE, T. F., 1983. The use of a tomato cotyledon test to identify *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense*. *Plant Pathology*, 32:441-448.
- 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.
- CHANG, R. J., RIES, S. M., and PATAKY, J. K., 1992a. 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.

- CHANG, R. J., RIES, S. M., and PATAKY, J. K., 1992b. Reduction in yield of processing tomatoes and incidence of bacterial canker. *Plant Diseases*, 76:805-809.
- CHANG, R. J., RIES, S. M., and PATAKY, J. K., 1992c. Local sources of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in the development of bacterial canker on tomatoes. *Phytopathology*, 82:553-560.
- CHASE, A. R., STALL, R. E., HODGE, N. C., JONES, J. B., 1992. Characterization of *Xanthomonas campestris* strains from Aroids using physiological, pathological, and fatty acid analysis. *Phytopathology*, 82:754-759.
- CICCARONE, A., CARILLI, A., 1948. Osservazioni di campo su *Corynebacterium michiganense* (Smith) Jensen e considerazioni su un possibile caso di sua sopravvivenza nel terreno. *Bollettino Della Stazione Di Patologia a Vegetale*, 6:277-80.
- ÇAKMAKÇI, R., 2005. Bitki gelişiminde fosfat çözücü bakterilerin önemi. *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19:93-108.
- ÇINAR, Ö., 1978. Yapay Ortamda *Corynebacterium michiganense* (Erwin F. Smith) Jensen, *Pseudomonas tomato* (Okabe) Alstatt ve *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge) Dowson 'ya karşı tarımsal savaş preparatları biyolojik savaş etkinliklerinin saptanması. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yıllığı Sayı 1.
- ÇINAR, Ö., 1980. Bakteriyel Domates solgunluğu hastalığı (*Corynebacterium michiganense* (Erwin. F. Smith) Jensen)' nın tanımı, savaş yöntemleri ve etmene karşı dayanıklı domates çeşitleri üzerine araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 139- Bilimsel Araştırma ve İnceleme Tezleri.
- COLIGAN, J. E., KRUESBEEK, A. M., MARGULIES, D. H. SHEVACH, E. M. STROBER, W., 1991. *Current Protocols in Immunology*. (John Wiley & Sons) New York.
- COMPANT, S., DUFFY, B., NOWAK, J., CLEMENT, C., and AIT BARKA, E., 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant

- diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:4951-4959.
- DAFERERA D. J., ZIOGAS, B. N., and POLISSIOU, M. G., 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection*, 22:39-44.
- DE BOER, S. H., WARD, L. J., 1995. PCR detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroceptica* associated with potato tissue. *Phytopathology*, 85:854-858.
- DHANVANTARI, B.N., 1989. Effect of seed extraction methods and seed treatments on control of tomato bacterial canker. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 11:400-408.
- DREIER, J., BERMPOHL, A., and EICHENLAUB, R., 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Phytopathology*, 85:462-468.
- DWIVEDI, D., and JOHRI, B. N., 2003. Antifungals from fluorescent pseudomonads: Biosynthesis and regulation. *Current Science*, 85:1693-1703.
- ESITKEN, A., KARLIDAG, H., ERCISLI, S., TURAN, M., and SAHIN, F., 2003. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of Apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hacıhaliloglu). *Australian Journal of Agricultural Research*, 54:377– 380.
- FATMI, M., and SCHAAD N. W., 1988. Semiselective agar medium for isolation of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* from tomato seed. *Phytopathology*, 78:121-126.
- 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.

- FATMI, M., and SCHAAD N. W., 2002. Survival of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in infected tomato stem under field conditions in California, Ohio and Morocco. Plant Pathology, 51:149-154.
- FORSTER, R. L., and ECHANDI, E., 1973. Relation of age of plants, temperature, and inoculum concentration to bacterial canker development in resistant and susceptible *Lycopersicon* spp. Phytopathology, 63:773-777.
- GARTEMANN, K. H., KIRCHNER, O., ENGEMANN, J., GRAFEN, I., EICHENLAUB, R. and BURGER, A., 2003. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: first steps in understanding of virulence of a gram-positive phytopathogenic bacterium. Journal of Biotechnology, 106:179-191.
- GEYLANI, E., SAYGILI, H., AYSAN, Y., CETINKAYA YILDIZ, R., and SAHIN, F., 2005. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from infected tomato seeds using conventional and molecular methods. 5th ISTA-SHC Seed Health Symposium, May 10-13, Anger, France, pp27.
- GITAITIS, R. D., BEAVER, R. W., and DHANVANTARI, B. N., 1989. Detection of *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* in tomato transplants (A. W. Seattler, N. W. Schaad and D. A. Roth, Edts.). The American Phytopathological Society. Minnesota, USA. 116-122.
- GITAITIS, R. D., 1990. Induction of hypersensitivelike reaction in four-o'clock by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Plant Disease, 74:58-60.
- GITAITIS, R. D., and BEAVER, R.W., 1990. Characterization of fatty acid methyl ester content of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Phytopathology, 80:318-321.
- GLEASON, M. L., BRAUN, E. J., CARLTON W. M., and PETERSON, R. H., 1991. Survival and disesemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomatoes. Phytopathology, 81:519-1523.

- GLEASON, M. L., GITAÏTIS, R. D. and RICKER M. D., 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern north America. *Plant Disease*, 77:1069-1076.
- GLICK, B. R., and BASHAN, Y., 1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*, 15:353-378.
- GROGAN, R. G. and KENDRICK, J. B., 1953. Seed transmission mode of overwintering and spread of bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense*. *Phytopathology*, 43:473.
- HADAS, R., KRITZMAN, G., KLIETMAN, 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,
- HALDER, A. K., MISHRA, A. K., BHATTACHARYYA, P., CHAKRABARTTY, P. K., 1990. Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*. *Journal of General and Applied Microbiology*, 36:81-92.
- HALL, J. A., PEIRSON, D., GHOSH, S., and GLICK, B. R., 1996. Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Isr. J. Plant Sci.*, 44:37-42.
- HAUSBECK, M. K., BELL, J., MEDINA-MORA, C. M., PODOLSKY, R., and FULBRIGHT, D. W., 2000. Effect of bactericides on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on tomatoes in the greenhouse and on disease development and crop yield in the field. *Phytopathology*, 90:38-44.
- HENNINGSON, P. J., and GUDMESTAD, N. C., 1991. Fatty acid analysis of phytopathogenic Coryneform bacteria. *Journal of General Microbiology*, 137:427-440.
- HIRANO, K., HAYATSU, M., NIOH, H., NAKAI, H., 2001. Comparision of nitrogen fixing bacterial flora of rice rhizosphere in the fields treataed

- long term with agrochemical and non-agrochemicals. *Microbes and Environment*, 16:155-160.
- IMI (1996) Distribution maps of plant diseases: Map No: 26. CAB International Wallingford, UK.
- IOANNOU, N., PSALLIDASAND, P. G. and GLYNOS, P., 2000. First record of bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*) on tomato in Cyprus. *Journal of Phytopathology*, 148:383-386.
- JAHR, H., BAHRO, H., BURGER, A., AHLEMEYER, J., and EICHLAUB, R., 1999. Interaction between *Clavibacter michiganensis* and its host plants. *Environmental Microbiology*, 1:113-118.
- JAMES, E. K., REIS, M. VM., OLIVARES, F. L., BALDANI, J. I., and DÖBEREINER, J., 1994. Infection of sugar cane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus*. *Journal of Experiment Botany*, 45:757-766.
- JOHRI, J. K., SURANGE, S., NARULA, C. S., 1999. Occurrence of salt, pH, and temperature-tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils. *Current Microbiology*, 39:89-93.
- KAAYA, N. A. K. F., and NIEVES MORTENSEN, C., 1993. Evaluation of a testing method in the detection of phytopathogenic bacteria in tomato seed. 1st ISTA, Plant Diseases Committee, Symposium on Seed Health, P. 23-32, Ottawa, Canada, 9-11 August.
- KADO, C. I. and HESKETT, M. G., 1970. Selective media for isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas* and *Xanthomonas*. *Phytopathology*, 60:967-976.
- KARACA, İ., ve SAYGILI, H., 1982. Batı Anadolunun bazı illerinde domates ve biberde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar. III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 12-15 Ekim, Adana, 182-192.
- KARMAN, M., 1971. Bitki koruma araştırmalarında genel bilgiler. Denemelerin kuruluşu ve değerlendirme esasları. T. C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları Mesleki Kitaplar Serisi: 279.

- KHALID, A., ARSHAD, M., and ZAHIR, Z. A., 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96:473-480.
- KING, E. O., WARD, M. K., RANEY, D. E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44:301-307.
- KLEMENT, Z., MAVRIDIS, A., RUDOLPH, K., VIDAVER, A., 1990. Inoculation of plant tissue. In: *Methods in Phytobacteriology* (Edts: Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D. C), 99.
- KLOPPER, J. W., LEONG, J., TEINTZE, M., SCHROTH, M. N., 1980. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature*, 286:885-886.
- KRISHNAMURTHY, K., GNANAMARICKAM, S. S., 1998. Biological control of rice blast by *Pseudomonas fluorescens* strain Pf-14: evaluation of a marker gene and formulations. *Biological Control*, 13:158-165.
- KRITZMAN, G., 1993. A Chemo-thermal treatment for control of seedborne Bacterial Pathogens of Tomato. *Phytoparasitica*, 21:101-109.
- KUC, J., 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology*, 107:7-12.
- KULKARNI, S., NAUTIYAL, C. S., 2000. Effects of salt and pH stress on temperature-tolerant *Rhizobium* sp. NBRI330 nodulating *Prosopis juliflora*. *Current Microbiology*, 40:221-226.
- KUMAR, V., and NARULA, B., 1999. Solubilization of inorganic phosphates and growth emergence of wheat as affected by *A. chroococcum* mutants. *Biology and Fertility of Soils*, 28:301-305.
- KÜSEK, M., 2007. Asmada (*Vitis vinifera* L.) ura neden olan *Agrobacterium vitis*'in tanılanması ve mücadele olanaklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- LELLIOT, R.A., and STEAD, D.E., 1987. Diagnostic procedures for bacterial plant diseases. In *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants* 58-59. Blackwell Scientific Publications, 216.

- LOUWS, F. J., BELL, J., MEDINA-MORA, C. M., SMART, C. D., OPGENORTH, D., ISHIMARU, C. A., BRUJIN, F. J., FULBRIGTH, D. W., 1998. Rep-PCR mediated genomic fingerprinting: A rapid and effective method to identify *Clavibacter michiganensis*. *Phytopathology*, 88:862.
- METZLER, M. C., LAÏNE, M. J., and DE BOER, S. H. 1997. The status of molecular biological research on the plant pathogenic Genus *Clavibacter*. *FEMS Microbiology Letters* 150:1-8.
- MİRİK, M., 2005. Biberde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın tanınması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanakları. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- MONTESINOS, E., BONATERRA, A., BADOSA, E., FRANCES, J., ALEMANY, J., LLORENTE, I., MORAGREGA., C. 2002. Plant-microbe interactions and the new biotechnological methods of plant disease control. *Int. Microbiology*, 5:169–175.
- MURPHY, J. F., REDDY, M. S., RYU, C. M., KLOEPPER, J. W., and LI, R., 2003. Rhizobacteria-mediated growth promoting of tomato leads to protection aganis at *Cucumber mosaic virus*. *Pakistan Journal of Biological Science*, 6:1269-1272.
- NARIO, K., FUMIHIRO, Y., TAKAHIRO, K., and YUJI, N., 2001. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by Enzyme-Linked Immunosorvent Assay (ELISA) using the biochin-avidin System. *Proceedings of the Association for Plant Protection of Kyushu*, 47:9-12.
- NAUTİYAL, C. S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170:265-270.
- NAUTİYAL, C. S., BHADAURIA, S., KUMAR, P., LAL, H., MONDAL, R., VERMA, D., 2000. Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiology Letters*, 182:291-296.

- NEDUMARAN, S., and VIDHYASEKARAN, P., 1982. Seed-borne infection of *Corynebacterium michiganense*. Indian Phytopathology-Phytopathology Notes, 35:510.
- NEDUMARAN, S., and VIDHYASEKARAN, P., 1982a. Techniques to detect *Corynebacterium michiganense* pv. *michiganense* infection in tomato seed. Indian Phytopathology-Phytopathology Notes, 35:143-144.
- NEJAD, P., and JOHNSON, P. A., 2000. Endophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. Biological Control, 18:208-215.
- OMER, M. A., 2002. Domates bakteriyel kanseri etmeninin (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) tanısında moleküler ve serolojik metotların kullanımı. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı. Doktora Tezi 69 sayfa.
- ÖZAKTAN, H., 1991. Domates Bakteriyel Solgunluğu (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). İle Savaşım Olanakları Üzerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Doktora tezi
- OZDEMİR, Z., 2005. First report of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, on processing tomato in Turkey. Plant Pathology Journal, 4:143-145.
- OZDEMİR, Z., 2005a. Development of a Multiplex PCR Assay for concurrent detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*. Plant Pathology Journal, 4:133–137.
- OZERETSKOVSKAYA, O. L., 1995. Induced resistance in the Solanaceae.: Induced Resistance to Disease in Plants. (Edts. Hammerschmidt, R. and Kuc, J.) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London. 182 p.
- PATINO-MENDEZ, G., 1964. Studies on the pathogenicity of *Corynebacterium michiganense* (E. F. Smith) Jensen and its transmission into tomato seed. PhD Thesis. Davis, CA, USA: University of California.

- PIERSON, E. A., and WELLER, D. M. 1994. Use of mixtures of fluorescent pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. *Phytopathology*, 84:940-947.
- RAUPACH, G. S., and KLOEPPER, J.W., 1998. Mixtures of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology*, 88:1158-1164.
- 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.
- RITCHIE, D. F., and DITTAPONGPITCH, V., 1991. Copper and streptomycin resistant strains and host differentiated race of *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* in north Carolina. *Plant Diseases*, 75:733-736.
- ROMERO, A. M., CORREA, O.S., MOCCIA, S., AND RIVAS, J.G. 2003. Effect of Azospirillum-mediated plant growth promotion on The development of bacterial diseases On Fresh-Market And Cherry Tomato. *Journal of Applied Microbiology*, 95: 832–838.
- SAHİN, F., USLU, H., KOTAN, R. and DONMEZ, F. 2002. Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. *Plant Pathology*, 51:399.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., and MANIATIS, T., 1989. Molecular cloning-a Laboratory Manual: Second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- SANDS, D. C., 1990. Physiological criteria-determinate tests. In: *Methods in Phytobacteriology*. (Edts. Klement, Z.; Rhudolp, K.; Sands, D. C.) Academia Kiado, Budapest, Hungary.
- SANTOS, M, S., CRUZ, L., NORSEKOV, P., and RASMUSSEN, O. F., 1997. A Rapid and sensitive detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds by polymerase chain reaction. *Seed Science and Technology*, 25:581-584.
- SHERF, A. F., and MACNAB, A. A., 1986. Vegetable diseases and their control. A Wiley Interscience Publication, New York, 711 p.

- SILVA, H. S. A., ROMEIRO, R. S., and MOUNTEER, A., 2003. Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agent. *Journal of Phytopathology*, 151:42-46.
- SINGH, S., and KAPOOR, K. K., 1999. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol Fertil Soils*, 28:139-144.
- SOYLU E. M., SOYLU S., and BAYSAL, Ö., 2003a. Induction of diseases resistance and antioxidant enzymes by Acibenzolar –S- Methyl against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato. *Journal of Plant Pathology*, 85:175-181.
- SOYLU S., BAYSAL, Ö. and SOYLU E., M., 2003b. Induction of diseases resistance by the plant activator Acibenzolar-S-Methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato Seedlings. *Plant Science*, 165:1069-1075.
- STRIDER, D. L., 1967. Survival studies with the tomato bacterial canker organism. *Phytopathology*, 67:1067-1071.
- TAIWO, L. B., and OSO, B. A., 1997. The Influence of some pesticides on soil microbial flora in relation to changes in nutrient level, rock phosphate solubilization and P release under laboratory conditions. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 65:59-68.
- THYR, B. D., WEBB R., E., JAWORSKI, C. A., and RATCLIFE, T. C., 1973. Tomato bacterial canker: control by seed treatment. *Plant Diseases Reporter*, 57:974- 977.
- TOKGONUL, S., ÇINAR, O., and RUDOLPH, K., 1997. The effect of soil solarization on bacterial canker of tomato in the Mediterranean Region of Turkey. *Second International Conference on Soil Solarization and Integrated Management of Soilborne Pests*. March, 16-21, Aleppo, Syria
- TOKGÖNÜL, S., 1998. Ticari Domates Tohumlarında Bakteriyel Solgunluk Etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin

- Etmeninin Saptanması ve Mücadele Olanakları Üzerine Araştırmalar.
Ç. Ü. Ziraat Fakültesi – Doktora Tezi 93 sayfa.
- TOKGÖNÜL, S. ve ÇINAR, Ö., 1999. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ile mücadelede antagonist bakterilerin kullanım olanakları. Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi, 26-29 Ocak, 1999, Adana.
- TON, J., PIETERSE, C. M., and Van LOON, L. C., 1999. Identification of a locus in arabidopsis controlling both the expression of rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) and basal resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Mol. Plant Microbe Interact., 12:911–918.
- TREVORS, J. T., and FINNEN, R. J., 1990. Plant and Soil, 126:141-143.
- URASHIMA, Y., and HORI, K., 2003. Selection of PGPR which promotes the growth of spinach. Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 74:157-162.
- UTKHEDE, R., and KOCH, C., 2004. Biological treatments to control bacterial canker of greenhouse tomatoes. Biocontrol, 49:305-313.
- VAN LOON, L. C., BAKKER, P. A. H. M., PIETERSE, C. M. J., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review of Phytopathology, 36:453-483.
- VAN VAERENBERGH, J. P. C. and CHAUVEAU, J. F., 1987. Detection of *Corynebacterium michiganense* in Tomato Seed Lots. OEPP / EPPO Bulletin, 17:131-138.
- VAZQUEZ, P., HOLGUIN, G., PUENTE, M. E., LOPEZ-CORTES, A., BASHAN, Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. [Biology and Fertility of Soils](#), 30:460-468.
- VUNAKIS, H. V., 1980. Radioimmunoassay: An Overview. In: (Engvall, E.: Enzyme immunoassay ELISA and EMIT Methods in Enzymology), Academic Press, New York, p.419-439.
- WEI, G., KLOPPER, J. W., and TUZUN, S., 1996. Induction of systemic resistance to cucumber diseases and increases plant growth by plant

- growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*, 86:221-224.
- WELLER, D. M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 379-407.
- WERNER, N. A., FULBRIGTH, D. W., PODOLSKY, R., BELL, J. and HAUSBECK, M. K., 2002. Limiting populations and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on seedling tomatoes in the greenhouse. *Plant Disease*, 86:535-542.
- YAN, Z., REDDY M. S., and KLOEPPER, J. W., 2003. Survival and colonization of rhizobacteria in a tomato transplant system. *Canadian Journal of Microbiology*, 49:383-389.
- ZEHNDER, G. W., MURPHY, J. F., SIKORA, E. J., and KLOEPPER, J. W., 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. *European Journal of Plant Pathology*, 107:39-50

ÖZGEÇMİŞ

16/08/1977 yılında Adana’da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana’da tamamladım. 1994 yılında başladığım Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü’nden 1998 yılında mezun oldum ve aynı yıl Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilimdalı Bakteriyoloji Laboratuvarında yüksek lisansa başladım ve 2002 yılında tamamladım. 2002 yılında ‘Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığına (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis Et Al.) Karşı Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakterilerle Dayanıklılığın Teşviki Üzerine Araştırmalar’ başlıklı doktora çalışmama başladım. Evli ve bir çocuk annesiyim

EKLER

EK 1

Yeast Dekstroz Kalsiyum Karbonat (YDC) Agar (Lelliott ve Stead, 1987)

Yeast Extract	10.0 g
Dextrose	20.0 g
Calcium Carbonate	20.0 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1000.0 ml
121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

Nutrient Agar (NA) Besi Yeri (Lelliott ve Stead, 1987)

Nutrient Agar	13.0 g
Distile Su	1000.0 ml
121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

Nutrient Broth Sıvı Besi Yeri (Lelliott ve Stead 1987)

Nutrient broth	8.0 g
Distile Su	1000.0 ml
121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

King B Besi Yeri (King ve ark 1954)

Proteose Peptone	20.0 g
Gliserin	10.0 ml
K ₂ HPO ₄	1.5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	1.5 g
Agar	15.0 g
Distile Su	1000.0 ml
121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

SCM Besi Yeri (Fatmi ve Schaad, 1998)

Yeast extract	0.1 g
Sucrose	10.0 g
H ₃ BO ₃ (boric acid)	1.5 g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.25 g
K ₂ HPO ₄	2.0 g
KH ₂ PO ₄	1.5 g
Agar	15 g
Distile Su	1000.0 ml
Potassium tellurite	1.0 ml (%1 Chapman tellurite solüsyonu Difco)
121°C'de 15 dakika otoklav işleminden sonra soğuk steril edilen aşağıda verilen kimyasallar eklenir	
Nalidixic acid	30.0 mg
Nicotinic acid	100.0 mg (20 mg/ml distile su)
Cycloheximide	200.0 mg (200 mg/ml metanol)

EK 2

ELISA Testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

Phosphate Buffered Saline (PBS). pH:7.4 (Fosfat Tampon Çözeltisi)

NaCl	8.0 g
KH ₂ PO ₄	0.2 g
Na ₂ HPO ₄ veya	1.15 g
Na ₂ HPO ₄ 2H ₂ O	1.44 g
Na ₂ HPO ₄ 7H ₂ O	2.3 g
Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O	2.9 g
KCl	0.2 g
NaN ₃	0.2 g

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 0,1N NaOH veya 0,1N HCl ile ayarlanmış ve +4°C'de saklanmıştır

Coating buffer pH 9.6 (Kaplama Tampon Çözeltisi)

Na ₂ CO ₃	1.59 g
NaHCO ₃	2.93 g
NaN ₃	0.2 g

Yukarıda miktarı verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı ayarlanmış ve +4°C'de saklanmıştır

Washing Buffer (Yıkama Tamponu)

Bir litre PBS tamponu 0.5 ml Tween 20 ilave edilerek hazırlanmıştır.

Sample Extraction Buffer (Örnek Tamponu Çözeltisi)

Bir litre yıkama tamponu çözeltisi içine 20.0 g Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanmıştır.

Enzyme Conjugate Buffer (Konjugate Tampon Çözeltisi)

Bir litre örnek tampon çözeltisine 2.0 g ovalbumin (egg albumin) ilave edilerek hazırlanmıştır.

Substrat Buffer pH:9.8 (Subtrat Tampon Çözeltisi)

97 ml Diethanolamine 800.0 ml saf su içine ilave edildikten sonra 0.2 g NaN₃ konmuş ve HCl ile pH 9,8'e ayarlanarak 1 litreye tamamlanmıştır.

EK 3

PCR Çalışmasında Kullanılan Solüsyonlar

%1'lik Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)

10.0 ml 10xTAE bufferı 90.0 ml su ile karıştırılır ve behere koyulur. Süspansiyon bulunan beher; içerisinde sıcak su bulunan başka bir beher içerisine yerleştirilir ve 1 g Sodium dodecyl sulphate eklenir. Çalkalayıcıda SDS'nin iyice çözülmesi sağlanır.

7.5 M Amonium Acetate

57.75 g Amonium acetate 100.0 ml su içerisinde çözülmüştür.

%1 Agarose Jel

1xTAE buffer içerisine 1.0 g agarose eklenir ve mikrodalgada ısıtılarak erimesi sağlanır.

TAE buffer (10mM Tris. 1mm EDTA. pH:8)

Tris-HCl	0.24 g
EDTA	0.074 g
Distile Su	200.0 ml

TBE buffer

Tris	107.89 g
Borik asit	55.0 g
Na ₂ EDTA	7.44 g
Distile su	1000.0 ml
pH: 8.0	

6.5x Loading Buffer

Bromophenol blue	30.0 mg
5xTBE	4.25 ml

Her ikisi karıştırıldıktan sonra 5.75 ml Gliserin eklenerek +4°C'de saklanır.

EK 4

Yağ Asit Analizi Çalışmasında Kullanılan Ortam ve Çözeltiler

Trypticase Soy Broth Agar (TSBA) Besi yeri

Trypticase Soy Broth (BBL # 11768)	30.0 g
Agar	15.0 g
Distile su	1000.0 ml

121°C’de 15 dakika otoklav edilir.

Çözelti 1

Metil Alkol	150.0 ml
Distile su	150.0 ml
Sodyum Hidroksit	45.0 g

Sırası ile 150.0 ml metil alkol ve 150.0 ml H₂O bir litrelik renkli çözelti şişesine ilave edildikten sonra sodyum hidroksit eklenip iyice karıştırılmıştır.

Çözelti 2

6 N Hidroklorik Asit	325.0 ml
Metil Alkol	225.0 ml

Sırası ile 6N’lik hidroklorik asit ve metil alkol bir litrelik renkli çözelti şişesinde iyice karıştırılmıştır.

Çözelti 3

Methyl-tert-butyl Ether	200.0 ml
Hexane	200.0 ml

Renkli çözelti şişesi içerisinde Metil-tert-butil eter üzerine heksan ilave edilerek hazırlanır.

Çözelti 4

Sodyum Hidroksit	10.8 g
Distile su	900.0 ml

Sırası ile sodyum hidroksit, distile su içerisinde bir litrelik renkli çözelti şişesi içinde çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

EK 5

PGPR'ların İzolasyonunda Kullanılan Besi Yeri

NBRIP–BPB (National Botanical Research Institute phosphate growth medium) Besi Yeri (Nautiyal, 1999)

Glikoz	10.0 g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5.0 g
(NH ₄)SO ₄	0.1 g
MgSO ₄ -7/H ₂ O	0.25 g
KCl	0.2 g
MgCl ₂ 6H ₂ O	5.0 g
Bromophenolblue	0.025 g
Saf su	1000.0 ml
pH 7.0'a ayarlanarak 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir	

NBRIP Besi Yeri (Nautiyal, 2000)

Glikoz	10.0 g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	5.0 g
(NH ₄)SO ₄	0.1 g
MgSO ₄ -7/H ₂ O	0.25 g
KCl	0.2 g
MgCl ₂ 6H ₂ O	5.0 g
Saf su	1000.0 ml
pH 7.0'a ayarlanarak 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

Fosfor Analizinde Kullanılan Çözeltiler

Barton Çözeltisi (Barton, 1948)

(NH ₄) ₂ Mo ₇ O _{24.4} H ₂ O	25.0 g*
NH ₄ VO ₃	1.25 g**

*25,0 g (NH₄)₂Mo₇O_{24.4}H₂O 400 ml saf su içerisinde eritilir. Erimeyi kolaylaştırmak için 50 °C'ye kadar ısıtılır ve gerekirse süzülür.

**1,25 g NH₄VO₃ 1000 ml'lik ölçü balonu içerisinde 300 ml kaynar saf suda eritilmiştir. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra üzerine 250 ml konsantrik nitrik asit sp. (1,41 g) ilave edilmiş ve çalkalanmıştır.

Asit ilavesinden sonra oda sıcaklığına kadar soğutulan NH₄VO₃ çözeltisi üzerine çalkalanarak (NH₄)₂Mo₇O_{24.4}H₂O çözeltisi ilave edilmiştir.

Standart Fosfor Çözeltisi

KH ₂ PO ₄	0.2196 g*
---------------------------------	-----------

*40 °C'de kurutulmuş KH₂PO₄ 1000.0 ml'lik ölçü balonu içerisinde eritilmiştir. Bu çözelti 50 ppm Fosfor ihtiva etmektedir.