



**FASULYEDE ADİ BAKTERİYEL YANIKLIK HASTALIĞI ETMENLERİNİN  
BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE ANTAGONİST BAKTERİLERİN  
KULLANIMI**

**Hazırlayan: Ayten ATAY**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen YEŞİLDAĞ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**TARIM BİLİMLERİ ANABİLİM DALI**

**İĞDIR/2023**

**Her Hakkı Saklıdır**

**T.C.**  
**İĞDIR ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FASULYEDE ADİ BAKTERİYEL YANIKLIK HASTALIĞI ETMENLERİNİN**  
**BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE ANTAGONİST BAKTERİLERİN**  
**KULLANIMI**

**Ayten ATAY**

**TARIM BİLİMLERİ ANABİLİM DALI**

**İĞDIR/2023**  
**Her Hakkı Saklıdır**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içinde bulunan bütün bilgilerin etik davranışlar ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başlıca kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynak kısmında eksiksiz olarak gösterdiğimi bildiririm.

**Ayten ATAY**



Bu çalışma Iğdır Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Merkezi tarafından desteklenmiştir.  
Proje No: ZiF0322104

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

## ÖZET

### FASULYEDE ADİ BAKTERİYEL YANIKLIK HASTALIĞI ETMENLERİNİN BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE ANTAGONİST BAKTERİLERİN KULLANIMI

ATAY, Ayten

Yüksek Lisans Tezi

Tarım Bilimleri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen YEŞİLDAĞ

Temmuz 2023, 70 sayfa

Bu çalışmada, fasulye bitkisinde adi bakteriyel yanıklık hastalığına neden olan *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Xpp) (MFD 442 ve MFD 270) ve *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*'ın (Xcf) (MFD 265 ve MFD 266) antagonist bakteri strainleri ile biyolojik kontrolü araştırılmıştır. Bu amaçla farklı kaynaklardan bakteri izolasyonu yapılmıştır ve elde edilen 78 bakteri straininin yağ asit metil ester analizi ile tanıları yapılmıştır. Ayrıca antibakteriyel etkisi belirlenen bazı strainlerin 16S rRNA dizi analizi ile de tanısı yapılmıştır. *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin Xpp ve Xcf'ye karşı antagonistik etkileri test edilmiştir. Sonuçlar Xpp için değerlendirildiğinde, MFD 442 strainine karşı 9, MFD 270 strainine karşı 5 strain etkili bulunmuştur. *In vitro* bulgular Xcf için değerlendirildiğinde ise MFD 265 strainine karşı 14 ve MFD 266 strainine karşı ise 10 bakteri straininin etkili olduğu tespit edilmiştir. Strainlerin Xpp gelişimini 10,5-28 mm, Xcf gelişimini ise 0,95-37 mm inhibisyon zonu oluşturarak engelledikleri saptanmıştır. Her iki patojen strainine karşı etkili bulunan antagonist bakteri strainleri seçilerek *in vivo* ortamda adi bakteriyel yanıklık hastalığının gelişimine etkileri araştırılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 8 uygulama ile (tek ve kombinasyon şeklinde) 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Uygulamaların kontrol grubuna kıyasla %45-100 oranlarında etki göstererek hastalık gelişimini engellediği tespit edilmiştir. İki *B. subtilis* strainin (IT159 ve IT162) ve *B. mycoides* strain ÖBF71'in Xpp'nin neden olduğu hastalık gelişimini %100 engellediği tespit edilmiştir. *B. subtilis* strain IT159'un ise Xcf'nin neden olduğu hastalığı %100 kontrol ettiği belirlenmiştir. Patojen strainlerine karşı etkili bulunan 20 bakteri straininin azot fikse etme, fosfor, potasyum ve kalsiyum çözme yetenekleri, pektolitik aktiviteleri, farklı pH ve tuz konsantrasyonlarında gelişme özellikleri belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Biyolojik kontrol, fasulye, *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*, *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*

## ABSTRACT

### USE OF ANTAGONIST BACTERIA IN BIOLOGICAL CONTROL OF COMMON BACTERIAL BLIGHT DISEASE AGENTS IN BEANS

ATAY, Ayten

Master's Thesis

Agricultural Sciences

Thesis Adviser: Assist. Prof. Dr. Mesude Figen YEŞİLDAĞ

July 2023, 70 pages

In this study, the biological control using antagonist bacterial strains of *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* (Xpp) (MFD 442 and MFD 270) and *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans* (Xcf) (MFD 265 and MFD 266), which cause common leaf blight disease in bean plants, was investigated. For this purpose, bacteria were isolated from different sources and 78 strains were identified by fatty acid methyl ester analysis. In addition, the some of strains whose antibacterial effects were determined were identified by 16S rRNA sequence analysis. Antagonistic effects of bacterial against Xpp and Xcf were tested *in vitro*. When the results were evaluated for Xpp, 9 strains were found effective against MFD 442 strain and 5 strains against MFD 270 strain. When the *in vitro* findings were evaluated for Xcf, 14 bacterial strains were found to be effective against MFD 265 strain and 10 bacterial strains against MFD 266 strain. It was determined that strains inhibited the growth of Xpp by forming an inhibition zone of 10.5-28 mm and the development of Xcf by forming an inhibition zone of 0.95-37 mm. Antagonist bacteria strains found to be effective against both pathogen bacteria strains were selected and their effects on the development of common leaf blight were investigated *in vivo*. The experiment was carried out according to the randomized plot design with 8 applications (single and combination) with 3 replicates. It was determined that the applications prevented the development of the disease by showing an effect of 45-100% compared to the control group. Two *B. subtilis* strains (IT159 and IT162) and *B. mycoides* strain ÖBF71 were found to inhibit the development of Xpp caused disease 100%. It was determined that *B. subtilis* strain IT159 controlled the disease caused by Xcf 100%. Nitrogen fixation, phosphorus, potassium and calcium dissolving abilities, pectolytic activities, growth characteristics at different pH and salt concentrations of 20 bacterial strains found to be effective against pathogen strains were determined.

**Keywords:** Biological control, bean, *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*, *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*

## ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Fasulye üretiminde hastalığa neden olan bakteriyel etmenler arasında *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* ve *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*'ın neden olduğu fasulye adi bakteriyel yanıklık hastalığı ciddi ekonomik ürün kayıpları oluşturmaktadır. Hastalık ile mücadelede kültürel önlemlerin yetersiz kalması ve etkili bir kimyasal kontrolün olmamasından dolayı alternatif mücadele yöntemleri önem kazanmaktadır. Ayrıca tarımsal üretimde pestisitlerin bilinçsizce kullanılması insan ve çevre sağlığını tehdit etmekte ve ekosistemin dengesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle tez çalışmada, fasulye adi bakteriyel yanıklık hastalığının oluşturacağı verim ve kalite kayıplarının önüne geçebilmek için patojene karşı biyolojik kontrol olanaklarının araştırılması hedeflenmiştir. Bu hedef doğrultusunda Xpp ve Xcf'ye karşı aday antagonist bakteri strainlerinin izolasyonu ve tanısı yapılmış, elde edilen strainlerin bitki gelişimini teşvik edici bazı özellikleri belirlenmiştir. Ardından *in vitro* ortamda patojenlere karşı bakteri strainlerinin antimikrobiyal aktivitesi test edilmiş, başarılı bulunan bakteri strainlerinin patojene karşı fasulye bitkilerini korumadaki etkisi saksı denemelerinde araştırılmıştır.

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinde, planlanmasında, laboratuvar çalışmalarının yürütülmesinde ve sonuçların değerlendirilmesinde maddi ve manevi desteğini hissettiğim, üzerimde çok emeği olan kıymetli danışmanım, Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen YEŞİLDAĞ hocama sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım. Tez çalışmamın her aşamasında destek ve yardımlarıyla yanımda olan kıymetli arkadaşlarım Ziraat Yüksek Mühendisi Büşran SUNYAR ve Ziraat Yüksek Mühendisi Işıl TEMEL'e teşekkür ederim. Çalışmamıza maddi kaynak sağlayan Iğdır Üniversitesi BAP birimine teşekkür ederim. Öğrencilik hayatım boyunca her zaman yanımda olan beni maddi ve manevi destekleriyle yalnız bırakmayan aileme sonsuz teşekkür ederim.

**Ayten ATAY**  
**IĞDIR/2023**

## İÇİNDEKİLER

Sayfa No

|                                                                                            |      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ÖZET.....                                                                                  | i    |
| ABSTRACT .....                                                                             | ii   |
| ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....                                                                     | iii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                          | iv   |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                       | vi   |
| ŞEKİLLERİN DİZİNİ.....                                                                     | vii  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                    | viii |
| 1. GİRİŞ .....                                                                             | 1    |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                                                   | 10   |
| 3. MATERYAL ve METOT .....                                                                 | 16   |
| 3.1. Materyal.....                                                                         | 16   |
| 3.1.1. Çalışmada kullanılan patojen bakteri strainleri .....                               | 16   |
| 3.1.2. Çalışmada kullanılan aday antagonist bakteri strainleri .....                       | 16   |
| 3.1.3. Çalışmada kullanılan bitki materyali .....                                          | 17   |
| 3.2. Metot .....                                                                           | 17   |
| 3.2.1. Aday antagonist bakteri strainlerinin izolasyonu .....                              | 17   |
| 3.2.2. Kök ve yapraktan izolasyon.....                                                     | 17   |
| 3.2.3. Topraktan izolasyon.....                                                            | 18   |
| 3.2.4. Bakteri izolatlarının stok kültürlerinin hazırlanması .....                         | 18   |
| 3.2.5. Aday antagonist bakteri strainlerinin yağ asit profillerine göre tanımlanması ..... | 19   |
| 3.2.6. Tütünde aşırı duyarlılık testi (Hipersensitif reaksiyon, HR) .....                  | 21   |
| 3.2.7. Antagonist bakteri strainlerinin azot fiksasyonu özelliğinin belirlenmesi ...       | 21   |
| 3.2.8. Antagonist bakteri strainlerinin fosfat çözme özelliğinin belirlenmesi .....        | 22   |
| 3.2.9. Antagonist bakteri strainlerinin potasyum çözme özelliğinin belirlenmesi .....      | 22   |
| 3.2.10. Antagonist bakteri strainlerinin kalsiyum kullanma özelliğinin belirlenmesi.....   | 23   |
| 3.2.11. Antagonist bakteri strainlerinin 37 °C ve 42 °C’de gelişme özelliği .....          | 23   |
| 3.2.12. Antagonist bakteri strainlerinin % 2 ve % 5 NaCl’ da gelişme özelliği.....         | 23   |

|                                                                                                                                                                                               |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.2.13. Antagonist bakterileri strainlerinin pektolitik aktivitelerinin belirlenmesi                                                                                                          | 23        |
| 3.2.14. Aday antagonist bakteri strainlerinin <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>phaseoli</i> ve <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>fuscans</i> ’a karşı biyokontrol etkilerinin belirlenmesi | 24        |
| 3.2.14.1. Petri denemesi                                                                                                                                                                      | 24        |
| 3.2.15.2. Saksı denemesi                                                                                                                                                                      | 25        |
| 3.2.15. Uygulamaların yaprağın klorofil içeriğine etkisi                                                                                                                                      | 27        |
| 3.2.16. Patojene karşı etkili bulunan bakteri strainlerinin moleküler yöntemle tanısı                                                                                                         | 27        |
| <b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b>                                                                                                                                                                | <b>29</b> |
| 4.1. İzolasyon Çalışması Sonuçları                                                                                                                                                            | 29        |
| 4.2. Bakteri Strainlerinin Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı                                                                                                                                  | 29        |
| 4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi                                                                                                                              | 32        |
| 4.4. Antagonist Bakteri Strainlerinin Azot Fikse Etme Özelliğinin Belirlenmesi                                                                                                                | 32        |
| 4.5. Antagonist Bakteri Strainlerinin Fosfat Çözme Özelliğinin Belirlenmesi                                                                                                                   | 33        |
| 4.6. Antagonist Bakteri Strainlerinin Potasyum Çözme Özelliğinin Belirlenmesi                                                                                                                 | 33        |
| 4.7. Antagonist Bakteri Strainlerinin Kalsiyum Kullanma Özelliğinin Belirlenmesi                                                                                                              | 33        |
| 4.8. Antagonist Bakteri Strainlerinin %2 ve %5 NaCl’ da Gelişme Özelliği                                                                                                                      | 34        |
| 4.9. Antagonist Bakteri Strainlerinin 37 °C ve 42 °C’de Gelişme Özelliği                                                                                                                      | 34        |
| 4.10. Antagonist Bakterileri Strainlerinin Pektolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi                                                                                                            | 34        |
| 4.11. <i>In vitro</i> Ortamda Aday Antagonist Bakteri Strainlerinin Patojen Strainlerine Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi                                                           | 35        |
| 4.12. Saksı Denemesi                                                                                                                                                                          | 40        |
| 4.13. Uygulamaların Yaprakta Klorofil İçeriğine Etkisi                                                                                                                                        | 42        |
| 4.14. Antagonist Bakterilerin Moleküler Tanısı                                                                                                                                                | 43        |
| <b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>                                                                                                                                                                   | <b>49</b> |
| <b>KAYNAKLAR</b>                                                                                                                                                                              | <b>50</b> |
| <b>EKLER</b>                                                                                                                                                                                  | <b>68</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>                                                                                                                                                                               | <b>71</b> |



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

|                   |                  |
|-------------------|------------------|
| <b>Ca</b> .....   | Kalsiyum         |
| <b>K</b> .....    | Potasyum         |
| <b>N</b> .....    | Azot             |
| <b>P</b> .....    | Fosfor           |
| <b>NaCl</b> ..... | Sodyum klorür    |
| <b>°C</b> .....   | Santigrat derece |

### Kısaltmalar

|                   |                                                 |
|-------------------|-------------------------------------------------|
| <b>ABY</b> .....  | Adi Bakteriyel Yanık                            |
| <b>BGTB</b> ..... | Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler         |
| <b>cm</b> .....   | Santimetre                                      |
| <b>da</b> .....   | Dekar                                           |
| <b>Dk</b> .....   | Dakika                                          |
| <b>HR</b> .....   | Hypersensitif Reaksiyon                         |
| <b>mm</b> .....   | Milimetre                                       |
| <b>MIS</b> .....  | Microbial Identification System                 |
| <b>NA</b> .....   | Nutrient Agar                                   |
| <b>NB</b> .....   | Nutrient Broth                                  |
| <b>pH</b> .....   | Hidrojen iyonu konsantrasyonu                   |
| <b>Rpm</b> .....  | Dakikada devir sayısı                           |
| <b>rRNA</b> ..... | Ribozomal RNA                                   |
| <b>Sn</b> .....   | Saniye                                          |
| <b>sp</b> .....   | Tür                                             |
| <b>spp</b> .....  | Bir cinse ait tüm türler                        |
| <b>YAME</b> ..... | Yağ asit metil ester                            |
| <b>YDCA</b> ..... | Yeast Dekstrose Carbonate Agar                  |
| <b>Xcf</b> .....  | <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>fuscans</i>  |
| <b>Xpp</b> .....  | <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>phaseoli</i> |

## ŞEKİLLERİN DİZİNİ

### Sayfa No

|                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1. Sağlıklı fasulye bitkilerine ait örneklerden bakteri izolasyonu .....                                                                                                                     | 18 |
| Şekil 3.2. İzole edilen bakteri strainlerinin stok kültürlerinin yapılması .....                                                                                                                     | 19 |
| Şekil 3.3. Bakteri hücrelerinden yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması.....                                                                                                                    | 20 |
| Şekil 3.4. Tütünde HR testi.....                                                                                                                                                                     | 21 |
| Şekil 3.5. Bakteri strainlerinin azot fikse etme özelliğinin test edilmesi.....                                                                                                                      | 22 |
| Şekil 3.6. Patateste pektolitik aktivite testi .....                                                                                                                                                 | 24 |
| Şekil 3.7. Strainlerin patojene karşı biyokontrol etkisinin test edildiği petri denemesine ait bir görüntü.....                                                                                      | 24 |
| Şekil 3.8. Saksı denemesinin kurulması .....                                                                                                                                                         | 25 |
| Şekil 3.9. Patojenin yapraklara spey edilerek inokulasyonu.....                                                                                                                                      | 27 |
| Şekil 4.1. Fosfat çözme özelliği pozitif olan strain AA10 .....                                                                                                                                      | 33 |
| Şekil 4.2. %5 NaCl konsantrasyonunda bakteri strainlerinin gelişimi (a), %2 NaCl'da bakteri strainlerinin gelişimi (b).....                                                                          | 34 |
| Şekil 4.3. Bakteri strainlerinin (a) Xpp strain MFD 442 ve (b) Xpp strain MFD 270 ...                                                                                                                | 39 |
| Şekil 4.4 (a) Xpp'nin neden olduğu hastalık belirtilerinin gelişimi, (b) Xcf'nin neden olduğu hastalık belirtilerinin gelişimi, (c) Negatif kontrol.....                                             | 41 |
| Şekil 4.5. Bakteri uygulamalarının hastalık gelişimine etkisi (%) ( <b>Xpp</b> : <i>Xanthomonas phaseoli</i> pv. <i>phaseoli</i> <b>Xcf</b> : <i>Xanthomonas citri</i> subsp. <i>fuscans</i> ) ..... | 42 |
| Şekil 4.6. Xpp strain+IT162 uygulaması sonrasında klorofil içeriği (a), Xcf+IT162 uygulaması sonrasında klorofil içeriği (b) .....                                                                   | 43 |
| Şekil 4.7. Bakteri strainlerinin 16S rRNA geninin tür tayini için hedef bölgelerinin amplifikonlarının agaroz jel görüntüsü .....                                                                    | 44 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa No

|                                                                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 3.1.</b> Kültür koleksiyonundan seçilen aday antagonist bakteri strainlerinin test sonuçları .....                                                                                   | 16 |
| <b>Çizelge 3.2.</b> Hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-4 skalası .....                                                                                                       | 26 |
| <b>Çizelge 3.3.</b> Saksı denemesinde yer alan uygulamalar .....                                                                                                                                | 26 |
| <b>Çizelge 4.1.</b> İzolasyon yapılan bitkiler ve elde edilen strain sayıları.....                                                                                                              | 29 |
| <b>Çizelge 4.2.</b> Bakteri strainlerinin YAME analiz tanı sonuçları .....                                                                                                                      | 30 |
| <b>Çizelge 4.3.</b> Biyokontrol etkisi belirlenen bakteri strainlerinin azot fikse etme, fosfat, potasyum, kalsiyumu çözme, NaCl'da gelişme ve pektolitik aktivite testlere ait sonuçları ..... | 35 |
| <b>Çizelge 4.4.</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin Xpp strain MFD 442'ye karşı oluşturduğu zon çapları .....                                                                     | 37 |
| <b>Çizelge 4.5.</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin Xpp strain MFD 270'e karşı oluşturduğu zon çapları .....                                                                      | 37 |
| <b>Çizelge 4.6.</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin Xcf strain MFD 265'e karşı oluşturduğu zon çapları .....                                                                      | 38 |
| <b>Çizelge 4.7.</b> <i>In vitro</i> ortamda bakteri strainlerinin Xcf strain MFD 266'ya karşı oluşturduğu zon çapları .....                                                                     | 38 |
| <b>Çizelge 4.8.</b> Hastalık şiddetinin belirlenmesi .....                                                                                                                                      | 40 |
| <b>Çizelge 4.9.</b> Uygulamaların fasulye yapraklarının klorofil içeriğine etkisi.....                                                                                                          | 43 |
| <b>Çizelge 4.10.</b> Bakteri strainlerinin 16S rRNA dizi analizine ait tanı sonuçları .....                                                                                                     | 44 |

## 1. GİRİŞ

Baklagiller (Leguminoceae) çiçekli bitkiler içerisinde yer alan en kapsamlı bitki grubudur ve yaklaşık olarak 700 cinsle temsil edilen 18.000 türden oluşmaktadır. Bu kadar geniş bir skalaya sahip olan baklagiller, hayvan ve insan beslenmesinde, ilaç endüstrisinde, mobilya, kâğıt, boya ve reçine yapımında, kozmetik sanayi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca köklerinde nodül oluşturan ve biyolojik azot fiksasyonu yeteneğine sahip olan faydalı bakterileri barındırmaları nedeniyle, toprak verimliliğinin artırılmasında da önemli rol oynamaktadır (Özdemir, 2002).

Baklagillerin önemli bir üyesi olan fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) tek yıllık, sıcak-ılıman iklim bitkisidir. Kökeni Orta Amerika olup 250 yıl önce Anadolu'ya getirilmiştir ve çok geniş bir yayılım alanı bulmuştur. Toprak ve iklim koşulları açısından çok uyumlu olan fasulye taze, kuru, konserve ve turşu olmak üzere değişik şekillerde değerlendirilmektedir. Yüksek protein içeriği, kompleks karbonhidratlar, folik asit, A, B1, B5, B9 ve C vitaminleri, Ca, Mg ve Fe mineralleri ve diyetin diğer temel unsurları açısından zengin olması nedeniyle mükemmel bir besin olarak kabul edilmektedir (Gichangi, 2012). İnsan beslenmesi açısından katkısının yanı sıra kısa bir büyüme döngüsüne sahip olması (Bitocchi *et al.*, 2012) ve her gelir düzeyinden insan tarafından tüketilmesi hemen hemen tüm dünyada bol miktarda tüketilen önemli bir kültür bitkisi olmasına neden olmaktadır (Mwaniki, 2002; Kara *et al.*, 2009).

Fasulye baklagiller içerisinde dünyada en fazla ekim alanına sahip olan bir üründür. Dünya genelinde kuru fasulye ekim alanı 27.715.023.7 hektar olup toplam verim 35.920.593 ton'dur. Taze fasulye ekim alanı ise 1.586.086 ha'dır ve bu alandan elde edilen verim 23.411.172 ton'dur. Ülkelerin üretim miktarlarına bakıldığında, kuru fasulye yetiştiriciliğinde Hindistan'ın 6.120.000 ton üretim ile ilk sırayı aldığı, bu ülkeyi 2.899.864 ton ile Brezilya, 2.483.070 ton ile Myanmar, 1.292.997 ton ile Çin Halk Cumhuriyeti ve 1.020.087 ton ile ABD'nin takip ettiği görülmektedir (FAO, 2022). Türkiye'de toplam kuru fasulye ekim alanı ise yaklaşık 970 bin dekadır ve üretim miktarı 270 bin tondur (TÜİK, 2022). Taze fasulye yetiştiriciliğinde ise, 18.090.542 ton üretim ile Çin ilk sırada yer almakta, Endonezya 904.043 ton ile ikinci, Hindistan

661.923 ton ile üçüncü, Türkiye 510.366 ton ile dördüncü ve Fransa 374.730 ton ile beşinci sırada bulunmaktadır (FAO, 2022).

Türkiye’de en fazla üretimi yapılan sebze türlerinden birisi olan fasulyenin hem sahil hem de iç bölgelerde yetiştiriciliği yapılmakta ve genellikle tarla şartlarında bodur ve sırk çeşitler tercih edilmektedir. Taze ve kuru olarak üretilen fasulye hemen hemen her bölgede yetiştirilmekte ancak en fazla üretim Orta ve İç Anadolu bölgelerinde yapılmaktadır (Özdemir, 2002).

Fasulye yetiştiriciliği süresince görülen fungal, bakteriyel ve viral hastalıklar; düşük verimin başlıca nedenleri arasında kabul edilmektedir (Ferreira *et al.*, 2003). Fasulyede adi bakteriyel yanıklığına neden olan *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* ve *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*, hale yanıklığına neden olan *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* ve bakteriyel kahverengi leke hastalığını oluşturan *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* yıkıcı ve ekonomik açıdan önemli bakteriyel patojenlerdir (Paiva *et al.*, 2018). Her üç hastalık da yıkıcı ve ekonomik açıdan önemli olmasına rağmen, adi bakteriyel yanıklığı dünya çapında daha yaygın görülen ve daha fazla verim kaybına neden olan bir hastalık olarak daha çok dikkat çekmektedir (Bianchini *et al.*, 2005). Patojen tohum üretim alanlarının %83’ünde, ticari alanlarda ise %79’a varan oranlarda bulunmakta, verimi %55 azaltmaktadır (Fourie, 2002; Katungi *et al.*, 2009). Yüksek bağıl nem ile 27 °C sıcaklıklarda bu oran artmakta ve %75-100’e ulaşarak fasulye üretimini kısıtlamaktadır (Belachew *et al.*, 2015, Belete and Bastas, 2017).

*Xanthomonas* cinsi Xanthomonadacea familyası içerisinde Xanthomonadales takımında yer almaktadır. Yaklaşık 400 konukçu bitkide hastalığa neden olan *Xanthomonas* cinsi 27 türden oluşmaktadır ve patojenik strainler yüksek derecede konukçu özgüllüğü (host spesifik) göstermektedir (Benson *et al.*, 2009). Yani tipik olarak *Xanthomonas* strainleri, yalnızca izole edildikleri konukçu türlerde hastalığa neden olmakta ve diğer bakteri türlerine kıyasla konukçu dokuda daha yavaş gelişmektedir (Agrios, 2005). Fasulye adi bakteriyel yanıklığı hastalığına, *X. phaseoli* pv. *phaseoli* (daha önce *X. axonopodis* pv. *phaseoli*) ve *X. citri* subsp. *fuscans* (daha önce *X. fuscans* subsp. *fuscans*) olmak üzere iki *Xanthomonas* türü neden olmaktadır (Mhedbi-Hajri *et al.*, 2013; Constantin *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2018). İki organizmanın sıklıkla birlikte bulunduğu, aynı hastalık döngüsüne sahip olduğu ve dünyanın birçok

fasulye üretim bölgesinde hastalık oluşturduğu bildirilmektedir (Selamawit, 2004). Patojenlerden *X. citri* subsp. *fuscans* (Xcf)'a ait koloniler, tirozin içeren besi ortamında 2-9 gün içerisinde belirgin bir kahverengi pigmentasyon (melanin) üretimi ile fenotipik olarak ayırt edilmektedir (Fourie, 2002). *Xanthomonas phaseoli* pv. *pahseoli* (Xpp) ise Nutrient Agar (NA) üzerinde oluşturduğu sarı, mukoid, konveks koloniler ile tanımlanmaktadır (Schaad *et al.*, 2000). Ayrıca Xpp'ye göre Xcf'in tohumdan fideye geçiş yüzdesinin önemli ölçüde daha yüksek olduğu belirtilmektedir (He, 2010).

Etmen; düz çubuk şeklinde, 0,4-1,0 x 1,2-3,0 µm arasında değişen büyüklükte, aerobik, katalaz pozitif, nitratları indirgemeyen, gram negatif bir bakteridir (Agrios, 2005). Hücreler bir polar flagellum ile hareketlidir ve hücrelerinin dışı bir ekstrapolisakkarit olan ksantan ile çevrilidir (Swings and Civerolo, 1993). Gelişmeleri için minimum sıcaklık 5°C-9°C ve maksimum sıcaklık 30°C-39°C arasındadır (Saettler, 1991). Bakteri glikoz, arabinoz, mannoz, trehaloz ve selabioz gibi karbonhidratlar içeren ortamlarda zayıf asit üretmektedir. Bazı Xpp strainleri kültür ortamında suda çözünmeyen fakat yayılabilen pigmentler sentezlemektedir. Bromlu arypolyene esterler (Xanthomonadin) olarak belirlenen bu pigmentler petrol eteri, metanol ve benzende çözünmekte, 420, 441 ve 468 nm dalga boyunda maksimum absorpsiyon göstermektedir (Hall, 1994).

Patojenin konukçularını *Phaesolus vulgaris* L.'in yanı sıra *P. acutifolius* Jacq, *Glycine max* L., *Dolichos lablab* L., *Lupinus polyphallus* Lindl., *Stizolobium deeringianum* Bort, *Vigna angularis* (Willd) Ohwi, *Vigna aconitifolia* (Jacq.) Marechal., *Vigna mungo* (L) Hepper, *Vigna radiata* (L.) R. Wilcz, *Vigna unguiculata*'yi (L)' Wilcz, *Euphorbia heterophylla* (L.), *Acanthospermum hispidum* (D.C.), *Portulaca oleracea* (L.), *Chenopodium album* (L.), *Solanum nigrum* (L.), *Echinochloa crusgalli* (L.), *Zea mays* L., *Beta vulgaris* (L.) ve *Amaranthus retroflexus* (L.) oluşturmaktadır (Saettler, 1989; Angeles-Ramos *et al.*, 1991; Karavina *et al.*, 2011).

Hastalık etmeninin enfekteli fasulye tohumu üzerinde veya içinde hayatta kalması, bakterinin canlılığını sürdürmesinde en etkili yollardan birisidir (Darrasse *et al.*, 2007). Tohum, birincil inokulumun ana kaynağıdır ve patojen tohumda 3-15 yıl canlılığını sürdürmektedir. Uluslararası tohum ticareti sırasında bakteriler ülkeye ve dünyaya bu yolla yayılmaktadır (Tar'An *et al.*, 2001; Gillard *et al.*, 2009). Hatta patojen

tohumda simptomsuz bulunabilmekte ve bu durum tohum sertifikasyon programları için ciddi sonuçlar doğurmaktadır (He, 2010). Patojen ile düşük seviyelerde tohum enfeksiyonu, ağır tarla enfeksiyonlarını başlatmakta ve uygun çevre koşulları altında ciddi mahsul kayıpları oluşturmaktadır (Weller and Saettler, 1980; Schaad, 1988). 10.000 fasulye tohumu arasında patojenle enfekte olmuş en az beş tohum, hastalığın salgın duruma gelmesine neden olmaktadır (Leben, 1981). Patojenin bitki artıklarında hayatta kaldığı konusunda fikir birliği olmasına rağmen, hayatta kalma süreleri büyük ölçüde değişmektedir. Gilbertson *et al.* (1988), etmenin laboratuvar koşullarında kuru yapraklarda en az altı yıl, Opio *et al.* (1994) ise 18 aydan fazla hayatta kaldığını bildirmektedir. Karavina *et al.* (2008), 12 ay boyunca serada tutulan fasulye artıklarından patojenin izole edildiğini belirtmektedir. Santana *et al.* (1991), patojenin hayatta kalmasının, toprak yüzeyinin 20 cm altında değil, üstünde bulunan bitki artıklarında meydana geldiğini ifade etmektedir. Torres *et al.* (2009) toprağa gömülü materyallerde, yağışlı mevsimlerde patojenin 30-45 gün, kurak dönemlerde ise 90-120 gün hayatta kaldığını, nemli peryotlarda, toprak yüzeyinde 45-75 gün, kurak dönemlerde ise 180 güne kadar canlılığını sürdürdüğünü belirtmektedir. Bu tür farklılıkların nedeni, bitki artıklarının ayrışma süresini etkileyen toprak mikrobiyolojik varyasyonu, bakteri hücrelerinin metabolik durumu ve toprak mikroflora ve mikrofauna popülasyon dinamiklerini etkileyen çevresel değişkenler (sıcaklık ve nem)'dir (Leben, 1981; Graham *et al.*, 1989). Yüksek nem koşulları altında gömülü materyal hızlı bir şekilde bozunmaya uğrayarak bakteri popülasyonunun yok olmasına neden olmaktadır. Öte yandan, havanın ağırlıklı olarak kuru olduğu (düşük yağışlı) dönemde, bitki artıklarının ayrışması daha yavaş olmakta ve bu durum patojenin daha uzun süre hayatta kalmasını sağlamaktadır (Chavez and Granada, 1988). Yaprak patojenlerinin toprakta hayatta kalmaya iyi adapte olmadıkları, patojenin toprakta 120 günden fazla canlı kalmadığı belirtilmektedir (Hirano and Upper, 1983; Gilbertson *et al.*, 1990). Ayrıca yabancı otlar ve diğer konukçu bitkiler üzerinde de bakterinin hayatta kaldığı ve bazı yabancı ot türlerinin patojeni 6 aya kadar barındırdığı bildirilmektedir (Fininsa and Tefera, 2001). *Xanthomonas* strainlerinin genellikle güneş ışığına ve kuraklığa karşı toleranssız oldukları, ancak sahip oldukları ekstrapolisakkaritlerin hidrofilik bir bariyer olarak görev yaptığı ve bakterilerin hayatta kalmalarını sağladıkları ifade edilmektedir (Stall *et al.*, 1993; Fourie, 2002; Buruchara *et al.*, 2010).

Hastalık etmeni hem epifitik hem de endofitik olarak hayatta kalabilmektedir (Weller and Saettler, 1980). Organik maddeler, alet ve ekipmanlar üzerinde varlığını sürdürerek ve penetrasyon olmadan konukçu doku üzerinde simptomsuz gelişerek epifitik popülasyonu, doku penetrasyonu ile maksimum gelişme göstererek patojenik popülasyonu oluşturmaktadır (Stall *et al.*, 1993). Epifitik popülasyonların hastalık gelişimindeki ana fonksiyonu, endofitik popülasyonlar için inokulum kaynağı oluşturmak ve diğer konukçu ve konukçu olmayan bitki parçalarının yüzeylerine yayılmaktır (Wilson *et al.*, 1999; Andrews and Harris, 2000). Sulama türünün Xpp ve Xcf'in epifitik popülasyonları üzerinde önemli bir etkisi olduğu tespit edilmiştir (Akhavan *et al.*, 2009). Yağmurlama sulama sisteminin bitki yapraklarından besin salımını desteklemeye yardımcı olarak epifitik bakteri topluluğu için besin kaynaklarının mevcudiyetini arttırdığı, epifitik popülasyonların büyümesini sağladığı, endofitik patojen popülasyonu oluşturmalarını teşvik ettiği, fasulye yaprağı yüzeyinde ince bir su tabakası oluşturarak bakteri hücrelerinin yaprak açıklıklarından girişini kolaylaştırdığı, aynı zamanda hastalıklı bitkilerden sağlıklı bitkilere patojenin yayılmasında kritik bir rol oynadığı belirlenmiştir (Beattie and Lindow, 1995; Carvalho *et al.*, 2011).

Yağmur, yağmurlama sulama, insanlar, hayvanlar, kontamine olmuş alet ve ekipmanlar, beyazsinekler, *Melanoplus* spp. ve galeri sinekleri gibi böcekler hastalıklı bitkilerden sağlıklı bitkilere patojenin yayılmasını sağlamaktadır. Xpp strainlerinin, *Chalcodermus ruficornis* ve *Diaprepes abbreviata*'nın sindirim kanalından geçtikten sonra patojenitelerini koruduğu ve hastalık yapma özelliklerini devam ettirdiği belirtilmektedir. Isırıcı çiğneyici ağız yapısına sahip böceklerin, sokucu emici ağız yapısına sahip böceklerden daha etkili bir şekilde patojeni yaydıkları bildirilmektedir (Gilbertson and Maxwell, 1992; Harveson, 2009; Buruchara *et al.*, 2010; Carvalho *et al.*, 2011).

Patojen hücreleri fasulye bitkilerine yapraklardaki ve diğer bitki organlarındaki stoma, hidatot gibi doğal açıklıklardan ve çeşitli şekillerde oluşmuş yaralardan girmektedir (Rudolph, 1993). Adi bakteriyel yanıklığı (ABY) esas olarak bir yaprak hastalığı olarak kabul edilse de, belirtiler gövde, bakla ve tohumda da görülmektedir (Harveson, 2009). Yapraklarda belirtiler başlangıçta küçük, suyla ıslanmış noktalar



olarak meydana gelmekte, daha sonra bu lekeler genişlemekte ve nekrotik bir görünüm almakta, etrafı genellikle sarı klorotik bir hale ile çevrilmektedir (Francisco *et al.*, 2013). Oluşan lezyonlar ilerleyen dönemde büyümekte ve daha sonra birleşerek bitkilerin yanmış gibi görünmesine neden olmaktadır. Ölü yapraklar bitkiye bağlı kalmakta, ciddi enfeksiyonlarda dökülmektedir (Buruchara *et al.*, 2010). Baklalar üzerinde lekeler, genellikle dairesel, hafif çökük ve kahverengimsi kırmızıdır ve kapsülün gelişme dönemine bağlı olarak lezyonların şekli ve boyutu değişmektedir (Melis, 1987). Beyaz veya açık renkli tohumlardaki simptomlar tohum kabuğu boyunca dağılmış veya hilus alanıyla sınırlı tereyağ sarısı ve kahverengi lekeler olarak belirgindir (Agrios, 2005; Buruchara *et al.*, 2010). İletim sistemi yoluyla enfekte olan baklalarda, merkezi sarı veya krem olan suyla ıslak görünümlü lezyonlar bulunmakta ve zamanla bu lezyonlar çökük ve koyu kırmızımsı-kahverengi lekeler haline gelmektedir (Bultreys and Gheysen, 2020). Kapsül ve tohum gelişimi sırasında enfeksiyon meydana gelirse, enfekteli tohum büzüşmekte veya çürümektedir (Schwartz *et al.*, 2005). Bakteri içeren tohumlar ekildiğinde, çimlenmemekte veya kotiledon, gövde ve ilk gerçek yapraklar üzerinde yanık lezyonları olan fideler üretmektedir (Saettler, 1991). Tohumdaki belirtiler, beyaz veya açık renkli tohumlarda belirgin olarak ortaya çıkmakta, ancak orta ila koyu renkli tohumlarda belirtinin görülmesi zor olmaktadır. Ciddi şekilde enfekte olmuş tohumdan gelişen fidelerde patojen bitkinin büyüme noktalarına zarar verebilmekte, bunun sonucunda fideler bodur kalmakta veya ölmektedir (Schwartz *et al.*, 2005). Nemli havalarda, bakla ve yapraklar üzerindeki lezyonlar daha sonra bir kabuk oluşturmak üzere kuruyan sarımsı bakteriyel sızıntı ile kaplanmaktadır. Stomadan çıkan bu bakteri hücreleri sekonder yayılma için inokulum kaynağı oluşturmaktadır (Dillard and Legard, 1991).

ABY'nın dünya çapında en önemli fasulye hastalıklarından biri olmaya devam etmesinin nedenlerinden birisi bakterinin tohumla taşınan doğası nedeniyle kontrol altına alınmasının çok zor olmasıdır. Bu yönüyle hastalık kontrolünde temiz tohum kullanımı çok önemlidir (Gillard *et al.*, 2009; Osdaghi *et al.*, 2011). Enfekteli bitki artıkları birincil inokulum kaynağı olduğundan yakılarak veya sürülerek uzaklaştırılmalı (Torres *et al.*, 2009), yabancı otların eradikasyonuna önem verilmelidir (Aseniiio *et al.*, 2006). Ayrıca patojen kontamine alet ve ekipmanlarda ve depodaki tohum kaplarında yaşamını sürdürebildiğinden bu malzemelerin dezenfeksiyonuna özen gösterilmelidir.

ABY salgınları, ürün rotasyonu ile azaltılmaktadır. Buna karşılık, soğan epifitik kolonizasyon yoluyla simptomsuz bir inokulum kaynağı sağladığından, fasulye-soğan ekiminden mümkün olduğunca kaçınılmalıdır (Gent *et al.*, 2005). Ayrıca yağmurlama sulama sistemi kullanımının diğer sulama sistemlerine göre bakteri yayılımını kolaylaştırdığı da unutulmamalıdır (Akhavan *et al.*, 2013). Öte yandan, patojen istilasını azaltmak için başka bir kültürel uygulama da karışık ekimdir. Fasulye monokültür yerine mısır veya sorgum ile birlikte yetiştirildiğinde mısır, patojenin fasulye bitkileri arasındaki hareketine fiziksel bir engel sağlayarak hastalık şiddetini düşürmekte, hastalığın ilerleme hızını azaltmaktadır (Fininsa, 2001; Lemessa, 2004). Hastalığın kontrol stratejileri arasında genetik dayanıklılık konusu araştırılmaktadır. Ancak etmenin patojenite ve virülens açısından yüksek değişkenlik göstermesi dayanıklı çeşitlerin elde edilmesini güçleştirmektedir. Bu nedenle dayanıklı ve geniş spektrumlu çeşit geliştirmede konukçu türlerdeki dayanıklılık kaynaklarının ve patojen popülasyonlarının genetik çeşitliliğinin bilinmesi gereklidir (Paiva *et al.*, 2018). Yaprak gübresi uygulamalarının hastalık kontrolünde başarılı olduğu, manganez uygulamasının sera koşullarında fasulye bitkilerinde hastalık şiddetini %49'a kadar azalttığı belirtilmektedir (Viecelli and Moerschbacher, 2013). Enfeksiyon oluşmadan önce ABY'ni kontrol etmek için çeşitli kimyasallar tohum muamelesi ve yaprak koruyucu olarak uygulanmaktadır. Bununla birlikte hastalığa karşı etkili kimyasalların bulunmaması ve yüksek maliyeti nedeniyle ekonomik değildir. Ayrıca tarım arazilerine ve ekosistemlere ciddi zararlar vermesi (Corrêa *et al.*, 2017), dayanıklı mikroorganizmaların gelişimi ve toksik kalıntı birikimi sonucunda insan ve çevre sağlığında ortaya çıkan problemler nedeniyle kimyasal kullanımının giderek daha fazla kısıtlandığı göz ardı edilmemelidir (Zavaleta, 2000; Rahman *et al.*, 2008). Bu nedenle kimyasallar hastalık kontrolüne yönelik entegre yaklaşımın bir bileşeni olarak, tohum ve ticari üretim gibi özel koşullar altında akılcıca ve bilinçle kullanılabilen bir seçenek olarak uygulanmalıdır (Gilbertson and Maxwell, 1992; Buruchara *et al.*, 2010). ABY'nin mücadelesinde yer alan bu prosedürler, antagonistik mikroorganizmaların kullanımına dayalı bir biyolojik kontrol yoluyla tamamlanabilir. Biyolojik kontrol, antibiyosis, parazitizm, rekabet ve dayanıklılık uyarımı gibi farklı mekanizmaları içermekte, bitki gelişmesini teşvik eden bakteriler (BGTB) bu amaçla kullanılmaktadır (Haas and Defago, 2005; Borriss 2011; Jamalizadeh *et al.*, 2011). Bu bakteriler

metabolitler (antimikrobiyal maddeler, biyosüpfaktanlar, litik enzimler, siderofor) üreterek patojen gelişimini sınırlamaktadır (Schippers *et al.*, 1991; Dwivedi ve Johri 2003; Haas and Keel 2003; Ran *et al.*, 2005). Ayrıca bitkilerin kök ve yeşil aksam gelişimini artırmaları ile karakterize edilmekte olan bu bakteriler (Essalmani and Lahlou, 2003); nitrojen fiksasyonu (Sessitsch *et al.*, 2002), hormonların (Perrine *et al.*, 2004), enzimlerin üretimi (Mayak *et al.*, 2004), potasyum ve fosfatların çözündürülmesi (Rodríguez and Fraga, 1999) ile bitki gelişiminin teşvik edilmesinde etkili olmaktadır. Dayanıklılığı teşvik eden biyokontrol strainleri bitkilerde fizyolojik değişikliklere neden olmakta, uyarılmış dayanıklılığın belirteçleri olarak kabul edilen PR-proteinlerinin (kitinaz,  $\beta$ -1,3-glukanaz), peroksidaz ve fenolik bileşiklerin seviyesini arttırmaktadır (Heitz *et al.*, 1994; Silva *et al.*, 2009; Sallam, 2011). Bakteriyel biyokontrol ajanları, özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* türleri, çeşitli hastalıkların etkin kontrolünden sorumlu antibiyotik üretimindeki etkinlikleri ve çeşitlilikleri ile bilinmektedir (Khabbaz *et al.*, 2015). Bu iki cins aynı zamanda sistemik dayanıklılığı uyaran türleri de barındırmakta (Akram *et al.*, 2015; Planchamp *et al.*, 2015), geniş bir bitki yelpazesini çeşitli biyolojik saldırılardan korumakta, bitki büyümesini artırmakta ve birçok hastalığın şiddetini etkili bir şekilde azaltmaktadır (Beneduzi *et al.*, 2012). Biyolojik kontrol programı, antagonistik mikroorganizmaların, laboratuvar koşullarında, sera ve tarlada fitopatojen-konukçu-çevre etkileşimine bağlı olarak biyoanaliz yoluyla seçilmesine dayanmaktadır (Mariano, 1993). Elde edilen bakteriyel biyokontrol ajanları tohumlara kaplanmakta (Corrêa *et al.*, 2014; Figueredo *et al.*, 2014; Planchamp *et al.*, 2015), bitki toprağına verilmekte ve yapraklara sprey şeklinde pratik olarak uygulanmaktadır (Zanatta *et al.*, 2007). Yapılan çalışmalarda, *Xanthomonas* spp.'nin neden olduğu bakteriyel hastalıkların bakteriyel biyokontrol ajanları ile kontrol edilebildiğı, bitki gelişim parametrelerinin olumlu yönde etkilendiğı bildirilmektedir (da Silva *et al.*, 2008; Sallam 2011; Naue *et al.*, 2014; de Almeida *et al.*, 2015; Singh and Siddiqui, 2015; Giorgio *et al.*, 2016).

Toprak kalitesinin ve bitki sağlığının korunduğı, gıda güvenliğinin önemsendiğı bir üretim için kimyasal kullanımının azaltılması, toprak sağlığının iyileştirilmesi ve bitki gelişimi için faydalı bakterilerin belirlenerek kullanılması büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle sunulan araştırmada adi bakteriyel yanıklığı hastalığının

antagonist bakteri strainleri ile biyolojik kontrol olanaklarının araştırılması hedeflenmektedir. Bu hedef doğrultusunda;

- Yağ asit metil ester analizi ile aday antagonist bakteri strainlerinin izolasyonu ve tanısı,
- Elde edilen strainlerin nitrojeni fikse etme, potasyum, fosfat ve kalsiyum çözme yeteneklerinin belirlenmesi,
- Aday antagonist bakteri strainlerinin Xpp ve Xcf'ın gelişimini in vitro ortamda engelleme veya sınırlandırma potansiyellerinin tespiti,
- In vitro test sonucunda başarılı bulunan bakteri strainlerinin saksı ortamında, bitki yapraklarına uygulanmasının adi bakteriyel yanıklığı hastalığının gelişimine etkisinin değerlendirilmesi,
- Biyokontrol özelliği olan bakteri strainlerinin DNA barkodlama ile moleküler tanısının yapılması amaçlanmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Fasulyede ABY hastalığının bakteriyel biyokontrol elemanları ile mücadelesine yönelik çalışmalardan bazıları aşağıda sunulmuştur.

Arsenijevic *et al.*, (1998) tarafından yapılan çalışmada saprofit özellikteki bakteri strainlerinin [*Pseudomonas* spp. *Bacillus* sp. ve *Erwinia herbicola* (*Pantoea agglomerans*)] fasulye patojenlerine [*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (*P. savastanoi* pv. *phaseolicola*) ve *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (*X. axonopodis* pv. *phaseoli*)] karşı biyolojik kontrol aktivitesi *in vitro* ortamda test edilmiştir. Denemede *Phaseolus vulgaris* pv. *palanacka rana* fasulye çeşiti kullanılmıştır. Test edilen saprofit bakteri strainlerinin, fasulye patojenlerine karşı farklı antagonistik etkiler gösterdiği bulunmuştur. Antagonizmin yoğunluğunun saprofit/patojen kombinasyonuna bağlı olarak çok kuvvetliden zayıfa kadar değişkenlik gösterdiği görülmüştür.

Zanatta *et al.*, (2007) tarafından yapılan çalışmada fasulyede *Rhizobium* ile uyumlu bakteri strainlerinin seçilmesi ve bu strainlerin Xpp'nin kontrolündeki rolü araştırılmıştır. Araştırmacılar tarafından *Rhizobium leguminosarum* pv. *phaseoli* (SEMIA 4077 ve SEMIA 4080) ile uyumunu değerlendirmek için farklı habitatlardan 760 bakteri straini seçilmiştir. Bunlardan 596 strain, her iki rhizobia'ya karşı etkisiz bulunmuştur. Bu strainlerin her birinin süspansiyonuna daldırılan fasulye tohumları 10°C'de 5 saat çalkalanmış ve sterilize edilmemiş toprağa ekilerek serada gelişmeye bırakılmıştır. Bitkiler 4 yapraklı döneme geldiğinde Xpp inokule edilmiştir. Hastalık belirtileri açısından kotiledon yaprakları değerlendirildiğinde DFs093'ün %100, DFs041 ve DFs1297 strainlerinin %90, DFs490, DFs769, DFs831, DFs842 ve DFs843 strainlerinin %80 oranında hastalığı kontrol ettiği görülmüştür. Birincil yapraklar incelendiğinde ise izole edilen DFs482 strainin %100, DFs080, DFs348, DFs513, DFs622, DFs769, DFs842 ve DFs912 strainlerinin ise %80 oranında hastalık gelişimini engellediği tespit edilmiştir.

Mokrani *et al.*, (2019) tarafından *Pseudomonas* cinsine ait toprak bakterilerinin fonksiyonel çeşitliliğinin belirlendiği çalışmada bakteri strainlerinin ABY hastalığına karşı biyolojik kontrol potansiyelleri araştırılmıştır. İzole edilen bakteri strainleri fizyolojik, biyokimyasal özellikler ve BOX-PCR'a göre tanımlanmıştır. Ayrıca sekonder metabolitlerin kalitatif ve kantitatif analizi yapılmıştır. 50 toprak bakterisinden %72'si

floresan, %28'i non-floresan *Pseudomonas* olarak belirlenmiştir. Strainlerden %66'sının fosfatı çözdüğü, %24'ün HCN, %21'in IAA ve tamamının siderefor ürettiği tespit edilmiştir. *In vitro* koşullarda bakteri strainlerden *P. grimontii* P.25 ve *P. cepatia* P7'nin sırasıyla 26,77 mm ve 24 mm inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, aynı strainlerin hastalık şiddetini düşürdüğü gözlenmiştir. İki strainin birlikte kullanılmasının ise hastalık yoğunluğunun azaltılmasında daha az etkili olduğu bulunmuştur. Elde edilen bulgular sonucunda seçilen strainlerin kimyasallara alternatif olarak Xcf'nin biyolojik kontrolünde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Sallam (2011) tarafından yapılan çalışmada Xpp 'nin neden olduğu ABY hastalığına karşı *Rahnella aquatilis*'in etkisi test edilmiştir. Xpp strainleri, Assiut'da yetiştirilen hastalıklı fasulye bitkilerinin yapraklarından izole edilmiştir. Kurulan patojenite testi sonucunda elde edilen strainlerin hastalık yapma özelliklerinde farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Strainlerden üç tanesinin fasulyede hastalık belirtileri oluşturduğu ve aralarında Xpp1 strainin en virulent olduğu tespit edilmiştir. *In vitro* ortamda *R. aquatilis*'in patojene karşı engelleyici etki gösterdiği saptanmıştır. Sera ve tarla koşullarında patojen inokulasyonundan 2 gün önce 'Giza 6' fasulye çeşidine bakteri uygulanmış ve bakterinin hastalığı önemli derecede engellendiği belirlenmiştir. Hastalığın yüksek oranda engellenmesi, bakteri çoğalmasının azalmasıyla ilişkilendirilmiştir. *R. aquatilis* uygulanan bitkilerde kontrol grubuna göre daha yüksek fenolik bileşik içeriği ve peroksidaz (PO) enzim aktivitesi saptanmıştır. Sonuç olarak patojene karşı *R. aquatilis* uygulamasının etkili olduğu ve ABY hastalığının kontrolünde uygulanabileceği belirtilmiştir.

Giorgio *et al.*, (2016) tarafından yapılan çalışmada fasulye rizosferinden izole edilen bakterilerin ABY hastalığını kontrol etme potansiyelleri araştırılmıştır. Elde edilen 162 rizobakteriden 60 tanesinin *in vitro* ortamda Xpp ve Xcf'nin virulent strainlerinin gelişmesini engellediği tespit edilmiştir. Serada yapılan patojenite testi sonucunda tohumla uygulanan 6 bakteri strainin hastalık belirtilerini azalttığı görülmüştür. Altı rizobakterinin; litik enzimler, hidrojen siyanür, amonyak, sideroforlar, indol üretimi, inorganik fosfat çözünürlüğü test edilmiş ve tuzluluk, pH ve sıcaklık

derecelerinin değişimi açısından çevresel adaptasyon özellikleri belirlenerek karakterize edilmiştir.

Correa *et al.*, (2017) tarafından yapılan çalışmada *Bacillus* (DFs093, DFs348 ve DFs769), *Pseudomonas* (DFs513, DFs831 ve DFs842), *Rhodococcus* (DFs843 ve DFs912) C01 (DFs093+DFs769+DFs831), C02 (DFs093+DFs769+DFs842) ve C03 (DFs093+DFs769+DFs348) kombinasyonları tohumu uygulanmış ve Xpp'nin kontrolüne etkisi incelenmiştir. Bu amaçla Brezilya' ya ait 16 Xpp straini bitkinin kotiledon yapraklarına inokule edilmiş ve 10 gün boyunca simptom gelişimi takip edilmiştir. Genel olarak, biyokontrol strainlerinin çoğunun, farklı Xpp strainlerinin neden olduğu hastalığı bir dereceye kadar azalttığı tespit edilmiştir. C01 ve DFs831 straini uygulaması sonucunda, en yüksek ortalama hastalık kontrolü elde edilmiştir. Bu strainlere ait kombinasyonların kullanılmasının, aynı patojenin birkaç straininin biyokontrol etkisini artırdığı saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler, Xpp strainlerinin orjin bölgesi ile biyokontrol strainin hastalığı kontrol etme etkinliği arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Drikvand *et al.*, (2017) tarafından yapılan çalışmada ABY hastalığının kontrolünde biyokontrol ajanlarının etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar NA ortamında biyokontrol ajanlarının Xpp' nin gelişimini engellediğini göstermiştir. *P. fluorescens* ve *B. subtilis*'in sırasıyla 32,75 ve 20,75 mm inhibisyon çapı oluşturduğu belirtilmiştir. *In vitro* ortamda, *P. fluorescens* ve *B. subtilis*' in Xpp' nin gelişimini %20 ve %30 oranında azalttığı tespit edilmiştir. Çalışmada iki biyokontrol ajanının kombinasyon (*P. fluorescens* + *B. subtilis*) şeklinde uygulanmasının kontrole kıyasla fasulyede ABY simptomlarını %51 oranında azalttığı saptanmıştır. *P. fluorescens* ve *B. subtilis*' in tekli uygulamalarının ise simptomları sırasıyla %21,74 ve %15,22 oranında azalttığı bulunmuştur.

Sangiogo *et al.* (2018) tarafından yapılan çalışmada, bakteriyel biyokontrol ajanlarının yaprağa sprey şeklinde uygulanmasının fasulyede ABY hastalığının kontrolü ve sistemik dayanıklılığın uyarılması üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Uygulamaların hastalık kontrolüne etkisi, fasulye yapraklarına patojen inokulasyonundan 48 ve 24 saat önce ve sonra biyokontrol ajanlarının sprey şeklinde uygulanması ile test edilmiştir. Çalışma DFs93, *Bacillus cereus*; DFs513, *Pseudomonas*

*veronii*; DFs769, *B. cereus*; C01 kombinasyonu, DFs93 + DFs769 + DFs831 (*P. fluorescens*); C03 kombinasyonu, DFs348 (*Bacillus* sp.) + DFs769 + DFs831, ve su (kontrol) uygulamalarından oluşmuştur. Sistemik etkiler, DFs513, DFs769, C03 ve suyun püskürtme şeklinden uygulanmasından 72 ve 48 saat sonra analiz edilmiştir. DFs348, DFs513, DFs769 ve DFs831 tarafından uyarılan fasulye üretimi de değerlendirilmiştir. DFs513, DFs769 ve C03 uygulamalarının hastalık insidansını önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. DFs769 ve DFs831 strainlerinin fitoaleksinin birikimini teşvik ettiği tespit edilmiştir. Bu nedenle, DFs513, DFs769 ve C03 strainlerinin fasulye yapraklarına önleyici olarak uygulanmasının, bitkide sistemik dayanıklılığı uyarmasının yanı sıra ABY hastalığının biyolojik kontrolü için potansiyel taşıdığı sonucuna varılmıştır.

Aguilar Ramirez *et al.* (2019) tarafından yapılan araştırmada *Rhizobium phaseoli* ile inokulasyonunun fasulye bitkilerinde ABY hastalığının meydana gelmesine ve hastalık şiddetine etkisi test edilmiştir. Bu amaçla fasulye bitkilerinin kök nodüllerinden *Rhizobium* (FM-1, N-2, PS-3, M-4, BJ-5) ve nekrotik yaprak lekelerinden *Xanthomonas* (Xant 1) strainleri izole edilmiştir. Strainlerin hücresel, kolonial, biyokimyasal ve morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Sera ve tarla denemelerinde tohumlar,  $10^6$  cfu/ml konsantrasyonunda hazırlanan *R. phaseoli* süspansiyonu ile inokule edilmiş ve ekimden 10 gün sonra ikinci bir *R. phaseoli* uygulaması yapılmıştır. Daha sonra, fasulyenin çıkışından 15 gün sonra Xpp bitkiye bulaştırılmıştır. 30 gün sonra, kökte nodül bulunan bitkilerde hastalık şiddetinin kontrole (%46) göre daha düşük (%14,5) olduğu gözlenmiştir. *R. phaseoli* uygulanan bitkilerde gövde çapı, kuru ağırlık, yaprak sayısı ve kök uzunluğunun arttığı bulunmuştur. Tarla denemesinde BJ-5 straini ile yapılan inokulasyon sonrasında kontrole (%55,8) kıyasla daha düşük hastalık şiddeti (%25,6) tespit edilmiştir. Bitki büyümesini destekleyen, azot fikseden, indol asetik asit üreten *R. phaseoli* 'nin bitkide hastalıklara karşı toleransı artırdığı belirlenmiştir. Bitkinin daha iyi ve sağlıklı gelişmesi için fasulyelerin *R. phaseoli* ile inokulasyonunun önemli olduğu vurgulanmıştır.

Belete *et al.*, (2021) tarafından yapılan çalışmada *in vitro* ve *in vivo* koşullarda *B. subtilis* QST 713, bakır hidroksit ve bu uygulamaların karışımının ABY hastalığına karşı etkisi test edilmiştir. Bakteri, kimyasal, bakteri + kimyasal haftada 3 kez bitkilerin



yapralarına sprey şeklinde uygulanmıştır ve test 2 kez tekrar edilmiştir. Kontrolle kıyaslandığında uygulamaların hepsinin önemli bir oranda kontrol sağladığı belirlenmiştir. En düşük hastalık insidansı %35,07, hastalık şiddeti ise % 37-50 olarak bulunmuştur. Karışım şeklinde yapılan uygulama ve *B. subtilis* QST 713'ün sırasıyla enfeksiyon oranını %40,36-51,21, hastalık insidansını %52,25-53 oranında azalttığı tespit edilmiştir. En düşük bakteri popülasyonu da paralel olarak aynı uygulamalarda [mix;(1.38x10<sup>5</sup> cfu/ml), *B. subtilis* QST 713 (2.84x10<sup>5</sup> cfu/ml)] belirlenmiştir. Strainlerin karışım şeklindeki uygulanmasının fasulyenin yaprak yüzeyindeki bakteri popülasyonunu kontrole göre önemli oranda (%90,72) düşürdüğü tespit edilmiştir.

Belete *et al.*, (2021) tarafından yapılan sera denemesinde *B. subtilis* QST 713'ün duyarlı bir fasulye çeşidinde yapraklara spreyinin ABY hastalığını kontrol etme etkinliği test edilmiştir. Xpp'nin 10<sup>8</sup> cfu/ml konsantrasyonu, 21 günlük bitkilere inokule edilmiştir. Hastalık kontrolü için yapılan uygulamalar (QST 713 ve QST 713 + bakır hidroksit) patojen inokulasyonundan 3 gün önce ve patojen inokulasyonundan sonra 7 günde bir olmak üzere iki kez yapılmıştır. Kontrole göre hastalık şiddeti, enfeksiyon oranı ve hastalık insidansının önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Kontrolle kıyaslandığında en düşük hastalık şiddeti ve insidansı, QST713 ile bakır hidroksitin karışım şeklinde uygulanmasından elde edilmiştir. Karışım ve QST 713 ile uygulama yapılan bitkilerde sırasıyla %51,21 ve %40,36 enfeksiyon oranı, %53 ve %52,25 hastalık insidansı tespit edilmiştir. Ek olarak, yaprak taze ağırlığının gramı başına en düşük bakteri popülasyonu, karışım uygulaması ve ardından QST 713 ile muamele edilmiş bitkilerde kaydedilmiştir. Sonuçlar, biyokontrol ajanları ile entegre yönetimin, sürdürülebilir ve organik tarımda ABY hastalığının etkin kontrolü için iyi bir strateji olduğunu göstermiştir.

Çelik (2021) tarafından yapılan çalışmada; silisyum dioksit (SiO<sub>2</sub>) ve bazı endofit bakterilerin tekli ve ikili inokulasyonlarının fasulyede Xpp' nin neden olduğu ABY hastalığına ve bitki gelişimine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca SiO<sub>2</sub>'in farklı uygulama şekli ve dozlarının hastalık şiddeti ve bitki gelişimine olan etkilerine göre en uygun olanları belirlenmiştir. Torf ve perlit (1/1) karışımından oluşan yetiştirme ortamında iklim odası koşullarındaki (14 saat aydınlık, 25±2 °C) bitkilerin yapraklarına patojen sprey edilerek, endofitik bakteriler ise kök boğazından içirme yöntemiyle

uygulanmıştır. Yapılan ön *in vivo* çalışmalar ile hastalık kontrolü ve bitki gelişim parametrelerine göre en başarılı endofitik bakteriler seçilmiştir. İçirme yöntemi ile uygulanan 30 mM SiO<sub>2</sub>'in %41 düzeyinde hastalığı kontrol ettiği belirlenmiştir. En başarılı endofitik bakteri straini *Pseudomonas caspiana* V30G2'nin hastalık gelişimini tek olarak %41 düzeyinde baskılayabildiği gözlenmiştir. SiO<sub>2</sub> ve *P. caspiana* V30G2 straininin birlikte kullanımının hastalık gelişimini %52 oranında baskıladığı ve bitki gelişimine pozitif etkileri olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca klorofil içeriğini önemli düzeyde arttırarak, bitki biyomasına pozitif katkıda bulunduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak uygun kombinasyonlar ile endofitik bakteri ve SiO<sub>2</sub>'un birlikte kullanımının hastalık kontrolüne ve bitki gelişimine olumlu etki edeceği ve bu yolla biyolojik kontrolün etkinliğinin arttırılarak pestisit ve sentetik gübre girdisinin azaltılabileceği düşünülmüştür.

### 3. MATERİYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Çalışmada kullanılan patojen bakteri strainleri

Çalışmada Dr. Öğr. Üyesi Mesude Figen YEŞİLDAĞ'ın Doktora tezinden [Erzurum ve Erzincan İllerinde Fasulye Bitkisinde (*Phaseolus vulgaris* L.) Görülen Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tanımlanması ve *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* ve *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*'a Karşı Çeşitli Fasulye Genotip/Varyetelerinin Duyarlılıklarının Belirlenmesi] elde edilen Xpp (MFD 270 ve MFD 442) ve Xcf strainleri (MFD 265 ve MFD 266) patojen bakteriler olarak kullanılmıştır.

##### 3.1.2. Çalışmada kullanılan aday antagonist bakteri strainleri

Araştırmada Iğdır'da fasulye yetiştirilen alanlardan alınan sağlıklı bitkilerin yaprak, kök ve toprak kısmından izole edilen bakteri strainleri aday antagonist bakteriler olarak kullanılmıştır. Ayrıca çeşitli çalışmalardan elde edilen ve Iğdır Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji Laboratuvarı bakteri kültür koleksiyonunda yer alan 15 bakteri straini de aday antagonist bakteriler olarak patojene karşı test edilmiştir. Daha önceki çalışmalardan seçilen strainlere ait bazı test sonuçları Çizelge 3.1' de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Kültür koleksiyonundan seçilen aday antagonist bakteri strainlerinin test sonuçları

| SN     | Yame Analizi Tanı Sonucu  | N              | P              | K              | Ca | HR |
|--------|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----|----|
| IT 159 | <i>Bacillus subtilis</i>  | +              | +              | -              | -  | -  |
| IT 162 | <i>Bacillus subtilis</i>  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -              | -  | -  |
| ÖBF 20 | <i>Bacillus subtilis</i>  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  | -  |
| ÖBF 21 | <i>Bacillus mycoides</i>  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -              | -  | -  |
| ÖBF 71 | <i>Bacillus mycoides</i>  | +              | K <sup>+</sup> | -              | -  | -  |
| ÖBF 76 | <i>Pseudomonas putida</i> | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -              | -  | -  |
| ÖBF 77 | <i>Pseudomonas putida</i> | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -              | -  | -  |

**Çizelge 3.1. (Devamı)**

| SN       | Yame Analizi Tanı Sonucu         | N              | P              | K | Ca | HR |
|----------|----------------------------------|----------------|----------------|---|----|----|
| ÖBF 78   | <i>Pseudomonas putida</i>        | K <sup>+</sup> | Z <sup>+</sup> | - | -  | -  |
| ÖSLP 3\7 | <i>Bacillus alcalophilus</i>     | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | - | -  | -  |
| ZA 46    | <i>Bacillus thuringiensis</i>    | +              | +              | - | -  | -  |
| ZA 79    | <i>Pseudomonas flourescens</i>   | +              | K <sup>+</sup> | - | -  | -  |
| ZA 91    | <i>Lysinibacillus sphaericus</i> | Z <sup>+</sup> | Z <sup>+</sup> | - | -  | -  |
| ZA 114   | <i>Bacillus subtilis</i>         | +              | Z <sup>+</sup> | - | -  | -  |
| ZA 129   | <i>Bacillus megaterium</i>       | -              | Z <sup>+</sup> | - | -  | -  |
| ZA 142   | <i>Bacillus atrophaeus</i>       | +              | Z <sup>+</sup> | - | -  | -  |

**SN:** Strain no, **Yame:** Yağ asit metil ester, **N:** Azot fikse etme özelliği, **K:** Potasyum çözme özelliği, **Ca:** Kalsiyum çözme özelliği, **P:** Fosfor çözme özelliği, **HR:** Hipersensitif reaksiyon testi, **+**: Pozitif sonuç, **K<sup>+</sup>:** Kuvvetli pozitif sonuç, **-:** Negatif sonuç, **Z<sup>+</sup>:** Zayıf pozitif sonuç

### 3.1.3. Çalışmada kullanılan bitki materyali

Çalışmada bitkisel materyal olarak Gina fasulye çeşiti kullanılmıştır.

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Aday antagonist bakteri strainlerinin izolasyonu

Iğdır'da 2 fasulye tarlasına gidilmiş ve her bahçeden rastgele seçilen sağlıklı 4 fasulye bitkisinden yaprak, kök ve toprak kısmına ait toplam 12 örnek alınmış ve izolasyon çalışmasında kullanılmıştır. Ayrıca patates bitkisi yumrularından ve sinir otu (*Plantago lanceolata*) ile yavşan otu (*Veronica sp.*)'na ait kök, yaprak ve toprak örneklerinden bakteri elde edilmiştir.

### 3.2.2. Kök ve yapraktan izolasyon

Laboratuvara getirilen kök ve yaprak örnekleri yıkanmış, ardından dış yüzeyleri %70'lik etil alkol ile yüzeysel olarak dezenfekte edilmiştir. Steril bir bistüri ile örnekler ayrı kaplarda çok küçük parçalara kesilmiş ve üzerine steril su eklenerek süspansiyon haline getirilmiştir (Şekil 3.1). Böylece doku içerisinde bulunan bakterilerin sıvı ortama geçmesi sağlanmıştır. Bu süspansiyonlardan öze ile alınarak, NA besi yerine [28 gr Nutrient Agar (Oxoid)/1 L dH<sub>2</sub>O] çizgi ekim yapılmıştır. Petriler 27 °C'de 4-5 gün inkubasyona bırakılmıştır. İnkubasyon sonrası gelişen farklı renk ve özellikteki bakteri kolonilerinin her birisi saflaştırılmıştır (Saygılı ve ark., 2006).



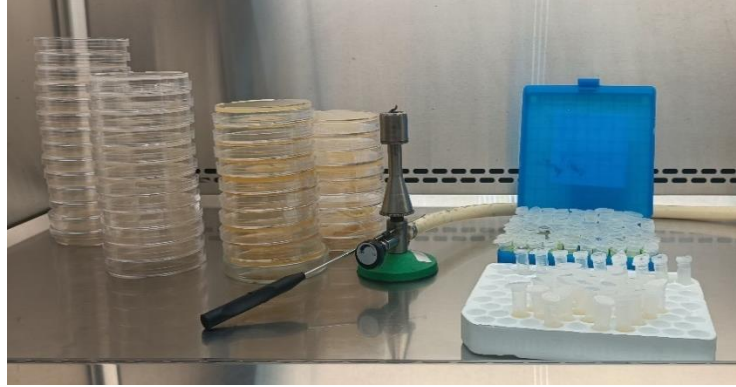
**Şekil 3.1.** Sağlıklı fasulye bitkilerine ait örneklerden bakteri izolasyonu

### **3.2.3. Toprakten izolasyon**

Fasulye bitkisinin rizosfer bölgesinden alınan örnekten 10 g toprak tartılarak 250-300 ml hacminde steril erlenmayer içerisinde konulmuştur. Bunun üzerine 90 ml steril su eklenerek karışım 30 dk çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Daha sonra erlenmayerdeki süspansiyondan steril pipetle 1 ml alınarak içerisinde 9 ml steril su bulunan tüplere konulmuş ve iyice karıştırılmıştır. Bu tüpten tekrar 1 ml alınıp, içinde 9 ml steril su bulunan tüpe aktararak iyice karıştırılmıştır. Bu seyreltme işlemi 6 kez tekrarlanmıştır. Son 3 seyreltikten 0.1 ml alınarak cam bagetle besi yerine yayılmıştır. Ekim yapılan petriler 27 °C'ye ayarlı inkübatöre gelişmeleri için bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen farklı renk ve şekildeki bakteri kolonilerinin her birisi saflaştırılmıştır (Saygılı ve ark., 2006).

### **3.2.4. Bakteri izolatlarının stok kültürlerinin hazırlanması**

Saf kültürlerle ait 24 saat'lik her bir bakteriden bir öze dolusu alınarak içerisinde 500 µl % 30'luk gliserol ve 500 µl Nutrient Broth (NB) [13 gr Nutrient Broth (Oxoid)/1 L dH<sub>2</sub>O] bulunan steril eppendorf tüplere bırakılmıştır. Tüpler karıştırıcıda karıştırılarak homojenizasyonu sağlanmış, sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere -80 °C'de muhafaza edilmiştir (Şekil 3.2).



**Şekil 3. 2.** İzole edilen bakteri strainlerinin stok kültürlerinin yapılması

### 3.2.5. Aday antagonist bakteri strainlerinin yağ asit profillerine göre tanılanması

Saf kültür olarak -80 °C’ de muhafaza edilen bakteri strainlerinden yağ asit metil ester ekstraksiyonu (YAME), izolasyonu, saflaştırılması ve analizi yapılmıştır. Bilgisayar kontrollü gaz kromatografi sistemi olan Mikrobiyal Tanı Sistemi (MIDI, Inc., Newark, DE) kullanılarak kültüre alınan strainlerin tür ve alt tür seviyesinde tanısı yapılarak her bir bakteri straini için yağ asitleri çeşitleri ve yüzde oranları belirlenmiştir (Sasser, 1990). Bakteri hücrelerinden yağ asit metil esterlerinin saflaştırılma işlemleri Şekil 3.4’te belirtildiği gibi yapılmıştır. Referans bakteri straini olarak *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans* strain MFD 266 kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminde kullanılan besiyeri ve çözeltiler aşağıda belirtilmiştir.

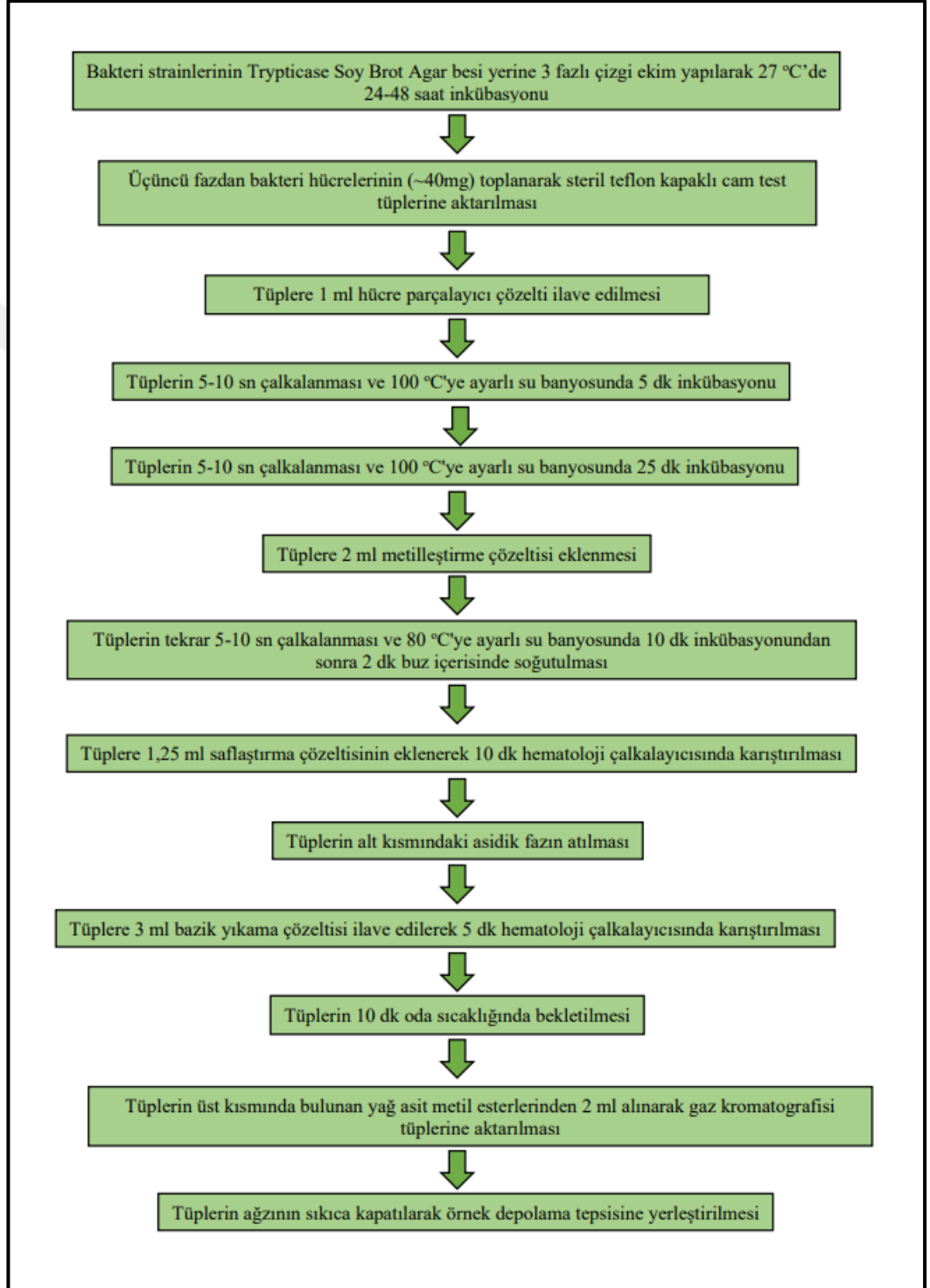
**Trypticase soy broth agar:** 30 g Trypticase soy agar (Oxoid)/1 L sdH<sub>2</sub>O içerisine ilave edilmiş ve sonra 121 °C’de 15 dakika otoklav edilerek hazırlanmıştır.

**Hücre parçalama çözeltisi:** 150 ml metil alkol (HPLC Grade) ve 150 ml sdH<sub>2</sub>O 1 L’lik renkli çözelti şişesine ilave edilmiştir. Daha sonra katı formdaki 45 g sodyum hidroksit (ACS Grade) eklenerek iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.

**Metilleştirme çözeltisi:** 325 ml hidroklorik asit (6 N) ve 275 ml metil alkol (HPLC Grade) 1 L’lik renkli çözelti şişesi içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.

**Saflaştırma (extraction) çözeltisi:** 200 ml metil-tert-butil-eter (HPLC Grade) 200 ml hexan (HPLC Grade) üzerine ilave edilerek 1 L’lik renkli çözelti şişesine katılarak iyice çözülünceye kadar karıştırılarak hazırlanmıştır.

**Bazik yıkama çözeltisi:** 10.8 g katı formdaki sodyum hidroksit (ACS Grade) 900 ml sdH<sub>2</sub>O içerisinde iyice çözülünceye kadar karıştırıldıktan sonra 1 L'lik renkli çözelti şişesine aktarılmıştır.



**Şekil 3.3.** Bakteri hücrelerinden yağ asit metil esterlerinin saflaştırılması

### 3.2.6. Tütünde aşırı duyarlılık testi (Hipersensitif reaksiyon, HR)

İzolasyon sonucu elde edilen bakteri strainleri NA besi yerine ekilerek, 24-48 sa 27 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Gelişen kültürlerden sdH<sub>2</sub>O ile konsantrasyonu 10<sup>8</sup> cfu/ml olan solüsyonlar hazırlanmıştır. Solüsyonlar 3cc'lik plastik enjektörlerle tütün (*Nicotiana tabacum* L. Samsun) bitkisinin yaprak alt yüzeyinin damar aralarına enjekte edilmiştir (Şekil 3.4). İnokulasyondan 48 sa sonra enfeksiyonun yapıldığı alanlarda oluşan nekroz (ölü doku oluşumu) HR pozitif olarak değerlendirilmiştir (Yörük, 2018). Referans bakteri straini olarak *Acidovorax citrulli* strain FI-KVN-22 kullanılmıştır.

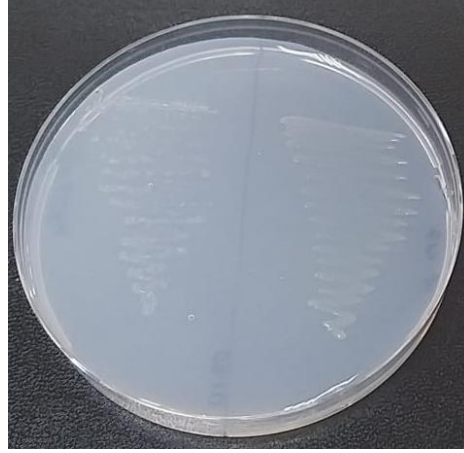


Şekil 3.4. Tütünde HR testi

### 3.2.7. Antagonist bakteri strainlerinin azot fikse etme özelliğinin belirlenmesi

Bakteri strainleri stok kültürlerinden NA besiyerine ekilerek 27 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen bakteri kültürleri N-Free Solid Malate-Sucrose besiyeri (10gr sucrose 10g, 5g L-Malic Acid, 0.2g MgSO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O, 0.01g FeCl<sub>3</sub>, 0.1g NaCl, 0.4g CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O, 0.4g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> H<sub>2</sub>O, agar 18g/1L dH<sub>2</sub>O, pH 7.2) üzerine çizgi ekim yapılmıştır ve petriler 27 °C'ye ayarlı inkübatörde bir hafta süreyle muhafaza edilmiştir (Şekil 3.5). İnkübasyon sonrası besiyerinde gözlemlenen bakteri gelişimi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Cattelan *et al.*, 1999). Referans bakteri straini olarak azot fikse etme özelliği kuvvetli pozitif olan *Rhizobium radiobacter* strain NK3 kullanılmıştır.





**Şekil 3.5.** Bakteri strainlerinin azot fikse etme özelliğinin test edilmesi

### **3.2.8. Antagonist bakteri strainlerinin fosfat çözme özelliğinin belirlenmesi**

NA besiyerinde gelişen 48 sa'lik bakteri kültürleri NBRIP-BPB (National Botanical Research Institutes's Phosphate Growth Medium) sıvı besiyerine (20g glukoz, 10g  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , 5g  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.25g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.2g KCl, 0.1g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ve 0.025g bromphenol blue, pH 7) aktarılmıştır. Ekim yapılan tüpler 27 °C'ye ayarlı inkübatörde iki hafta süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası besiyerinde gözlemlenen renk değişimi (sıvı besiyerinin renginin açık maviye dönmesi veya şeffaflaşması) pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Nautiyal, 1999). Referans bakteri straini olarak fosfat çözme özelliği kuvvetli pozitif olan *Pseudomonas putida* strain YS7 kullanılmıştır.

### **3.2.9. Antagonist bakteri strainlerinin potasyum çözme özelliğinin belirlenmesi**

Bakteri strainleri stok kültürlerinden NA besiyerine ekilerek 27 °C'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası gelişen 48 sa'lik bakteri kültürlerinden Aleksandrov besiyeri (5 gr glukoz, 0.005 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.1g  $\text{FeCl}_3$ , 2 g  $\text{CaCO}_3$ , 3 g waste mica, 2 g kalsiyum fosfat ve 20 g agar/1L  $\text{dH}_2\text{O}$ ) üzerine nokta ekim yapılmıştır ve petriler 27 °C'ye ayarlı inkübatörde iki hafta süreyle muhafaza edilmiştir. İnkübasyon sonrası bakteri gelişimi etrafında gözlemlenen şeffaf zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Meena *et al.*, 2015). Referans bakteri straini olarak potasyum çözme özelliği pozitif olan *Pseudomonas putida* strain DT2 kullanılmıştır.

### **3.2.10. Antagonist bakteri strainlerinin kalsiyum kullanma özelliğinin belirlenmesi**

NA besiyerine ekilerek 27 °C'ye ayarlı inkübatörde 48 sa geliştirilen bakteri kültürlerinden Yeast Dekstrose Carbonate Agar (YDCA; 20 gr dextrose, 10 gr yeast extract, 20 gr CaCO<sub>3</sub> ve 15 gr agar/1L dH<sub>2</sub>O) besiyeri üzerine nokta ekim yapılmış ve petriler 27 °C'ye ayarlı inkübatörde iki hafta süreyle muhafaza edilmiştir. İnkübasyon sonrası bakteri gelişimi etrafında gözlemlenen şeffaf zon oluşumu pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Meena *et al.*, 2015). Referans bakteri straini olarak kalsiyum kullanma özelliği kuvvetli pozitif olan *Pseudomonas putida* strain DT17 kullanılmıştır.

### **3.2.11. Antagonist bakteri strainlerinin 37 °C ve 42 °C'de gelişme özelliği**

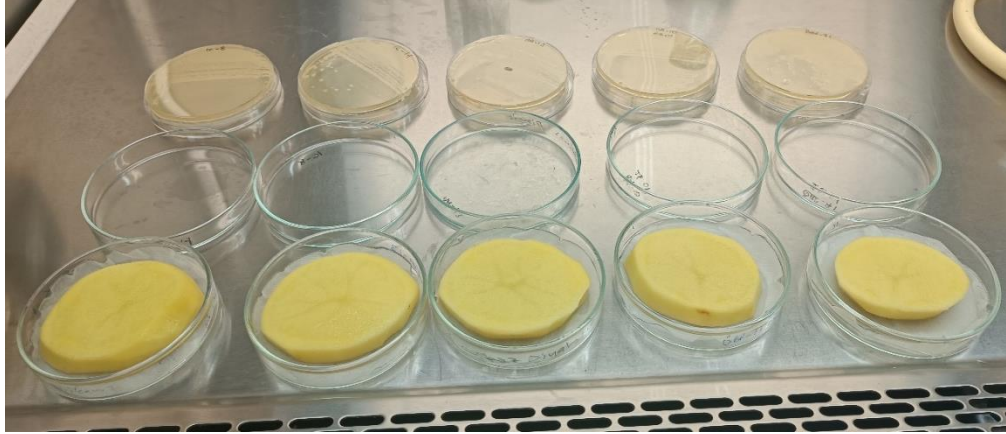
NA besiyerine ekimi yapılan aday antagonist bakteri strainleri 37 °C ve 42 °C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından her strainin test edilen sıcaklıklardaki gelişimleri değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1990).

### **3.2.12. Antagonist bakteri strainlerinin % 2 ve % 5 NaCl' da gelişme özelliği**

%2 ve %5 oranında sodyum klorür (NaCl) içeren NA besiyerlerine aday antagonist bakteri strainleri ekilmiş, petriler 27 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Gelişim gösteren strainler pozitif, gelişim göstermeyen strainler ise negatif olarak değerlendirilmiştir (Klement *et al.*, 1990).

### **3.2.13. Antagonist bakterileri strainlerinin pektolitik aktivitelerinin belirlenmesi**

Patates yumruları su ile yıkandıktan sonra %10'luk NaOCl' da 10 dk bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyonları yapılmış ve ardından sdH<sub>2</sub>O ile durulanmıştır. Steril bir bistüri ile 1 cm kalınlıkta olacak şekilde dilimlenen patatesler steril nemli filtre kâğıdı içeren petrilere yerleştirilmiştir. Steril swap yardımıyla 24-48 saatlik bakteri kültüründen koloniler alınmış ve patates dilimleri yüzeyine inokule edilmiştir. 25°C'de 48 saat inkübasyon sonrasında inokule edilen bölgedeki yumuşama pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.6) (Lelliot and Stead, 1987).



Şekil 3.6. Patateste pektolitik aktivite testi

### 3.2.14. Aday antagonist bakteri strainlerinin *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* ve *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*’a karşı biyokontrol etkilerinin belirlenmesi

#### 3.2.14.1. Petri denemesi

Patojene karşı etkisi test edilecek bakteri strainleri -80 °C’de muhafaza edilen stok kültürlerinden, NA besiyerine 3 fazlı çizgi ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petriler 24–48 sa süreyle 27 °C’ye ayarlı inkübatörde gelişmeleri için inkübasyona bırakılmıştır. Patojen strainlerinin 48 sa’ lik kültüründen alınan koloniler NA besiyerine swap ile yayılarak ekim yapılmıştır. Patojen ekiminden 24 sa sonra besiyerine aday antagonist bakteri strainleri birbirlerine eşit uzaklıkta olacak şekilde üç nokta şeklinde inokule edilmiştir. Ardından petriler bakterilerin gelişimi için 27 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda aday antagonist bakterilerin kolonilerinin çevresinde oluşan patojen gelişiminin engellendiği zon yarıçap (mm) olarak ölçülmüştür. Deneme 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür (Şekil 3.7) (Varhan, 2019).



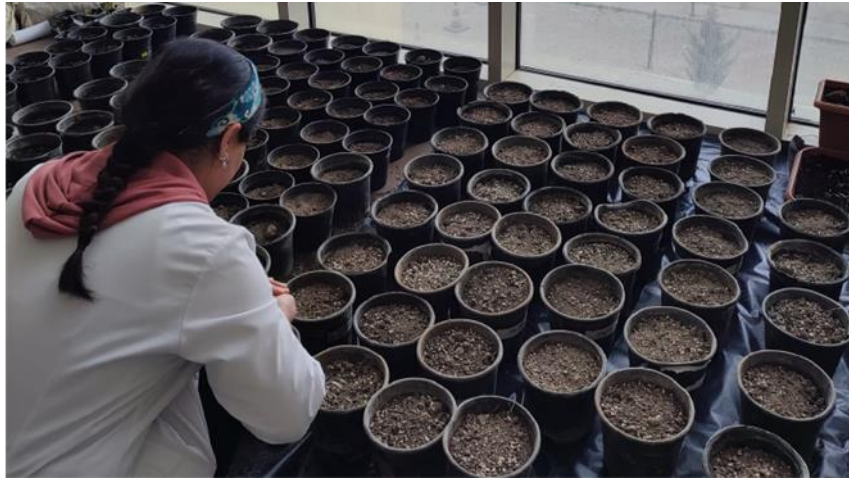
Şekil 3.7. Strainlerin patojene karşı biyokontrol etkisinin test edildiği petri denemesine ait bir görüntü

### 3.2.15.2. Saksı denemesi

**Denemede kullanılan tohumların dezenfeksiyonu:** Tohumlar %70'lik etil alkol içerisinde 1 dk tutulmuş, ardından sdH<sub>2</sub>O ile durulanmıştır. Daha sonra tohumlar %3'lük çamaşır suyunda 5 dk bekletilmiş ve takiben 3 kez sdH<sub>2</sub>O ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır.

**Bakteri strainlerine ait solüsyonların hazırlanması:** NA besiyerinde çoğaltılan bakteri strainlerine ait koloniler steril öze ile alınarak NB besi yerine aktarılmış ve 27 °C'ye ayarlı çalkalayıcıda 150 rpm/dk'da bir gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda turbidimetre ile inokulum yoğunluğu patojen için 10<sup>8</sup> cfu/ml, antagonist bakteri strainleri için 10<sup>6</sup> cfu/ml olarak ayarlanmıştır.

Saksı denemesi tesadüf parselleri deneme desenine göre 8 uygulama ile 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. *In vitro* ortamda her iki patojen strainine karşı antagonistik özellik gösteren bakteri strainleri (*Bacillus pumilus* strain AA10, *B. atrophaeus* strain AA13, *B. subtilis* strain IT159, *B. subtilis* strain IT162 ve *B. mycoides* strain ÖBF71) seçilerek tek ve kombinasyon şeklinde *in vivo* koşulda patojen strainlerine karşı test edilmiştir. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış fasulye tohumları her bir saksıya 3 adet olacak şekilde ekilmiştir (Şekil 3.8).



**Şekil 3.8.** Saksı denemesinin kurulması

Bitkiler 4-5 yapraklı döneme geldiğinde bitkinin yeşil aksamına antagonist bakteri uygulaması sprej şeklinde yapılmıştır. Uygulamadan 24 sa sonra patojen solüsyonu yapraklara sprej edilerek bulaştırılmıştır (Şekil 3.9). Bakteri inokulasyonu yapılan bitkilerin üzerlerine polietilen torbalar geçirilerek nem oluşumu sağlanmıştır.

Polietilen torbalar 3 gün sonra çıkartılmış ve 2 hafta boyunca semptom gelişimi takip edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan hastalık semptomları 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 3.2) (Çelik Ertekin, 2016).

**Çizelge 3.2.** Hastalık şiddetinin değerlendirilmesinde kullanılan 0-4 skalası

| Skala değeri | Tanım                 |
|--------------|-----------------------|
| 0            | Nekroz oluşumu yok    |
| 1            | Birkaç nekrotik leke  |
| 2            | Birleşmiş birçok leke |
| 3            | Ölü yaprak            |
| 4            | Ölü bitki             |

Elde edilen skala değerleri ile hastalık şiddeti Thowsend and Heuberger (1943) formülüne göre hesaplanmış

Townsend and Heuberger formülü:

$$\% \text{ Hastalık Şiddeti} = \frac{\sum(\text{skala değeri} \times \text{skalada değerlendirmeye giren birey sayısı})}{(\text{en yüksek skala değeri} \times \text{toplam birey sayısı})} \times 100$$

Hastalık şiddeti sonuçları Abbott (1925) formülü kullanılarak kontrol grubuna göre % etki değerleri hesaplanmıştır:

% Etki =  $(X - Y) \times 100 / X$  (Formülde **X**; hastalık şiddetini; **Y**; Uygulamadaki hastalık şiddetini ifade etmektedir.)

**Çizelge 3.3.** Saksı denemesinde yer alan uygulamalar

| Uygulamalar                             |                                         |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Xpp                                     | Xcf                                     |
| <i>Bacillus pumilus</i> strain AA10     | <i>Bacillus pumilus</i> strain AA10     |
| <i>Bacillus artrophoeus</i> strain AA13 | <i>Bacillus artrophoeus</i> strain AA13 |
| <i>Bacillus subtilis</i> strain IT159   | <i>Bacillus subtilis</i> strain IT159   |
| <i>Bacillus subtilis</i> strain IT162   | <i>Bacillus subtilis</i> strain IT162   |
| <i>Bacillus mycoides</i> strain ÖBF71   | <i>Bacillus mycoides</i> strain ÖBF71   |
| MIX                                     | MIX                                     |
| (AA10+AA13+IT159+IT162+ÖBF71)           | (AA10+AA13+IT159+IT162+ÖBF71)           |
| PK (MFD270+MFD442)                      | PK (MFD265+MFD666)                      |
| Negatif Kontrol (NB)                    | Negatif Kontrol (NB)                    |

**Xpp:** *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli*, **Xcf:** *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*, **PK:** Pozitif kontrol, **NB:** Nutrient Broth





**Şekil 3.9.** Patojenin yapraklara spey edilerek inokulasyonu

Elde edilen inhibisyon zonu ve hastalık şiddeti verilerine SPSS (Statistical Package For Social Sciences, Version 17.0) istatistik programında varyans analizi yapılmış ve Duncan Çoklu Karşılaştırma testi ( $P \leq 0.01$ ) ile sonuçlar değerlendirilmiştir.

#### **3.2.15. Uygulamaların yaprağın klorofil içeriğine etkisi**

Yapraklardaki klorofil içerikleri SPAD-502 cihazı kullanılarak belirlenmiştir (Rostami *et al.*, 2008).

#### **3.2.16. Patojene karşı etkili bulunan bakteri strainlerinin moleküler yöntemle tanısı**

Saf olarak geliştirilen bakteri strainleri DNA izolasyonu SuPure Bacterial DNA Isolation Kit (Katalog No: NA01C100) primerleri kullanılarak rRNA-ITS bölgesinin PCR amplifikasyonu ile baz dizi analizi için Sugenomik Biyoteknoloji Limited Şirketine (Ostim, Yenimahalle/Ankara, Türkiye) gönderilmiştir.

Her bir straine ait ileri ve geri dizilerden kontig oluşturulmuştur. Dizileme reaksiyonlarını gerçekleştiren cihazın yanlış okumuş olduğu bazı bazlar kromatogramik sinyallerin (piklerin) güçlülüğüne, temizliğine bakılarak Finch TV program yardımı ile görsel olarak düzeltilmiş ve kontig dizileri elde edilmiştir. Her straine ait baz dizileri genius yazılımı ile düzenlenmiş ve Clustal W algoritması kullanılarak hizalanmıştır. Elde edilen baz dizileri NCBI (National Center For Biotechnology Information) veri tabanında BLAST analizi ile sorgulanmıştır. Tür tayini için PCR çalışmasında universal primer olarak 27F-V9R primerleriyle 16s rRNA geninin V1-V9 hedef bölgesi (27F-1100R) primerleriyle 16s rRNA geninin V1-V8 hedef bölgesi çoğaltılmıştır. Kullanılan primer dizileri (Çizelge 3.4) ve PCR koşulları aşağıda verilmiştir.

**Çizelge 3.4.** 16s rRNA geninin V1-V8 hedef bölgesi için primer dizisi

| Primer Adı | Primer Dizisi              | Forward (F) / Reverse (R) |
|------------|----------------------------|---------------------------|
| 27F (V1)   | 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' | F                         |
| V9R        | 5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3' | R                         |

**PCR programı:** Hazırlanan örnekler, 95°C 5 dakika denetürasyon, bunu takiben 35 döngü olacak şekilde 95 °C’de 30 saniye denetürasyon, 55 °C’de 1 dakika bağlanma (touchdown PCR) ve 72°C’ de 90 saniye uzama basamakları ve son olarak 72°C’ de 10 dakika uzama basamağından oluşacak şekilde programlanan PCR termocycler cihazına yerleştirilmiştir. Seçilen programda hedef bölgelerin amplifikasyonu yapılmıştır.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. İzolasyon Çalışması Sonuçları

İzolasyon çalışması sonucunda fasulye bitkisinden 26, sinir otu (*Plantago lanceolata*)’ndan 19, yavşan otu (*Veronica sp.*)’dan 20, domatesten 5 ve patatesten 8 olmak üzere toplam 78 bakteri straini elde edilmiştir. Bakteri strainlerinin izole edildiği bitkiler ve elde edilen strain sayıları Çizelge 4.1’de belirtilmiştir. Elde edilen bakteri strainlerine ait stok kültürler hazırlanmış ve çalışmalarda kullanılmak üzere –80 °C’de muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 4.1.** İzolasyon yapılan bitkiler ve elde edilen strain sayıları

| Lokasyon      | Bitki      | İzolasyonun Yapıldığı Materyal |    |    |    |    | Toplam |
|---------------|------------|--------------------------------|----|----|----|----|--------|
|               |            | T                              | K  | Y  | TH | YM |        |
| Iğdır-Merkez  | Fasulye    | 10                             | 11 | 5  | -  | -  | 26     |
| Suveren       | Sinir otu  | 10                             | 5  | 4  | -  | -  | 19     |
| Suveren       | Yavşan otu | 13                             | 4  | 3  | -  | -  | 20     |
| Iğdır-Merkez  | Domates    | -                              | -  | -  | 5  | -  | 5      |
| Iğdır-Merkez  | Patates    | -                              | -  | -  | -  | 8  | 8      |
| <b>Toplam</b> |            | 33                             | 20 | 12 | 5  | 8  | 78     |

T; Toprak, K; Kök, Y; Yaprak, TH; Tohum, YM; Yumru

### 4.2. Bakteri Strainlerinin Yağ Asit Profillerine Göre Tanısı

Mikroorganizmaların yağ asit metil ester (YAME) analizleri sonucunda yağ asit profilleri elde edilmiştir ve sonuçlar Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Strainlere ait profiller incelendiğinde 1 *Acinetobacter calcoaceticus*, 1 *Acinetobacter iwoffii*, 2 *Agrobacterium tumefaciens*, 1 *Arthrobacter agilis*, 1 *Arthrobacter globiformis*, 2 *Bacillus atrophaeus*, 8 *Bacillus cereus*, 6 *Bacillus megaterium*, 13 *Bacillus pumilus*, 3 *Bacillus thuringiensis israelensis*, 2 *Bacillus subtilis*, 5 *Bacillus mycoides*, 1 *Chryseobacterium indologenes*, 1 *Clavibacter tritici*, 2 *Curtobacterium flaccumfaciens*, 3 *Flavobacterium johnsoniae*, 2 *Kluyvera cryocrescens*, 1 *Kluyvera intermedia*, 1 *Lysinibacillus sphaericus*, 1 *Microbacterium laevaniformans*, 2 *Pseudomonas fluorescens*, 2 *Pseudomonas chlororaphis*, 6 *Pseudomonas putida*, 1 *Psychrobacter immobilis*, 1 *Rhizobium radiobacter*, 2 *Stenotrophomonas maltophilia*, 1 *Salmonella enterica enterica*, 2



*Virgibacillus pantothenicus* ve 1 *Vibrio alginolyticus* olmak üzere 75 bakteri straini tür düzeyinde 3 strain cins düzeyinde (*Bacillus* spp.) tanımlanmıştır. Referans bakteri straini %91 benzerlik indeksi ile Xpp olarak tanımlanmıştır.

**Çizelge 4.2.** Bakteri strainlerinin YAME analiz tanı sonuçları

| SN | STN   | YAME ANALİZİ TANI SONUCU                  | Bİ % | BİTKİ             |
|----|-------|-------------------------------------------|------|-------------------|
| 1  | AA 1  | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 70   | Fasulye-Toprak    |
| 2  | AA 4  | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>       | 92   | Fasulye-Toprak    |
| 3  | AA 5  | <i>Kluyvera cryocrescens</i>              | 60   | Fasulye-Toprak    |
| 4  | AA 6  | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 68   | Fasulye- Toprak   |
| 5  | AA 7  | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 75   | Fasulye-Toprak    |
| 6  | AA 9  | <i>Kluyvera cryocrescens</i>              | 63   | Patates-Yumru     |
| 7  | AA 10 | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 60   | Patates-Yumru     |
| 8  | AA 11 | <i>Bacillus cereus</i>                    | 73   | Patates-Yumru     |
| 9  | AA 12 | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 82   | Patates-Yumru     |
| 10 | AA 13 | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 48   | Patates-Yumru     |
| 11 | AA 14 | <i>Bacillus atrophaeus</i>                | 84   | Patates-Yumru     |
| 12 | AA 15 | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 59   | Patates-Yumru     |
| 13 | AA 16 | <i>Arthrobacter globiformis</i>           | 58   | Domates-Tohum     |
| 14 | AA 17 | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 68   | Domates-Tohum     |
| 15 | AA 19 | <i>Bacillus cereus</i>                    | 65   | Fasulye-Kök       |
| 16 | AA 20 | <i>Bacillus pumilis</i>                   | 52   | Patates-Yumru     |
| 17 | AA 21 | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 57   | Domates-Tohum     |
| 18 | AA 24 | <i>Rhizobium radiobacter</i>              | 78   | Fasulye-Yaprak    |
| 19 | AA 27 | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 74   | Fasulye-Yaprak    |
| 20 | AA 30 | <i>Bacillus megaterium</i>                | 65   | Fasulye-Toprak    |
| 21 | AA 31 | <i>Enterobacter hormaechei</i>            | 36   | Fasulye-Toprak    |
| 22 | AA 33 | <i>Agrobacterium tumefaciens</i>          | 84   | Fasulye-Kök       |
| 23 | AA 34 | <i>Bacillus megaterium</i>                | 41   | Fasulye-Yaprak    |
| 24 | AA 35 | <i>Virgibacillus pantothenicus</i>        | 46   | Fasulye-Yaprak    |
| 25 | AA 37 | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>        | 80   | Sinir otu -Toprak |
| 26 | AA 39 | <i>Acinetobacter ıwoffi</i>               | 75   | Sinir otu-Toprak  |
| 27 | AA 41 | <i>Pseudomonas fluorescens</i>            | 76   | Domates-Tohum     |
| 28 | AA 42 | <i>Pseudomonas fluorescens</i>            | 72   | Domates-Tohum     |
| 29 | AA 46 | <i>Bacillus megaterium</i>                | 55   | Yavşan otu-Yaprak |

**Çizelge 4.2. (Devamı)**

| SN | STN    | YAME ANALİZİ TANI SONUCU                  | Bİ % | BİTKİ             |
|----|--------|-------------------------------------------|------|-------------------|
| 30 | AA 47  | <i>Flavobacterium johnsoniae</i>          | 68   | Yavşan otu-Toprak |
| 31 | AA 48  | <i>Agrobacterium tumefaciens</i>          | 78   | Sinir otu-Yaprak  |
| 32 | AA 49  | <i>Arthrobacter agilis</i>                | 74   | Sinir otu-Kök     |
| 33 | AA 50  | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>       | 43   | Sinir otu-Kök     |
| 34 | AA 51  | <i>Bacillus cereus</i>                    | 91   | Yavşan otu-Toprak |
| 35 | AA 52  | <i>Clavibacter tritici</i>                | 52   | Yavşan otu-Kök    |
| 36 | AA 53  | <i>Bacillus mycoides</i>                  | 38   | Yavşan otu-Toprak |
| 37 | AA 54  | <i>Bacillus spp.</i>                      | 64   | Sinir otu-Toprak  |
| 38 | AA 55  | <i>Pseudomonas chlororaphis</i>           | 79   | Sinir otu-Yaprak  |
| 39 | AA 56  | <i>Pseudomonas chlororaphis</i>           | 70   | Yavşan otu-Yaprak |
| 40 | AA 57  | <i>Bacillus megaterium</i>                | 63   | Fasulye-Kök       |
| 41 | AA 58  | <i>Psychrobacter immobilis</i>            | 85   | Yavşan otu-Kök    |
| 42 | AA 59  | <i>Pseudomonas putida</i>                 | 54   | Yavşan otu-Kök    |
| 43 | AA 61  | <i>Kluyvera intermedia</i>                | 72   | Sinir otu-Toprak  |
| 44 | AA 62  | <i>Virgibacillus pantothenicus</i>        | 60   | Sinir otu-Toprak  |
| 45 | AA 64  | <i>Chryseobacterium indologenes</i>       | 86   | Sinir otu-Toprak  |
| 46 | AA 65  | <i>Flavobacterium johnsoniae</i>          | 67   | Sinir otu-Toprak  |
| 47 | AA 67  | <i>Bacillus megaterium</i>                | 49   | Sinir otu-Toprak  |
| 48 | AA 68  | <i>Pseudomonas putida</i>                 | 64   | Sinir otu-Toprak  |
| 49 | AA 71  | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 40   | Fasulye-Toprak    |
| 50 | AA 72  | <i>Bacillus subtilis</i>                  | 71   | Fasulye-Toprak    |
| 51 | AA 76  | <i>Bacillus spp.</i>                      | 54   | Sinir otu-Toprak  |
| 52 | AA 79  | <i>Bacillus cereus</i>                    | 45   | Yavşan otu-Toprak |
| 53 | AA 80  | <i>Lysinibacillus sphaericus</i>          | 35   | Yavşan otu-Toprak |
| 54 | AA 83  | <i>Vibrio alginolyticus</i>               | 57   | Sinir otu-Yaprak  |
| 55 | AA 84  | <i>Bacillus spp.</i>                      | 35   | Sinir otu-Yaprak  |
| 56 | AA 86  | <i>Pseudomonas putida</i>                 | 66   | Yavşan otu-Toprak |
| 57 | AA 90  | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 65   | Yavşan otu-Toprak |
| 58 | AA 94  | <i>Bacillus pumilus</i>                   | 58   | Sinir otu-Kök     |
| 59 | AA 96  | <i>Bacillus megaterium</i>                | 51   | Sinir otu-Kök     |
| 60 | AA 97  | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 80   | Sinir otu-Kök     |
| 61 | AA 99  | <i>Bacillus thuringiensis israelensis</i> | 88   | Fasulye-Kök       |
| 62 | AA 103 | <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>      | 48   | Fasulye-Kök       |

**Çizelge 4.2. (Devamı)**

| SN | STN    | YAME ANALİZİ TANI SONUCU                 | BI % | Bitki             |
|----|--------|------------------------------------------|------|-------------------|
| 63 | AA 104 | <i>Pseudomonas putida</i>                | 90   | Fasulye-Toprak    |
| 64 | AA 105 | <i>Bacillus pumilus</i>                  | 66   | Yavşan otu-Kök    |
| 65 | AA 108 | <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>     | 61   | Fasulye-Yaprak    |
| 66 | AA 109 | <i>Pseudomonas putida</i>                | 71   | Yavşan otu-Toprak |
| 67 | AA 110 | <i>Microbacterium laevaniformans</i>     | 33   | Yavşan otu-Toprak |
| 68 | AA 111 | <i>Bacillus pumilus</i>                  | 63   | Yavşan otu-Toprak |
| 69 | AA 112 | <i>Bacillus cereus</i>                   | 46   | Yavşan otu-Toprak |
| 70 | AA 113 | <i>Flavobacterium johnsoniae</i>         | 81   | Yavşan otu-Toprak |
| 71 | AA 114 | <i>Bacillus cereus</i>                   | 96   | Yavşan otu-Toprak |
| 72 | AA 120 | <i>Pseudomonas putida vancouverensis</i> | 69   | Yavşan otu-Yaprak |
| 73 | AA 121 | <i>Bacillus cereus</i>                   | 32   | Fasulye-Kök       |
| 74 | AA 122 | <i>Bacillus mycoides</i>                 | 67   | Fasulye-Kök       |
| 75 | AA 123 | <i>Bacillus mycoides</i>                 | 56   | Fasulye-Kök       |
| 76 | AA 124 | <i>Bacillus mycoides</i>                 | 76   | Fasulye-Kök       |
| 77 | AA 125 | <i>Bacillus cereus</i>                   | 80   | Fasulye-Kök       |
| 78 | AA 126 | <i>Bacillus mycoides</i>                 | 60   | Fasulye-Kök       |

SN: Sıra no, STN: Strain no YAME: Yağ asit metil ester, BI: Benzerlik indeksi

#### 4.3. Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Response=HR) Testi

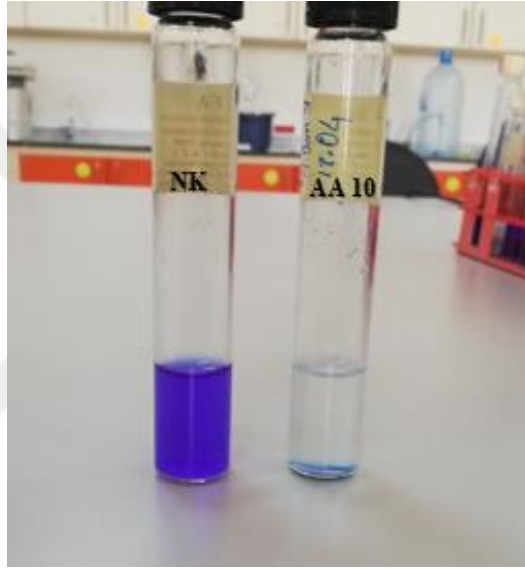
Referans kültür *A. citrulli* FI-KVN-22 inokulasyondan 48 sa sonra, tütün yapraklarında aşırı duyarlılık reaksiyonu oluşturarak HR pozitif sonuç vermiştir. Test edilen antagonist aday bakteri strainlerinin hiçbirisi tütün yapraklarında tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olmamıştır. Negatif kontrol olarak değerlendirilen sdH<sub>2</sub>O uygulamasında ise inokulasyon bölgesinde herhangi bir değişim gözlenmemiştir.

#### 4.4. Antagonist Bakteri Strainlerinin Azot Fikse Etme Özelliğinin Belirlenmesi

Referans kültür *R. radiobacter* strain NK3'ün N-Free Solid Malate Sucrose besiyerinde geliştiği gözlenmiştir. Patojene karşı etkili bulunan 20 antagonist bakteri straininden 6 tanesinin besiyerinde çok kısa sürede ve yoğun bir şekilde geliştiği görülmüş ve azot fikzasyon özelliği kuvvetli pozitif olarak kaydedilmiştir. 14 strainin ise azot fikzasyonunda pozitif özellik gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 4.2).

#### 4.5. Antagonist Bakteri Strainlerinin Fosfat Çözme Özelliğinin Belirlenmesi

Referans kültürün besiyerinde gelişerek renk değişimine neden olduğu gözlenmiştir. Antagonist bakteri strainlerinden 15 tanesinin inokule edildiği sıvı besiyerinde renk açılması meydana getirdiği, besiyerinin su gibi berrak bir görüntüye sahip olduğu ve buna bağlı olarak fosfat çözme özelliklerinin pozitif olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Geri kalan 5 strainin ise kontrolle kıyaslandığında besi yerinde renk değişimi oluşturmadağı belirlenmiş ve sonuç negatif olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3).



Şekil 4.1. Fosfat çözme özelliğı pozitif olan strain AA10

#### 4.6. Antagonist Bakteri Strainlerinin Potasyum Çözme Özelliğinin Belirlenmesi

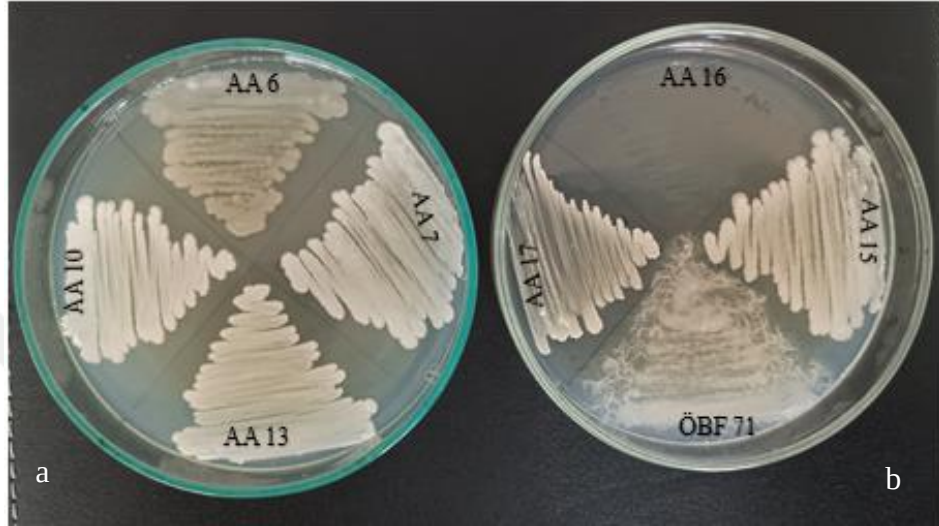
Aleksandrov besiyerinde karşılaştırma kültürünün zon oluşturduğu görülmüştür. Ancak antagonist bakteri strainlerinin besiyerinde gelişen kolonilerinin etrafında şeffaf zon oluşumunun meydana gelmediğı tespit edilmiştir ve strainlerin tamamının potasyum çözme özelliklerinin negatif olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3).

#### 4.7. Antagonist Bakteri Strainlerinin Kalsiyum Kullanma Özelliğinin Belirlenmesi

YDCA besiyerinde referans kültür *P. putida* strain DT17'nin kolonisinin etrafında şeffaf zon oluşumu belirlenirken 20 antagonist bakteri straininin kolonilerin etrafında şeffaf zon oluşumu görülmemiş ve strainlerin kalsiyumu çözme özelliklerinin negatif olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

#### 4.8. Antagonist Bakteri Strainlerinin %2 ve %5 NaCl' da Gelişme Özelliği

Her iki NaCl konsantrasyonunda 19 bakteri straininin çok hızlı ve yoğun geliştiği tespit edilmiş, sonuç kuvvetli pozitif olarak kaydedilmiştir. Strainlerden *A. globiformis* strain AA16'nın ise pozitif özellikte olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3).



Şekil 4.2. %5 NaCl konsantrasyonunda bakteri strainlerinin gelişimi (a), %2 NaCl'da bakteri strainlerinin gelişimi (b)

#### 4.9. Antagonist Bakteri Strainlerinin 37 °C ve 42 °C'de Gelişme Özelliği

Bakteri strainlerinin test edilen sıcaklık derecelerinde gelişmedikleri görülmüştür.

#### 4.10. Antagonist Bakterileri Strainlerinin Pektolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi

*In vitro* ikili kültür testlerinde antibakteriyel aktiviteleri belirlenen bakteri strainlerinin patates dilimlerinde inokule edildikleri alanda çürüklük oluşturmadıkları tespit edilmiş, sonuç pektolitik aktivite negatif olarak kaydedilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Biyokontrol etkisi belirlenen bakteri strainlerinin azot fikse etme, fosfat, potasyum, kalsiyumu çözme, NaCl’da gelişme ve pektolitik aktivite testlere ait sonuçları

| SN     | YAME Analiz Tanı                | N              | P              | K | Ca | %2             | %5             | PA |
|--------|---------------------------------|----------------|----------------|---|----|----------------|----------------|----|
|        | Sonucu                          |                |                |   |    | NaCl           | NaCl           |    |
| AA 1   | <i>Bacillus pumilus</i>         | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 6   | <i>Bacillus pumilus</i>         | +              | -              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 7   | <i>Bacillus pumilus</i>         | +              | -              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 10  | <i>Bacillus pumilus</i>         | +              | -              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 11  | <i>Bacillus cereus</i>          | K <sup>+</sup> | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 13  | <i>Bacillus atrophaeus</i>      | K <sup>+</sup> | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 15  | <i>Bacillus pumilus</i>         | +              | -              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 16  | <i>Arthrobacter globiformis</i> | +              | +              | - | -  | +              | +              | -  |
| AA 17  | <i>Bacillus pumilus</i>         | +              | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 20  | <i>Bacillus pumilis</i>         | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 21  | <i>Bacillus pumilus</i>         | +              | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 27  | <i>Bacillus pumilus</i>         | K <sup>+</sup> | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 53  | <i>Bacillus mycoides</i>        | +              | K <sup>+</sup> | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 67  | <i>Bacillus megaterium</i>      | +              | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 86  | <i>Pseudomonas putida</i>       | +              | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 107 | <i>Bacillus pumilus</i>         | K <sup>+</sup> | +              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 111 | <i>Bacillus pumilus</i>         | +              | -              | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 112 | <i>Bacillus cereus</i>          | +              | K <sup>+</sup> | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 114 | <i>Bacillus cereus</i>          | +              | K <sup>+</sup> | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |
| AA 125 | <i>Bacillus cereus</i>          | +              | K <sup>+</sup> | - | -  | K <sup>+</sup> | K <sup>+</sup> | -  |

SN: Strain no, YAME: Yağ asit metil ester, N: Azot fiske etme özelliği, P: Fosfor çözme özelliği, K: Potasyum çözme özelliği, Ca: Kalsiyum çözme özelliği, +: Pozitif sonuç, K<sup>+</sup>: Kuvvetli pozitif sonuç, -: Negatif sonuç, PA: Pektolitik aktivite

#### 4.11. *In vitro* Ortamda Aday Antagonist Bakteri Strainlerinin Patojen Strainlerine Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi

*In vitro* ortamda Xpp ve Xcf strainlerine karşı 93 bakteri strainin antibakteriyel aktivitesi test edilmiş ve etkili bulunan strainlerin oluşturduğu zon değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’te sunulmuştur. Test edilen bakteri strainlerinin oluşturdukları engelleme zonları Xpp için değerlendirildiğinde, MFD 442 strainine karşı

9 (*Bacillus pumilus* strain AA6, *B. pumilus* strain AA7, *B. pumilus* strain AA10, *B. cereus* strain AA11, *B. atrophaeus* strain AA-13, *B. pumilus* strain AA15, *B. pumilus* strain AA17, *B. subtilis* strain IT159 ve *B. subtilis* strain IT162), MFD 270 strainine karşı 5 strainin (*B. pumilus* strain AA10, *B. atrophaeus* strain AA13, *Arthrobacter globiformis* strain AA16, *B. pumilus* strain AA27 ve *B. megaterium* strain AA46) antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Patojen gelişiminin inhibisyonuna ait değerler Xcf için incelendiğinde MFD 265 strainine karşı 14 strainin (*Bacillus pumilus* strain AA1, *B. pumilus* strain AA10, *B. atrophaeus* strain AA13, *B. pumilus* strain AA15, *A. globiformis* strain AA16, *B. pumilus* strain AA17, *B. pumilus* strain AA21, *B. pumilus* strain AA27, *Bacillus megaterium* strain AA67, *Bacillus* sp. strain AA76, *Pseudomonas putida* strain AA86, *B. pumilus* strain AA111, *B. subtilis* strain IT159 ve *B. subtilis* strain IT162), MFD 266 strainine karşı ise 10 strainin (*B. pumilus* strain AA6, *B. pumilus* strain AA7, *B. pumilus* strain AA10, *B. atrophaeus* strain AA13, *B. pumilus* strain AA17, *B. pumilus* strain AA20, *B. pumilus* strain AA111, *Bacillus cereus* strain AA112, *B. subtilis* strain IT159 ve *B. subtilis* strain IT162) antagonistik etki gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 4.5). Bakteri strainlerinden 3 tanesinin (*B. mycoides* strain ÖBF71, *B. mycoides* strain AA124 ve *B. cereus* strain AA125) ise 4 patojen strainine karşı hiperparazitik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Belirtilen strainler petri yüzeyine tamamen kapladığından zon ölçümü yapılmamıştır. Bu nedenle *in vitro* test sonuçlarının sonuçları çizelgede verilmemişlerdir.

Bakteri uygulamalarının Xpp ve Xcf strainlerinin gelişimine etkisi istatistiki olarak ( $p \leq 0,01$ ) bulunmuştur. Xpp strain MFD 442'ye karşı en yüksek biyokontrol etkiyi 28 mm engelleme zonu çapı ile IT159 straininin, en düşük etkiyi ise 10,5 mm engelleme zonu ile AA11 straininin oluşturduğu tespit edilmiştir. Xpp strain MFD 270'ye karşı ise en yüksek antibakteriyel etki 20,3 mm engelleme zonu çapı ile AA10 straini uygulamasında belirlenerek en düşük etki 12,8 mm engelleme zonu çapı ile AA16 straini uygulamasında saptanmıştır (Şekil 4.3) (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.4.** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin Xpp strain MFD 442'ye karşı oluşturduğu zon çapları

| STN      | YAME Analiz Tanı Sonucu    | Xpp strain MFD 442     |
|----------|----------------------------|------------------------|
| AA 6     | <i>Bacillus pumilus</i>    | 14±0,17 <sup>c*</sup>  |
| AA 7     | <i>Bacillus pumilus</i>    | 19,1±0,14 <sup>b</sup> |
| AA 10    | <i>Bacillus pumilus</i>    | 21,2±0,00 <sup>b</sup> |
| AA 11    | <i>Bacillus cereus</i>     | 10,5±0,05 <sup>d</sup> |
| AA 13    | <i>Bacillus atrophaeus</i> | 13,1±0,05 <sup>d</sup> |
| AA 15    | <i>Bacillus pumilus</i>    | 22,3±0,20 <sup>b</sup> |
| AA 17    | <i>Bacillus pumilus</i>    | 21,6±0,14 <sup>b</sup> |
| IT 159   | <i>Bacillus subtilis</i>   | 28±0,42 <sup>a</sup>   |
| IT 162   | <i>Bacillus subtilis</i>   | 26,6±0,14 <sup>a</sup> |
| F Değeri |                            | 31,00**                |

\*Veriler üç tekerrür ortalamasıdır ve aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur

\*\*önemlilik (p≤0.01)

STN: Strain no, YAME: Yağ asit metil ester

**Çizelge 4.5.** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin Xpp strain MFD 270'e karşı oluşturduğu zon çapları

| STN      | YAME Analiz Tanı Sonucu         | Xpp strain MFD 270      |
|----------|---------------------------------|-------------------------|
| AA 10    | <i>Bacillus pumilus</i>         | 20,3±0,05 <sup>a*</sup> |
| AA 13    | <i>Bacillus atrophaeus</i>      | 15±0,00 <sup>c</sup>    |
| AA 16    | <i>Arthrobacter globiformis</i> | 12,8±0,11 <sup>d</sup>  |
| AA 27    | <i>Bacillus pumilus</i>         | 14,6±0,02 <sup>c</sup>  |
| AA 46    | <i>Bacillus megaterium</i>      | 17,1±0,05 <sup>b</sup>  |
| F Değeri |                                 | 59,300**                |

\*Veriler üç tekerrür ortalamasıdır ve aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur

\*\*önemlilik (p≤0.01)

STN: Strain no, YAME: Yağ asit metil ester

*In vitro* test sonuçları Xcf açısından incelendiğinde patojenin MDF 265 strainine karşı IT159 en yüksek etkiyi (27,3 mm) oluşturduğu belirlenmiştir. En düşük etki (0,95 mm) ise AA67 straininin uygulanması sonucunda elde edilmiştir. Xcf patojenin MFD 266 strainine karşı ise en yüksek etki 37 mm engelleme değeri ile IT159, en düşük



engelleme etkisi ise 10 mm değeri ile AA20 strainin uygulaması sonucunda tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.6.** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin Xcf strain MFD 265'e karşı oluşturduğu zon çapları

| STN             | YAME Analiz Tanı Sonucu         | Xcf strain MFD 265                 |
|-----------------|---------------------------------|------------------------------------|
| AA 1            | <i>Bacillus pumilus</i>         | 10,1±0,05 <sup>g*</sup>            |
| AA 10           | <i>Bacillus pumilus</i>         | 18,1±0,40 <sup>de</sup>            |
| AA 13           | <i>Bacillus atrophaeus</i>      | 21,1±0,49 <sup>bcd</sup>           |
| AA 15           | <i>Bacillus pumilus</i>         | 23,5±0,08 <sup>b</sup>             |
| AA 16           | <i>Arthrobacter globiformis</i> | 10±0,00 <sup>g</sup>               |
| AA 17           | <i>Bacillus pumilus</i>         | 13,5±0,25 <sup>fg</sup>            |
| AA 21           | <i>Bacillus pumilus</i>         | 11,6±0,05 <sup>f<sup>g</sup></sup> |
| AA 27           | <i>Bacillus pumilus</i>         | 11,6±0,05 <sup>fg</sup>            |
| AA 67           | <i>Bacillus megaterium</i>      | 0,95±0,08 <sup>g</sup>             |
| AA 76           | <i>Bacillus spp.</i>            | 15±0,00 <sup>ef</sup>              |
| AA 86           | <i>Pseudomonas putida</i>       | 10±0,00 <sup>g</sup>               |
| AA 111          | <i>Bacillus pumilus</i>         | 22,6±0,05 <sup>bc</sup>            |
| IT 159          | <i>Bacillus subtilis</i>        | 27,3±0,28 <sup>a</sup>             |
| IT 162          | <i>Bacillus subtilis</i>        | 19,3±0,11 <sup>cd</sup>            |
| <b>F Değeri</b> |                                 | 24,247 <sup>**</sup>               |

\*Veriler üç tekerrür ortalamasıdır ve aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur

\*\*önemlilik ( $p \leq 0.01$ ).

STN: Strain no, YAME: Yağ asit metil ester

**Çizelge 4.7.** *In vitro* ortamda bakteri strainlerinin Xcf strain MFD 266'ya karşı oluşturduğu zon çapları

| STN    | YAME Analiz Tanı Sonucu    | Xcf strain MFD 266      |
|--------|----------------------------|-------------------------|
| AA 6   | <i>Bacillus pumilus</i>    | 23,1±0,05 <sup>c*</sup> |
| AA 7   | <i>Bacillus pumilus</i>    | 31,6±0,14 <sup>b</sup>  |
| AA 10  | <i>Bacillus pumilus</i>    | 23,8±0,23 <sup>c</sup>  |
| AA 13  | <i>Bacillus atrophaeus</i> | 23,5±0,00 <sup>c</sup>  |
| AA 17  | <i>Bacillus pumilus</i>    | 25,6±0,11 <sup>c</sup>  |
| AA 20  | <i>Bacillus pumilis</i>    | 10±0,00 <sup>e</sup>    |
| AA 111 | <i>Bacillus pumilus</i>    | 26,3±0,20 <sup>c</sup>  |

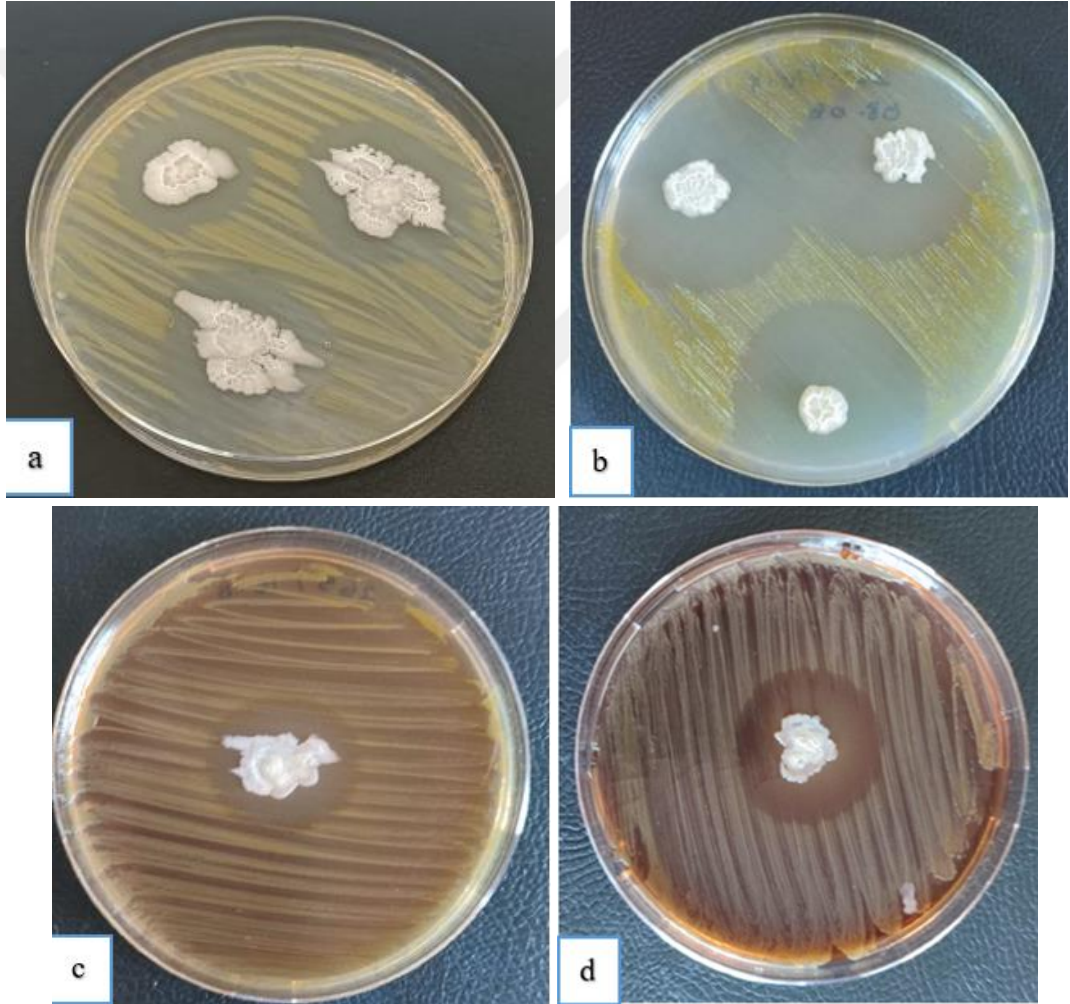
**Çizelge 4.7. (Devamı)**

| STN      | YAME Analiz Tanı Sonucu  | Xcf strain MFD 266   |
|----------|--------------------------|----------------------|
| AA 112   | <i>Bacillus cereus</i>   | 17±0,00 <sup>d</sup> |
| IT 159   | <i>Bacillus subtilis</i> | 37±0,36 <sup>a</sup> |
| IT 162   | <i>Bacillus subtilis</i> | 25±0,17 <sup>c</sup> |
| F Değeri |                          | 55,082 <sup>**</sup> |

\*Veriler üç tekerrür ortalamasıdır ve aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark yoktur.

\*\*Önemlilik ( $p \leq 0.01$ )

STN: Strain no, YAME: Yağ asit metil ester



**Şekil 4.3.** Bakteri strainlerinin (a) Xpp strain MFD 442 ve (b) Xpp strain MFD 270 (c) Xcf strain MFD 265 ve (d) Xcf strain MFD 266 gelişimini engellemesi

#### 4.12. Saksı Denemesi

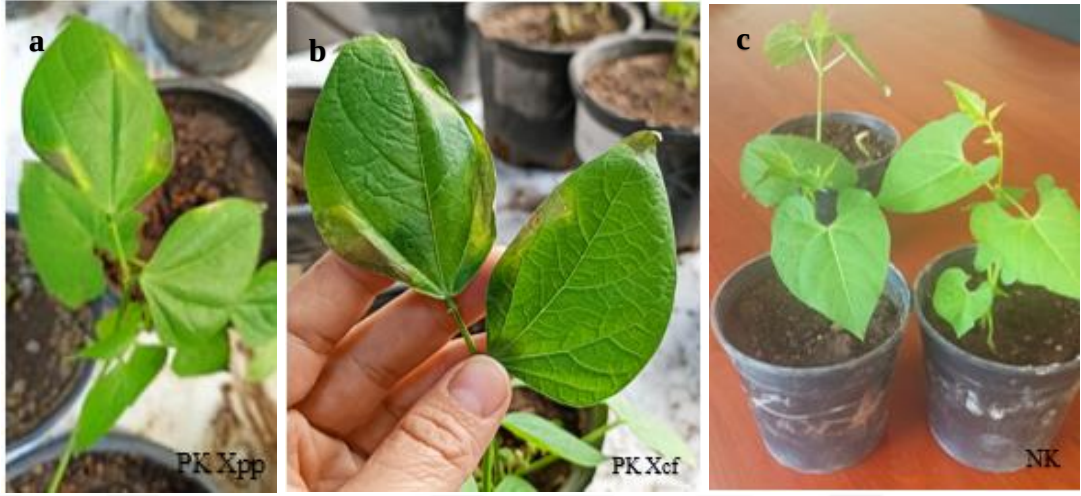
Antagonist bakteri uygulamalarının Xpp ve Xcf'nin neden olduğu hastalık şiddetine etkisi Çizelge 4.8'de verilmiştir. Patojen inokule edilmiş pozitif kontrol uygulamasında yer alan bitkilerde simptom oluşmuş ve ortalama hastalık şiddeti Xpp inokulasyonu sonucunda %90, Xcf inokulasyonu sonucunda ise %100 olarak tespit edilmiştir. Sadece su sprey edilen negatif kontrol grubundaki bitkilerde hastalık simptomsu gözlenmemiştir. *Bacillus subtilis* strain IT159, *B. subtilis* IT162 ve *B. mycoides* strain ÖBF71 uygulamaları sonrasında bitkilerde Xpp'ye ait hastalık simptomsu oluşumu tespit edilmemiştir (Şekil 4.4b). Sonuçlar Xcf açısından değerlendirildiğinde sadece *B. subtilis* strain IT159 uygulaması sonucunda hastalık belirtisi görülmemiştir (Çizelge 4.8).

**Çizelge 4.8.** Hastalık şiddetinin belirlenmesi

| Uygulamalar                            | Hastalık Şiddeti         |                          |
|----------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                                        | Xpp                      | Xcf                      |
| <i>Bacillus pumilus</i> strain AA10    | 25,00±1,31 <sup>d*</sup> | 45,00±1,41 <sup>c</sup>  |
| <i>Bacillus atrophaeus</i> strain AA13 | 55,00±1,31 <sup>b</sup>  | 55,00±1,41 <sup>b</sup>  |
| <i>Bacillus subtilis</i> strain IT159  | 0,00±1,31 <sup>e</sup>   | 0,00±1,41 <sup>f</sup>   |
| <i>Bacillus subtilis</i> strain IT162  | 0,00±1,31 <sup>e</sup>   | 30,00±1,41 <sup>e</sup>  |
| <i>Bacillus mycoides</i> strain ÖBF 71 | 0,00±1,31 <sup>e</sup>   | 40,00±1,41 <sup>d</sup>  |
| MIX (AA10+AA13+IT159+IT162+ÖBF71)      | 40,00±1,31 <sup>c</sup>  | 45,00±1,41 <sup>c</sup>  |
| PK                                     | 90,00±1,31 <sup>a</sup>  | 100,00±1,41 <sup>a</sup> |
| NK (NB)                                | 0,00±1,31 <sup>e</sup>   | 0,00±1,41 <sup>f</sup>   |
| F değeri                               | 655,401                  | 517,669**                |

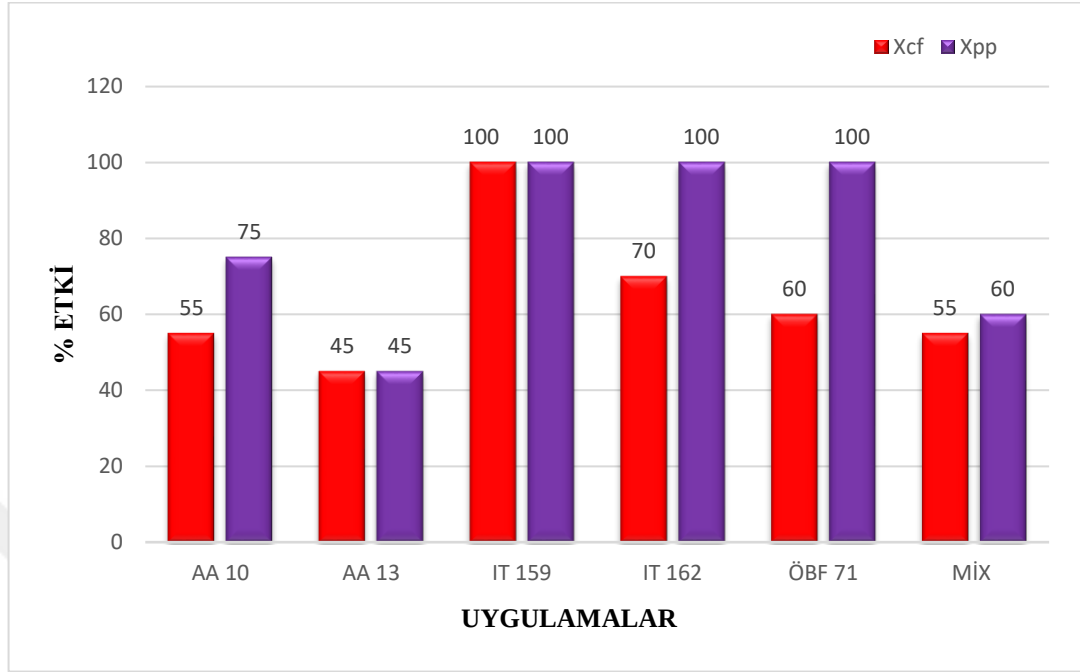
\*Bitkilerde oluşan simptom 0-4 skalası kullanılarak değerlendirilmiş ve buna bağlı olarak hastalık şiddeti Thouwsend Heuberger formülü ile hesaplanmıştır \*\*Veriler 4 tekerrür ortalamasıdır. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak fark vardır ( $p \leq 0,01$ )

**PK;** Pozitif kontrol (Patojen), **NK;** Negatif kontrol (Sıvı besi yeri)



**Şekil.4.4** (a) Xpp'nin neden olduğu hastalık belirtilerinin gelişimi, (b) Xcf'nin neden olduğu hastalık belirtilerinin gelişimi, (c) Negatif kontrol

Bakteri uygulamalarının Xpp'ye karşı etkisi incelendiğinde *Bacillus subtilis* strain IT159, *Bacillus subtilis* strain IT162 ve *Bacillus mycoides* strain ÖBF71'in %100, *Bacillus pumilus* strain AA10'un %75, *Bacillus atrophaeus* strain AA13'ün %45 ve MİX (AA10+AA13+IT159+IT162+ÖBF71) uygulamasının %60 oranında hastalık gelişimini engellediği belirlenmiştir (Şekil 4.5). Xcf için sonuçlar değerlendirildiğinde ise *Bacillus subtilis* strain IT159'un hastalık gelişimini %100 engelleyerek en yüksek etkiyi oluşturduğu saptanmıştır. *Bacillus subtilis* strain IT162'nin %70, *Bacillus mycoides* strain ÖBF71 %60, *Bacillus pumilus* strain AA10'un %55 ve *Bacillus atrophaeus* strain AA13'ün %45 etki ile patojenin gelişimini başarılı bir şekilde baskıladıkları tespit edilmiştir (Şekil 4.5).



**Şekil 4.5.** Bakteri uygulamalarının hastalık gelişimine etkisi (%) (Xpp: *Xanthomonas phaseoli* pv. *phaseoli* Xcf: *Xanthomonas citri* subsp. *fuscans*)

#### 4.13. Uygulamaların Yaprakta Klorofil İçeriğine Etkisi

Patojen enfeksiyonunun fasulye yapraklarının klorofil içeriğine etkisi Çizelge 4.9’da sunulmuştur. Patojen inokülasyonun klorofil içeriğini düşürdüğü belirlenmiştir. Uygulama yapılmayan bitkilerde %41,26 olarak tespit edilen klorofil içeriğinin Xpp inokülasyonu sonrasında %29,33’e Xcf uygulaması sonrasında %17,6’ya düştüğü saptanmıştır. En yüksek klorofil içeriği (%45,35-45,53) *B. subtilis* strain IT159’da tespit edilmiştir. Uygulamalar biyokontrol etmenlerinin patojenlerinin enfeksiyonuna rağmen kontrole kıyasla klorofil içeriklerini artırdığını göstermiştir (Şekil 4.6).

**Çizelge 4.9.** Uygulamaların fasulye yapraklarının klorofil içeriğine etkisi

| Uygulamalar | Patojenler |       |
|-------------|------------|-------|
|             | Xpp        | Xcf   |
| AA 10       | 41,15      | 43,40 |
| AA 13       | 38,95      | 40,80 |
| IT 159      | 45,35      | 45,53 |
| IT 162      | 45,80      | 44,60 |
| ÖBF 71      | 39,30      | 43,28 |
| MİX         | 43,08      | 42,52 |
| NK          | 41,26      | 41,26 |
| PK          | 29,33      | 17,6  |



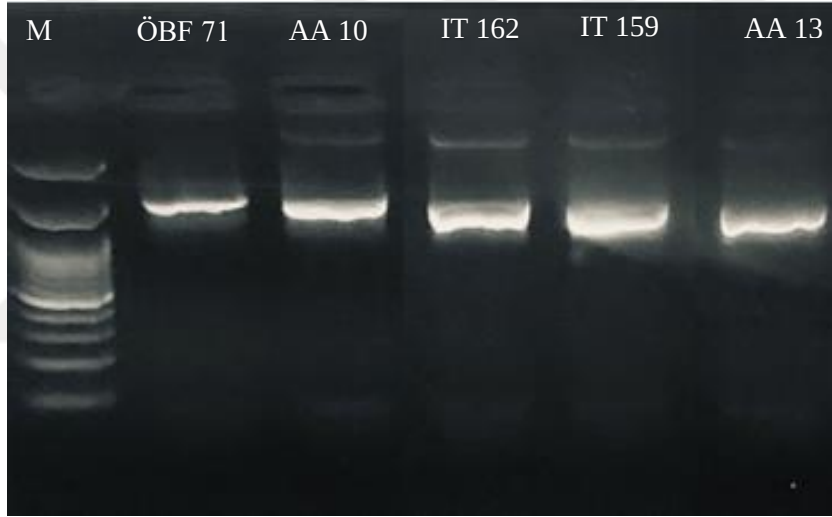
**Şekil 4.6.** Xpp strain+IT162 uygulaması sonrasında klorofil içeriği (a), Xcf+IT162 uygulaması sonrasında klorofil içeriği (b)

#### 4.14. Antagonist Bakterilerin Moleküler Tanısı

Saksı denemesinde patojene karşı antibakteriyel etkinliği test edilen bakteri strainlerinin 16S rRNA dizi analizi ile tanısı yapılmıştır. Strainlerin tanı sonuçlarına ait bazı bilgiler Çizelge 4.10’da verilmiştir. 16S rRNA geninin tür tayini için hedef bölgelerinin amplifikonlarının agaroz jel görüntüsü Şekil 4.7’de sunulmuştur.

**Çizelge 4.10.** Bakteri strainlerinin 16S rRNA dizi analizine ait tanı sonuçları

| Strain No | YAME Analiz Tanı Sonucu    | PCR tanı sonucu            | E Değeri | Tanı yüzdesi | Erişim Numarası |
|-----------|----------------------------|----------------------------|----------|--------------|-----------------|
| AA 10     | <i>Bacillus pumilus</i>    | <i>Bacillus pumilus</i>    | 0.0      | 87,29        | KJ438145.1      |
| AA 13     | <i>Bacillus atrophaeus</i> | <i>Bacillus atrophaeus</i> | 0.0      | 99,67        | KC603567.1      |
| IT 159    | <i>Bacillus subtilis</i>   | <i>Bacillus subtilis</i>   | 0.0      | 100          | KC708563.1      |
| IT 162    | <i>Bacillus subtilis</i>   | <i>Bacillus subtilis</i>   | 0.0      | 100          | HQ234329.1      |
| ÖBF71     | <i>Bacillus mycoides</i>   | <i>Bacillus mycoides</i>   | 0.0      | 98,85        | MT845842.1      |



**Şekil 4.7.** Bakteri strainlerinin 16S rRNA geninin tür tayini için hedef bölgelerinin amplifikonlarının agaroz jel görüntüsü

Bu çalışmada belirlenen 16S rRNA nükleotid dizileri GenBank veri tabanına sunulmuş ve AA10, AA13, IT159, IT162 ve ÖBF71 strainleri sırasıyla KJ438145.1, KC603567.1, KC708563.1, HQ234329.1, MT845842.1 aksesyon numaraları ile eşleşmiştir. Yapılan karşılaştırma sonucunda IT159 ve IT162'nin *B. subtilis* ile %100, AA13'ün *B. atrophaeus* ile %99,67, ÖBF71'in *B. mycoides* ile %98,85 ve AA10'un *B. pumilus* ile %87,29 benzerlik gösterdiği bulunmuştur.

Fasulyede ciddi verim kayıplarına neden olan Xpp ve Xcf'in biyolojik mücadelesinde kullanılabilecek biyokontrol etmenlerinin tespiti amacıyla yürütülen bu tez çalışmasında fasulye, domates, patates, yavşan otu ve sinir otuna ait örneklerden 78 bakteri straini elde edilmiştir. Strainlerin tanısı yağ asit metil ester analizi ile yapılmıştır



ve en çok *Bacillus* cinsine ait olmakla beraber *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Agrobacterium*, *Clabibacter*, *Curtobacterium*, *Chryseobacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Kluyvera*, *Lysinibacillus*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Rhizobium*, *Stenotrophomonas* ve *Virgibacillus* cinlerine ait strainlerin tür bazında tanısı belirlenmiştir. Benzer şekilde bakterilerin tanısında yağ asit metil ester analizinin başarıyla kullanıldığına dair çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Çakmakçı *et al.*, 2008; Yılmaz ve ark., 2020; Sunyar *et al.*, 2021; Kaya *et al.*, 2023).

Mevcut çalışmada *in vitro* ortamda, 93 bakteri straini Xpp ve Xcf strainlerine karşı antagonistik etkilerinin araştırılması amacıyla taranmıştır. Xpp strain MFD 442'ye karşı 9, Xpp strain MFD 270'e karşı 5, Xcf strain MFD 265'e karşı 14 ve Xcf strain MFD 266'ya karşı ise 10 bakteri straininin değişen oranlarda inhibisyon zonu oluşturarak patojen gelişimini engelledikleri belirlenmiştir. Dört strain açısından da sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde etkili bulunan 20 bakterinin %50'sinin *B. pumilus* olduğu tespit edilmiştir. Diğer strainlerden 8 tanesinin de yine *Bacillus* cinsine ait bakteriler (*B. atrophaeus*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis* ve *Bacillus* sp.) olduğu görülmüştür. *P. putida* strain AA86 ve *A. globiformis* strain AA 16 türlerinin de patojen gelişimini engelleyen bakteriler olduğu saptanmıştır. *B. pumilus* strain AA10 ve *B. atrophaeus* strain AA13'ün patojenin 4 strainine karşı, *B. pumilus* strain AA17, *B. subtilis* strain IT 162 ve *A. globiformis* strain AA16'nın iki Xcf ve bir Xpp olmak üzere 3 patojen strainine karşı etkili olduğu bulunmuştur. AA1, AA11, AA20, AA21, AA46, AA67, AA76, AA86 ve AA112 türlerinin ise patojenin sadece bir straininin gelişimini engelledikleri tespit edilmiştir. *B. pumilus* strain AA10 ve *B. subtilis* strain IT159 türlerinin sırasıyla 20,3 ve 28 mm inhibisyon zonu ile Xpp strainlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenirken, *B. subtilis* strain IT159'un aynı zamanda Xcf strainlerinin gelişimini 27,3-37 mm zon değeriyle engelledikleri saptanmıştır. Adi bakteriyel yanıklığı etmenlerinin *in vitro* ortamda kontrolüne yönelik benzer çalışmalarda *P. grimontii* P25 ve *P. cepatia* P7 türlerinin sırasıyla 26.77 mm ve 24 mm inhibisyon zonu oluşturarak antibakteriyel aktivite gösterdiği (Mokrani *et al.*, 2008), *R. aquatilis*'in gelişimini başarıyla engellediği (Sallam, 2011), *P. fluorescens* ve *B. subtilis*'in sırasıyla 32.75 ve 20.75 mm inhibisyon çapı oluşturarak kontrol sağladığı (Drikuand *et al.*, 2017) tespit edilmiştir.



Yapılan bu çalışmada aynı cinse ait türlerin bireysel biyokontrol aktivitesinin, her bir bakteri için farklı sonuçlandığı görülmüştür. Örneğin *B. pumilus* türlerinin oluşturdukları inhibisyon zonunun büyüklüğünün strain farklılığına bakılmaksızın Xpp için 14-22,3 mm, Xcf için 10-31.6 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Patatesten izole edilen *B. pumilus* strainlerinin patojen strainlerine karşı önemli bir büyüme inhibisyonuna sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bakteri türlerinin etkisinin patojenin strainlerine bağlı olarak farklılık sergilediği saptanmıştır. Xpp MFD 142'ye karşı en yüksek inhibisyon zonuna (26.6 mm) sahip olan *B. subtilis* strain IT162'nin Xpp MFD 270 üzerinde etkili olmadığı bulunmuştur. Xcf strain MFD 265 üzerinde biyokontrol etkinliği tespit edilen 8 bakterinin (AA1, AA15, AA16, AA21, AA27, AA67, AA76 ve AA86) patojenin MFD 266 strainine karşı etkisiz olduğu belirlenmiştir. Sadece fenotipik özelliklerine bakıldığında bile birbirlerinden farklı oldukları düşünüldüğünde elde edilen sonuçların değişkenliği normal karşılanmaktadır. Yapılan bu çalışmada elde edilen inhibisyon zonu değerleri ile farklı çalışmalarda tespit edilen inhibisyon değerleri arasında da farklılıklar bulunmaktadır (Giorgio *et al.*, 2016; Drikvand *et al.*, 2017; Sangiogo *et al.*, 2018; Rostami *et al.*, 2021). Bu farklılığın patojen strainlerinin virülensliğine (Van Loon, 2007) ve biyokontrol etmenlerinin kontrol mekanizmalarına (Kumar *et al.*, 2018) bağlı olarak değiştiği ifade edilmektedir.

Bu çalışmada *in vitro* biyokontrol etkinliği belirlenen 5 *Bacillus* straininin ve karışımlarının saksı ortamında patojene karşı etkisi test edilmiştir ve strainlerin adi bakteriyel yanıklığı enfeksiyonunu %45-100 arasında kontrol ettiği saptanmıştır. *B. subtilis* strain IT 159'un uygulandığı bitkilerde hastalık simptomsu oluşmadığı, strainin hem Xpp hem de Xcf gelişimini %100 kontrol ederek en başarılı uygulama olduğu görülmüştür. *B. subtilis* strain IT 162' nin ise sadece Xpp'nin neden olduğu hastalık gelişimini %100 oranında engellediği belirlenmiştir. *Bacillus* türlerinin elverişsiz koşullarda hayatta kalabilen, spor oluşturan bir bakteri olarak bitki hastalıklarının kontrolünde sıklıkla kullanıldıkları rapor edilmiştir (Pérez-García *et al.*, 2011; Krishan *et al.*, 2015; Abbasi and Weselowski, 2015; Han *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2018; Sangiogo *et al.*, 2018). Rostami *et al.* (2021) tarafından sunulan bir çalışmada *B. pumilus* strain Z51 ve *B. simplex* strain Z73 uygulamalarının Xpp'nin neden olduğu hastalığı sırasıyla %78.08 ve %73.66 oranında engellediği bildirilmiştir. *B. subtilis*

strain QST 713 uygulamasının fasulyede enfeksiyon oranını %40,36 oranında düşürdüğü belirlenmiştir (Belete *et al.*, 2021).

Yapılan bu çalışmada biyokontrol strainlerinin tek tek bitkilere spreyl edilmesinin AA13 uygulaması hariç strainlerin karışım şeklinde uygulanmasına kıyasla hastalık şiddetini belirgin bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde strainlerin tekli uygulanmasının patojenlerin gelişimi üzerinde baskılayıcı etkiler sergilediğine dair çeşitli çalışmalar mevcuttur (Fousia *et. al.*, 2016; Anak ve ark., 2021; Kurt, 2023). Bu çalışmanın bulgularından farklı olarak sera ortamında *P. fluorescens* ve *B. subtilis* strainlerinin tekli uygulamalarının hastalık simptomlarını sırasıyla %21,74 ve %15,22 oranında azalttığı, birlikte uygulanmalarının (*P. fluorescens* + *B. subtilis*) ise hastalık gelişimini %51 oranında düşürdüğü kaydedilmiştir (Drikvand *et al.*, 2017). Bununla birlikte farklı araştırmalarda hastalık inhibisyonunun stabilitesini ve etkinliğini artırmak için iki veya daha fazla strainin kullanılabileceği ve böylece her bir strain tarafından sunulan biyokontrol mekanizmalarındaki çeşitlilik ile daha geniş spektrumda yer alan patojenlerin kontrol seviyesinin artacağı vurgulanmaktadır (Thomloundi *et al.*, 2019). Ancak çoklu strain uygulamalarında strainler arasındaki uyumun, dolayısıyla uygun strainlerin seçiminin biyokontrolün başarısını belirleyecek bir faktör olduğunun altı çizilmektedir (Hu *et al.*, 2016). Haas and Defago (2005) tarafından yapılan çalışmada uyumsuz strainlerin inokulasyonunun, strainlerin hastalık kontrolü için uygun popülasyon eşiğine ulaşmasını engellediği bildirilmektedir.

Bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin etki mekanizmaları değerlendirildiğinde azot fikse etmeleri, fosfat ve potasyum çözünürlüğünü sağlamaları önem taşımaktadır (Khan *et. al.*, 2010; Wang *et. al.*, 2019). Çünkü bitki için mevcut besin maddelerinin miktarının artırılması ve bitki kullanımına sunulması hastalıklara karşı bitki dayanıklılığını etkileyen unsurlardandır (Watanabe *et al.*, 2004). Bu tez çalışmasında *in vivo* deneme için seçilen 5 bakteri straini (AA10, AA13, IT159, IT162 ve ÖBF71) incelendiğinde hepsinin azot fikse etme ve fosfor çözme test sonuçlarının sırasıyla +/-, K+/, +/, K+/K+, +/K+ şeklinde olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde Çakmakçı ve ark. (2008) tarafından 34 *Bacillus*, strainin azot bağlama özelliğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Han and Lee (2005) tarafından besin elementlerinin sınırlı olduğu toprakta *Bacillus* cinsine ait bakterilerin bitkilerin azot, fosfor ve potasyum alımını artırarak bitki

gelişimini teşvik ettiği saptanmıştır. Banerjee *et al.* (2010) tarafından en güçlü fosfat çözücülerin *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* ve *Azospirillum* cinslerinde yer aldığı belirlenmiştir.

Çalışmada *Bacillus* türlerinin özellikle de *B. subtilis* strain IT 159' un adi bakteriyel yanıklığı hastalığının biyolojik kontrolünde dikkate değer bir başarı gösterdiği görülmektedir. *Bacillus* türlerinin patojenleri inhibe edici aktivite gösterdikleri ve hastalık zararını etkileyebilecek biyolojik maddeler ürettikleri çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu maddelerin patojenleri baskılamada antagonistik mekanizmada etkili olabileceği gibi mikroorganizmaların çevreye uyumu için de gerekli olduğu belirtilmiştir (Vallet *et al.*, 2010). *Bacillus* türlerinin bitki patojenlerini bir dizi enzim, antibiyotik ve toksin üreterek (Lisboa *et al.*, 2006; Tariq *et al.*, 2017), fosfatı çözerek (Singh and Satyanarayana, 2011; Kammoun *et al.*, 2012), IAA salgılayarak (Vacheron *et al.*, 2013) ve mikroorganizmaların demirden yoksun bırakılması ve bitkiler tarafından demir alımının desteklenmesini sağlayan siderofor üreterek (Haas and Défago 2005; Radzki *et al.*, 2013) engellediği belirlenmiştir. Absorbe edilen demirin, bitki patojenlerinin kontrolünden sorumlu enzimleri aktive edebileceği gibi (Dordas, 2008) bitki patojenlerini kontrol eden strainler tarafından antibiyotik salınımını da uyardığı (Parewa *et al.*, 2018) bildirilmiştir. Ayrıca sitokrom c oksidazın yanı sıra diğer önemli mikrobiyal metallo-enzimlerin inhibitörü olarak bilinen HCN üretimine sahip oldukları tespit edilmiştir (Nandi *et al.*, 2017). *Bacillus* türlerinin farklı polyketide bileşikleri ürettiği ve protein sentezini inhibe ederek hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler için bir antagonistik etki gösterdiği saptanmıştır (Chen *et al.*, 2006; Kinsella *et al.*, 2009). Bakteri strainlerinin, antifungal ve antibakteriyel özellikleri kabul edilmiş bir fitoaleksinin olan faseolin üretimini artırarak (Bozkurt and Soylu, 2011), fasulyede dayanıklılığı uyardıkları ve daha düşük hastalık şiddetine neden oldukları bildirilmiştir (Beneduzi *et al.*, 2012; Spago *et al.*, 2014). Bu çalışmada adi bakteriyel yanıklığı hastalığının biyokontrolünde elde edilen başarının strainlerin yukarıda belirtilen mekanizmalardan birkaçına sahip olma kapasitelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Adi bakteriyel yanıklığı dünya genelinde fasulyenin başlıca hastalıklarından birisidir ve önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. Yetiştiriciler adi bakteriyel yanıklığı hastalığının fasulye üzerindeki etkisini en aza indirmek için, sanitasyon, ürün rotasyonu, sağlıklı tohumların kullanımı, uygun biyolojik mücadele ajanlarının kullanımı ve bakırlı bileşik uygulamalarını dikkatli bir şekilde entegre etmelidir. Ancak bakıra dayanıklılık gelişimi, özellikle *Xanthomonas*'ın neden olduğu bitki hastalıklarında maalesef ciddi bir sorundur. Bu nedenle, biyolojik kontrol ajanları olarak etkili bakteri strainlerinin kullanımı bakırlı bileşiklerin kullanımının en az seviyede tutulması, kimyasalların çevre ve canlılar üzerindeki etkisinin azaltılması ve toprakta bakır birikiminin çözümünde faydalı olacaktır. Bu çalışmada 5 *Bacillus* türünün fasulye adi bakteriyel yanıklığı hastalığı gelişimini %45-100 oranında engellediği tespit edilmiştir. Strainler arasında *B. subtilis* strain IT 159' un saksı denemesinde hem Xpp hem Xcp gelişimini tamamen engelleyerek en başarılı bakteri straini olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle *B. subtilis* strain IT 159' un fasulye adi bakteriyel yanıklığının biyokontrolünde çok önemli bir rol oynayabileceği ve fasulye üretim sistemlerinde biyopestisit olarak umut verici tarımsal uygulamalar sunabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte başarılı bulunan strainlerin farklı fasulye çeşitlerinde veya bitki türlerinde, farklı özelliklere sahip topraklarda, farklı iklim koşullarında etkilerinin belirlenmesi ve inokule edilen ortamın mikrobiyal topluluğu üzerindeki uzun vadeli etkilerinin araştırılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Abbasi, P.A. and Weselowski, B., (2015). *Efficacy of Bacillus subtilis QST 713 Formulations, Copper Hydroxide, and Their Tank Mixes on Bacterial Spot of Tomato*. Crop Protection, 74, 70-76.
- Abbott, W.S., (1925). *A method of Computing the Effectiveness of an Insecticide*. Journal of Economic Entomology, 18, 265-267.
- Agrios, G.N., (2005). *Plant pathology (5th edn)*. Academic Press, San Diego, USA.
- Aguilar Ramírez, J.O., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F.D., Cepeda Siller, M. and Sánchez-Aspeytia, D., (2019). *Incidence and Severity of the Common Blight in Bean Plants Inoculated with Rhizobium phaseoli*. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 10(2), 325-336. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.1594>
- Akhavan, A., Bahar, M., Saeidi, G. and Lak, M.R., (2009). *Factors Affecting Epiphytic Population of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli in Epidemiology Of Bean Common Blight*. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resource, 13, 265–277.
- Akhavan, A., Bahar, M., Askarian, H., Lak, M.R., Nazemi, A. and Zamani, Z., (2013). *Bean Common Bacterial Blight: Pathogen Epiphytic Life and Effect of irrigation practices*. SpringerPlus, 2(1), 1-9.
- Akram, W., Anjum, T. and Ali, B., (2015). *Searching Isr Determinant/S From Bacillus subtilis IAGS174 against Fusarium wilt of Tomato*. Biocontrol, 60, 271-280. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9636-1>.
- Anak, H., Dönmez, M.F. ve Çoruh, İ., (2021). *Biological Control of Rhizoctonia solani Kühn. with Rhizobacteria Isolated from Different Soil and Calligonum Polygonoides L. Subsp. Comosum (L'hér.)*. Journal of Agriculture, 4(2), 92-107.
- Andrews, J.H. and Harris, R.F., (2000). *The Ecology and Biogeography of Microorganisms on Plant Surfaces*. Annual Review of Phytopathology, 38(1), 145-180.

- Angeles-Ramos, R., Vidaver, A.K. and Flynn, P., (1991). ***Characterization of Epiphytic Xanthomonas campestris pv. phaseoli and Pectolytic Xanthomonads Recovered from Symptomless weeds in the Dominican Republic.*** Phytopathology, 81(6), 677-681.
- Arsenijevic, M., Obradovic, A., Stevanovic, D. and Ivanovic, M., (1998). ***Antagonistic effect of some saprophytic bacteria to Pseudomonas syringae pv. phaseolicola and Xanthomonas campestris pv. phaseoli.*** Bulletin OILB/SROP, 21(9), 297-300.
- Banerjee S., Palit, R., Sengupta, C. and Standing, D., (2010). ***Stress Induced Phosphate Solubilization by Arthrobacter sp. and Bacillus sp. Isolated From Tomato Rhizosphere.*** Australian Journal of Crop Science, 4(6), 378-383.
- Beattie, G.A. and Lindow, S.E., (1995). ***The Secret Life of Foliar Bacterial Pathogens on Leaves.*** Annual Review of Phytopathology, 33(1), 145-172.
- Belachew, K., Gebremariam, M. and Alemu, K., (2015). ***Integrated Management of Common Bacterial Blight (Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli) of Common Bean (Phaseolus vulgaris) in Kaffa, Southwest Ethiopia.*** Malaysian Journal of Medical and Biological Research, 2, 147–152.
- Belete, T. and Bastas, K.K., (2017). ***Common Bacterial Blight (Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli) of Beans with Special Focus on Ethiopian Condition.*** Journal Plant Pathol Microbiology, 8(3), 1-10.  
<https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000403>
- Belete, T., Bastas, K.K., Francesconi, S. and Balestra, G.M., (2021). ***Biological Effectiveness of Bacillus subtilis on Common Bean Bacterial Blight.*** Journal of Plant Pathology, 103, 249-258.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A. and Passaglia, L.M., (2012). ***Plant Growth-promoting Rhizobacteria (PGPR): Their Potential as Antagonists and Biocontrol Agents.*** Genetics and Molecular Biology, 35, 1044–1051.  
<https://doi.org/10.1590/s1415-47572012000600020>.

- Benson, D.A., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D.J., Ostell, J., and Sayers, E.W., (2009). ***GenBank. Nucleic Acids Research, 37(suppl\_1), D26-D31.***
- Bianchini, M., Gori, M. and Scarselli, F., (2005). ***Inside Pagerank.*** ACM Transactions on Internet Technology (TOIT), 5(1), 92-128.
- Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P.S. and Papa, R. (2012). ***Mesoamerican Origin of the Common Bean (Phaseolus vulgaris L.) is Revealed by Sequence Data.*** Proceedings of the National Academy of Sciences, 109(14), E788-E796.
- Borriss, R., (2011). ***Use of Plant-associated Bacillus Strains as Biofertilizers and Biocontrol Agents in Agriculture.*** In Bacteria in agrobiolgy: Plant growth responses (pp. 41-76). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Bozkurt, I. A., ve Soylu, S. (2011). ***Determination of Responses of Different Bean Cultivars Against Races of Pseudomonas syringae pv. phaseolicola, Causal Agent of Halo Blight of Bean.*** Euphytica, 179, 417-425.
- Bultreys, A. and Gheysen, I., (2020). ***First Report of Xanthomonas phaseoli pv. phaseoli and Xanthomonas citri subsp. fuscans Causing Common Bacterial Blight of Bean in Belgium.*** New Disease Reports 41, 6. <http://dx.doi.org/10.5197/j.2044-0588.2020.041.006>.
- Buruchara, R., Mukankusi C. and Ampofo, K., (2010) ***Bean Disease and Pest Identification and Management, Handbooks for Small-Scale Seed Producers International Center for Tropical Agriculture.*** (CIAT), The International Center for Tropical Agriculture 79.
- Carvalho, A.D.O., Da Cunha, M., Rodrigues, R., Sudré, C.P., Santos, I.S., Fernandes, K.V. and Gomes, V.M., (2011). ***Ultrastructural Changes during Early Infection of Vigna Unguiculata and Phaseolus vulgaris Leaves by Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli and an Unexpected Association between Chloroplast and Mitochondrion.*** Acta Physiologiae Plantarum, 33(5), 2025-2033.

- Cattelan, A.J., Hartel, P.G. and Fuhrmann, J.J., (1999). ***Screening for Plant Growth–Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth.*** Soil Science Society of America Journal, 63(6), 1670-1680.
- Chavez, C.L. and Granada, G.A., (1988). ***Supervivencia de Xanthomonas campestris pv. phaseoli agente Causal de la Bacteriosis del Frijol, Bajo Condiciones del Valle del Cauca, Colombia.*** Fitopatologia Colombiana 12, 9-14.
- Chen, X.H., Vater, J., Piel, J., Franke, P., Scholz, R., Schneider, K. and Borriss, R., (2006). ***Structural and Functional Characterization of Three Polyketide Synthase Gene Clusters in Bacillus Amylolyquefaciens FZB 42.*** Journal of Bacteriology, 188(11), 4024-4036.
- Chen, N., W., Serres-Giardi, L., Ruh, M., Briand, M., Bonneau, S., Darrasse, A. and Jacques, M.A. (2018). ***Horizontal gene Transfer Plays a Major Role in the Pathological Convergence of Xanthomonas lineages on Common Bean.*** BMC Genomics, 19(1), 1-20.
- Constantin, E.C., Cleenwerck, I., Maes, M., Baeyen, S., Van Malderghem, C., De Vos, P., and Cottyn, B., (2016). ***Genetic Characterization of Strains Named as Xanthomonas axonopodis pv. Dieffenbachiae Leads to a Taxonomic Revision of the X. axonopodis Species Complex.*** Plant Pathology, 65(5), 792-806.
- Corrêa, B.O., Schafer, J.T. and Moura, A.B., (2014). ***Spectrum of Biocontrol Bacteria to Control Leaf, Root and Vascular Diseases of dry Bean.*** Biological Control, 72, 71-75.
- Corrêa, B.O., Soares, V. N., Sangiogo, M., de Oliveira, J. E. R. E. and Moura, A. E. B., (2017). ***Interaction Between Bacterial Biocontrol-agents and Strains of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli effects on Biocontrol Efficacy of Common Blight in Beans.*** African Journal of Microbiology Research, 11(32), 1294-1302.



- Çakmakçı, R., Erdoğan, Ü., Kotan, R., Oral, B. and Dönmez, F. (2008). **Çoruh Vadisinde Yabani Ahududu Rizosfer Topraklarında Heterotrof Azot Fikseri Bakteri Çeşitliliği**. 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi, 8-10.
- Çelik Ertekin, D., (2016). **Orta Karadeniz Bölgesinde Hale Yanıklığı (*Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*) ile Adi Yaprak Yanıklığı (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) Etmenlerinin Belirlenmesi ve Fasulye Hatlarının Bu Hastalıklara Karşı Reaksiyonları**. Gazi Osman Paşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 142.
- Çelik, R., (2021). **Silisyum Dioksit ve Bazı Endofit Bakterilerin Fasulyede Adi Yaprak Yanıklığı Hastalığına (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) ve Bitki Gelişimi Üzerine Etkileri**. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 47.
- Da Silva, E.G., Moura, A.B., Deuner, C.C. and Farias, D.R., (2008). **Study of Biocontrol Mechanisms of Bacterial Bean Blight by Bacteria**. Revista Ceres, 55, 377-383.
- Darrasse, A., Bureau, C., Samson, R., Morris, C.E. and Jacques, M.A. (2007). **Contamination of Bean Seeds by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* Associated With low Bacterial Densities in the Phyllosphere under Field and Greenhouse Conditions**. European Journal of Plant Pathology, 119(2), 203-215.
- De Almeida, H.V.B., da Silva, W.L.M., Schurt, D.A., Ishida, A.K.N., de Souza, G.R. and de Lima Nechet, K., (2015). **Understanding the Mechanism of Biological Control of Passionfruit Bacterial Blight Promoted by Autochthonous Phylloplane Bacteria**. Biological Control, 80, 40-49. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.09.011>.
- Dillard, H.R. and Legard, D.E., (1991). **Bacterial Disease of Beans: Fact sheet**. Cornell University.

- Dordas, C., (2008). ***Role of Nutrients in Controlling Plant Diseases in Sustainable Agriculture. A Review.*** Agronomy for Sustainable Development, 28, 33-46.  
<https://doi.org/10.1051/agro:2007051>
- Drikvand F., Bazgir E. and Darvishnia M., (2017). ***Effect Of Bacterial Biocontrol Agents on Common Bean Blight Caused By Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli.*** Journal of Agroecology, 7, 124-138.
- Dwivedi, D. and Johri, B. N., (2003). ***Antifungals From Fluorescent pseudomonads: Biosynthesis and Regulation.*** Current Science, 1693-1703.
- Essalmani, H., Lahlou, H., (2003). ***Mécanismes de Bioprotection des Plantes de Lentille par Rhizobium leguminosarum Contre Fusarium oxysporum sp. Lentis.*** Comptes Rendus Biologies. 326, 1163-1173.  
<https://doi.org/10.1016/j.crv.2003.10.003>.
- FAO, (2021). ***Statistic Database.*** <http://faostat.fao.org/>. Erişim Tarihi (04.06.2023)
- Ferreira, E.M. and Stoltz, B.M., (2003). ***Catalytic C–H bond Functionalization With Palladium (II): Aerobic Oxidative Annulations of Indoles.*** Journal of the American Chemical Society, 125(32), 9578-9579.
- Figueredo, M.S., Tonelli, M.L., Taurian, T., Angelini, J., Ibañez. F., Valetti, L., Muñoz. V., Anzuay, M.S., Ludueña, L. and Fabra, A. (2014). ***Interrelationships between Bacillus sp. CHEP5 and Bradyrhizobium sp. SEMIA6144 in the Induced Systemic Resistance Against Sclerotium rolfsii and Symbiosis on Peanut Plants.*** Journal of Biosciences, 39, 877-885,  
<https://doi.org/10.1007/s12038-014-9470-8>.
- Fininsa, C. and Tefera, T., (2001). ***Effect of Primary Inoculum Sources of bean Common Bacterial Blight on Early Epidemics, Seed Yield and Quality Aspects.*** International Journal of Pest Management, 47(3), 221-225.
- Fininsa, C., (2001). ***Epidemiology of Bean Common Bacterial Blight and Maize Rust in Intercropping*** (Doctoral dissertation, Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Science, Uppsala).

- Fourie, D., (2002). ***Distribution and Severity of Bacterial Diseases on dry Beans (Phaseolus vulgaris L.) in South Africa.*** Journal Phytopathol. 150, 220-226.
- Fousia, S., Paplomatas E. J. and Tjamos, S.E., (2016). ***Bacillus subtilis QST 713 Confers Protection to Tomato Plants Against Pseudomonas syringae pv. tomato and Induces Plant Defence-Related Genes.*** Journal Phytopathol 164, 264–270.
- Francisco, N., Gallegos Morales, G., Ochoa Fuentes, Y.M., Hernández Castillo, F. D., Benavides Mendoza, A. and Castillo Reyes, F., (2013). ***Fundamental Aspects of Common Bacterial Blight (Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli Smith): Characteristic, Pathogenicity and Control.*** Revista Mexicana de Fitopatología, 31(2), 147-160.
- Gent, D.H., Lang, J.M. and Schwartz, H.F., (2005). ***Epiphytic Survival of Xanthomonas axonopodis pv. allii and X. axonopodis pv. phaseoli on Leguminous Hosts and Onion.*** Plant Disease, 89(6), 558-564.
- Gichangi, A., Maobe, S.N., Karanja, D., Getabu A., Macharia, C.N., Ogecha, J.O. and Nyang'au M.K., (2012). ***Assessment of Production and Marketing of Climbing Beans by Smallholders Farmers in Nyanza Region, Kenya.*** World Journal of Agricultural Science 8(3), 293-302.
- Gilbertson, R.L., Rand, R.E., Carlson, E. and Hagerdorn, D.J. (1988). ***The use of Dry-Leaf Inoculum for the Establishment of Common Bacteria Blight of Beans.*** Plant Disease 77, 385-389.
- Gilbertson, R.L., Rand, R.E. and Hagedorn, D.J., (1990). ***Survival of Xanthomonas campestris pv. phaseoli and Pectolytic Strains of X. campestris in Bean Debris.*** Plant Disease, 74(4), 322-327.
- Gilbertson, R.L. and Maxwell, D.P., (1992). ***Common Bacterial Blight of Bean.*** *Common Bacterial Blight of Bean.*, 18-39.
- Gillard, C.L., Conner, R.L., Howard, R. J., Pauls, K.P., Shaw, L. and Taran, B., (2009). ***The Performance of dry Bean Cultivars With and Without Common***

- Bacterial Blight Resistance in Field Studies Across Canada.*** Canadian Journal of Plant Science, 89(2), 405-410.
- Giorgio, A., Cantore, P.L., Shanmugaiah, V., Lamorte, D. and Iacobellis, N.S., (2016). ***Rhizobacteria Isolated From Common Bean in Southern Italy as Potential Biocontrol Agents Against Common Bacterial Blight.*** European Journal of Plant Pathology, 144(2), 297-309.
- Graham, J., Gottwald, T.R., Civerolo, E.L. and McGuire, R.G., (1989). ***Population Dynamics and Survival of Xanthomonas campestris in Soil in Citrus Nurseries in Maryland and Argentina.*** Plant Disease, 43(5), 423-427.
- Haas, D. and Keel, C., (2003). ***Regulation of Antibiotic Production in Root-Colonizing Pseudomonas spp. and Relevance for Biological Control of Plant Disease.*** Annual Review of Phytopathology. 41, 117–153.
- Haas, D. and Défago, G. (2005). ***Biological Control of Soil-Borne Pathogens by Fluorescent Pseudomonads.*** Nature Reviews Microbiology, 3(4), 307-319.
- Hall, R., (1994). ***Compendium of Bean Diseases.*** The American Phytopathological Society.
- Han, H. S. and Lee, K.D. (2005). ***Phosphate and Potassium Solubilizing Bacteria Effect on Mineral Uptake, Soil Availability and Growth of Eggplant.*** Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 1(2), 176-180.
- Han, T., You, C., Zhang, L., and Feng, C., (2016). ***Biocontrol Potential of Antagonist Bacillus subtilis Tpb55 Against Tobacco Black Shank.*** BioControl 61, 195–205.
- Harveson, R.M. (2009). ***Common Bacterial Blight of Dry Beans in Nebraska.*** University of Nebraska-Lincoln Extension. Institute of Agriculture and Natural Resources Extension Publication G, 1956-1959
- He, Y., (2010). ***Improved seed Health Tests for Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli in Common Bean.*** Master Thesis, Iowa State University, 114.

- Heitz, T., Segond, S., Kauffmann, S., Geoffroy, P., Prasad, V., Brunner, F. and Legrand, M., (1994). ***Molecular Characterization of a Novel Tobacco Pathogenesis-Related (PR) Protein: a New Plant Chitinase/lysozyme.*** Molecular and General Genetics MGG, 245(2), 246-254.
- Hirano, S.S. and Upper, C.D., (1983). ***Ecology and Epidemiology of Bacterial Pathogens.*** Annual Reviews of Phytopathology 21, 243-269.
- Hu, J., Wei, Z., Friman, V.P., Gu, S.H., Wang, X.F., Eisenhauer, N. and Jousset, A., (2016). ***Probiotic Diversity Enhances Rhizosphere Microbiome Function and Plant Disease Suppression.*** MBio, 7(6), 01, 790-16.
- Jamalizadeh, M., Etebarian, H.R., Aminian, H. And Alizadeh, A.A., (2011). ***Review of Mechanisms of Action Of Biological Control Organisms Against Post-Harvest Fruit Spoilage.*** EPPO Bulletin. 41, 65-71.  
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2011.02438.x>.
- Kammoun, R., Farhat, A., Chouayekh, H., Bouchaala. And K., Bejar, S., (2012). ***Phytase Production by Bacillus subtilis US417 in Submerged and Solid State Fermentations.*** Annals of Microbiology. 62, 155–164.  
<https://doi.org/10.1007/s13213-011-0240-7>.
- Kara, R., Dalton T. J. and Featherstone A. M., (2009). ***A non-parametric Efficiency Analysis of Bean Producers From North and South Kivu.*** Prepared for the Southern agricultural economics association's Annual meeting held on 17th - 22nd Sep, Atlanta, Georgia.
- Karavina, C., Tigere, T.A. and Chihya, J., (2008). ***The Contribution of Soil and Crop Debris Inocula to The Outbreak of Bacterial Common Blight in Field Beans (Phaseolus vulgaris L.) under Zimbabwean Conditions.*** Journal of Sustainable Development in Africa 10 (3), 221-233.
- Karavina, C., Mandumbu, R., Parwada, C. and Zivenge, E., (2011). ***Epiphytic Survival of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli (E.F.Sm).*** Journal of Animal and Plant Sciences 9(2), 1161-1168.

- Katungi E., Farrow A., Chianu J., Sperling L. and Beebe S., (2009). ***Common Bean in Eastern and Southern Africa. A situation and Outlook Analysis***. ICRISAT, Nairobi, Kenya. International Centre for Tropical Agriculture, 61.
- Kaya, A., Dönmez, M. F., ve Çoruh, İ., (2023). ***Elma (Malus domestica L.) Çeşitlerinin Ateş Yanıklığı Hastalığına Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Araştırılması***. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 10(1), 91-100.
- Khabbaz, S.E. Zhang, L., Cáceres, L.A., Sumarah, M., Wang, A. and Abbasi, P.A., (2015). ***Characterisation of Antagonistic Bacillus and Pseudomonas Strains for Biocontrol Potential and Suppression of Damping-off and Root Rot Diseases***. Annals of Applied Biology, 166(3), 456-471, <https://doi.org/10.1111/aab.12196>.
- Khan, M.S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M. and Wani, P.A., (2010). ***Plant Growth Promotion by Phosphate Solubilizing Fungi–Current Perspective***. Archives of Agronomy and Soil Science, 56(1), 73-98.
- Kinsella, K., Schulthess, C.P., Morris, T.F. and Stuart, J.D., (2009). ***Rapid Quantification of Bacillus subtilis Antibiotics in The Rhizosphere***. Soil Biology and Biochemistry, 41(2), 374-379.
- Klement, Z., Mavridis, A., Rudolph, K., Vidaver, A., Perombelon, M.C. and Moore, L.W., (1990). ***Inoculation of Plant Tissues. Methods in Phyto bacteriology***. Eds: Z. Klement, K. Rudolph and D.C. Sands, Akademiai Kiado, Budapest, Hungary.
- Kumar, S., G., Stecher, M.L., Knyaz C.H. and Tamura, K., (2018). ***Mega X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms***. Molecular Biology and Evolution 35,1547–1549.
- Kurt, Ö., (2023). ***Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığı (Clavibacter Michiganensis subsp. michiganensis)’nın Biyolojik Kontrolünde Farklı Bakteri Strainlerinin Kullanımı***. Iğdır Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 68.

- Leben, C., (1981). ***Bacterial pathogens: Reducing Seed and In Vitro Survival by Physical Treatments.*** Plant Disease 65, 876-878.
- Lelliot, R.A. and Stead, D.E., (1987). ***Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants.*** Blacwell Scienfic Publicadians, 216.
- Lemessa, F., (2004). ***Effects of intercropping and Cultivar Mixtures on Bean Diseases and Yield.*** Pest Management Journal of Ethiopia Ethiopia 8, 71-81.
- Lisboa, M.P., Bonatto, D., Bizani, D., Henriques, J. A. and Brandelli, A., (2006). ***Characterization of a Bacteriocin-Like Substance Produced by Bacillus Amyloliquefaciens Isolated from the Brazilian Atlantic Forest.*** International Microbiology, 9(2), 111-118.
- Liu, K., McInroy, J.A., Hu, C.H. and Kloepper, J. W. (2018). ***Mixtures of Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria Enhance Biological Control of Multiple Plant Diseases and Plant-Growth Promotion in the Presence of Pathogens.*** Plant Disease, 102(1), 67-72.
- Mariano, R.L.R., (1993). ***Métodos de Seleção In Vitro Para Controle Microbiológico.*** Revisão Anual de Patologia de Plantas, 1, 369-409.
- Mayak, S., Tirosh, T. and Glick, B., (2004). ***Plant Growth Promoting Bacteria Confer Resistance in Tomato Plants to Salt Stress.*** Plant Physiology and Biochemistry. 42, 565-572. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.05.009>.
- Meena, V.S., Maurya, B. R., Verma, J.P., Aeron, A., Kumar, A., Kim, K. and Bajpai, V. K., (2015). ***Potassium Solubilizing Rhizobacteria (KSR): Isolation, Identification, and K-release Dynamics From Waste Mica.*** Ecological Engineering, 81, 340-347.
- Melis, R.J.M., (1987). ***Diseases and PestProblems of Beans (Phaseolus vulgaris) in South Africa.*** University of Natal, Crop Science Department, Pietermaritzburg. Occassional Publication. 7, 23-29.
- Mhedbi, Hajr, N., Hajri, A., Boureau, T., Darrasse, A., Durand, K., Brin, C., Fischer, Le Saux, M., Manceau, C., Poussier, S., Pruvost, O., Lemaire, C. and Jacques, M-

- A., (2013). *Evolutionary History of the Plant Pathogenic Bacterium Xanthomonas axonopodis*. PLoS ONE 8, 58-474.
- Mokrani, S., Rai, A., Belabid, L., Cherif, A., Cherif, H., Mahjoubi, M. and Nabti, E. (2019). *Pseudomonas Diversity'in Western Algeria: Role in the Stimulation of Bean Germination and Common Bean Blight Biocontrol*. European Journal of Plant Pathology, 153, 397-415.
- Mwaniki, A.W., (2002). *Assessment of Bean Production Constraints and Seed Quality and Health of Improved Common Beans*. Doctoral dissertation, University of Nairobi, Kenya.
- Nandi, M., Selin, C., Brawerman, G., Fernando, W. D. and Kievit, T., (2017). *Hydrogen Cyanide, Which Contributes to Pseudomonas chlororaphis Strain PA23 Biocontrol, is Upregulated in the Presence of Glycine*. Biological Control, 108, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.02.008>.
- Naue, C.R., Rocha, D.J.A. and Moura, A.B., (2014). *Biological Control of Tomato Bacterial Spot by Seed Microbiolization*. Tropical Plant Pathology, 39, 413-416. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762014000500009>.
- Nautiyal, C.S., (1999). *An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms*. FEMS Microbiology Letters, 170(1), 265-270.
- Opio, A.F., Teri, J.M. and Allen, D.J., (1994). *Survival of Xanthomonas campestris pv. phaseoli in Uganda*. African Crop Science Conference Proceedings 1, 225-259.
- Osdaghi, E., Shams-Bakhsh, M., Alizadeh, A., Lak, M.R. and Maleki, H.H., (2011). *Induction of Resistance in Common Bean by Rhizobium leguminosarum bv. phaseoli and Decrease of Common Bacterial Blight*. Phytopathologia Mediterranea, 50(1), 45-54.
- Özdemir, S., (2002). *Yemeklik Baklagiller*. Hasad yayıncılık, 11-30.
- Paiva, B., Wendland, A., Borba, T.C. and Araújo, L.G. (2018). *Molecular Characterization and Differential Interaction of Xanthomonas axonopodis*



- pv. phaseoli* and *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans* with Common Beans (*Phaseolus vulgaris*)**. Genetics and Molecular Research, 17(1), 1603-9871.
- Parewa, H.P., Meena, V.S., Jain, L.K. and Choudhary, A., (2018). ***Sustainable Crop Production and Soil Health Management Through Plant Growth-Promoting Rhizobacteria***. In: Meena, V. (Ed.). Role of Rhizospheric Microbes in Soil. Springer, Singapore, 299–329. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-8402-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-10-8402-7_12).
- Pérez-García, A., Romero, D. and De Vicente, A., (2011). ***Plant Protection and Growth Stimulation by Microorganisms: Biotechnological Applications of Bacilli in Agriculture***. Current Opinion in Biotechnology, 22, 187–193.
- Perrine, F., Rolfe, B., Hynes, M. and Hocart, C., (2004). ***Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Indolacetic Acid and Tryptophan Following Aqueous Chloroformate Derivatisation of Rhizobium exudates***. Plant Physiology and Biochemistry, 42, 723-729. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2004.07.008>.
- Planchamp, C., Glauser, G., Mauch, and Mani, B., (2015). ***Root Inoculation with Pseudomonas putida KT2440 Induces Transcriptional and Metabolic Changes and Systemic Resistance in Maize Plants***. Frontiers in Plant Science, 5, 1-10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00719>.
- Radzki, W., Gutierrez Mañero, F. J., Algar, E., Lucas García, J. A., García, Villaraco, A. and Ramos Solano, B., (2013). ***Bacterial Siderophores Efficiently Provide Iron to Iron-Starved Tomato Plants in Hydroponics Culture***. Antonie Van Leeuwenhoek, 104, 321-330. <https://doi.org/10.1007/s10482-013-9954-9>
- Rahman, M.M., Ali, M.E., Ali M.S. and Islam, M.N., (2008). ***Hot Water Thermal Treatment for Controlling Seed-Borne Mycoflora of Maize***. International Journal of Sustainable Crop Production, 3, 5–9.
- Ran, L. X., Liu, C.Y., Wu, G.J., van Loon, L.C. and Bakker, H. M., (2005). ***Suppression of Bacterial Wilt in Eucalyptus Urophylla by Fluorescent Pseudomonas spp. in China***. Biological Control, 32, 111–120.

- Rodríguez, H. and Fraga, R., (1999). ***Phosphate Solubilizing Bacteria and their Role in Plant Growth Promotion***. Biotechnology Advances, 17, 319-339.  
[https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(99\)00014-2](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(99)00014-2).
- Rostami, M., Koocheki, A.R., Mahallati, M.N. and Kafi, M., (2008). ***Evaluation of Chlorophyll Meter (SPAD) Data for Prediction of Nitrogen Status in Corn (Zea mays L.)***. American-eurasian Journal of Agricultural and Environmental science, 3 (1), 79-85.
- Rostami, S., Hasanzadeh, N., Rajaei, S., Golnaraghi, A. and Azizinezhad, R., (2021). ***A Study on Endophytic Bacteria Isolated from Wild Legumes Against Xanthomonas phaseoli***. Applied Entomology and Phytopathology, 89(1), 1-16.
- Rudolph, K., (1993). ***Infection of the Plant by Xanthomonas***. In: Swings JG, Civerolo EL (eds) *Xanthomonas*. Chapman & Hall, London, 193–264.
- Saettler, A.W., (1989). ***Assessment of Yield Loss Caused by Common Blight of Beans in Uganda***. Annual Report of the Bean Improvement Cooperative 35, 113-114.
- Saettler, A. W., (1991) ***Common Bacterial Blight***. In: *Compendium of Bean Diseases*. In: Hall R (Ed). APS Press, USA.
- Sallam, N.M., (2011). ***Biological Control of Common Blight of Bean (Phaseolus vulgaris) Caused by Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli by Using the bacterium Rahnella aquatilis***. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 44(20), 1966-1975.
- Sangiogo, M., Rodriguez, D.P., Moccellini, R., Bermudez, J.M.M., Corrêa, B.O. and Moura, A.B., (2018). ***Foliar Spraying With Bacterial Biocontrol Agents for the Control of Common Bacterial Blight of Bean***. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 53, 1101-1108.
- Santana, E., Pena-Matos, E., Coyne, D.P. and Vidaver, A.K., (1991). ***Longevity of Xanthomonas campestris pv. phaseoli in Naturally Infested dry Bean (Phaseolus vulgaris) Debris***. Plant Disease, 75, 952-953.

- Sasser, M., (1990). ***Identification of Bacteria By Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids***. Technical Note #101: Newark, DE, USA.
- Saygılı, H. Şahin, F. and Aysan Y., (2006). ***Fitobakteriyoloji***. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 530.
- Schaad, N.W., (1988). ***Laboratory Guide for Identification of plant Pathogenic Bacteria***. APS press. 2nd ed. The American Phytopathological Society; St Paul, Minnesota. 84-107.
- Schaad, N.W., Vidaver, A.K., Lacy, G.H., Rudolph, K. and Jones, J.B., (2000). ***Evaluation of Proposed Amended Names of Several Pseudomonads and Xanthomonads and Recommendations***. Phytopathology, 90(3), 208-213.
- Schippers, B.A., Bakker, A. W., Bakker P. A., Van, H. M. and Peer R., (1991). ***Beneficial and Deleterious effects of HCN-producing Pseudomonas on Rhizosphere Interactions***. In: Kleister DL, Cregan PB, editors. The rhizosphere and plant growth. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 211–219.
- Schwartz, H. F, Steadman, J. R. and Hall, R., (2005) ***Compendium of Bean Diseases***. (2nd edn), APS Press, USA.
- Selamawit, C., (2004). ***Occurrence of Common Bacterial Blight Strains and its Effect on Quality of Bean Seeds in Ethiopia***. Doctoral dissertation, M. Sc Thesis presented to School of Graduate Studies of Alemaya University, 156.
- Sessitsch, A., Howieson, J.G., Perret, X., Antoun. H. and Martínez-Romero, E., (2002). ***Advances in Rhizobium research***. Critical Reviews in Plant Sciences, 21, 323-378. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044278>.
- Silva, E.G., Da Moura, A.B., Bacarin, M.A. and Deuner, C.C., (2009). ***Alterações Metabólicas em Plantas de Feijão Originadas de Sementes Microbiolizadas por Pseudomonas sp. e Inoculadas com Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli***. Summa Phytopathologica, 35, 98-104, <https://doi.org/10.1590/S0100-54052009000200003>.

- Singh, B. and Satyanarayana, T., (2011). ***Microbial Phytases in Phosphorus Acquisition and Pplant Growth Promotion***. Physiology and Molecular Biology of Plants 17, 93-103. <https://doi.org/10.1007/s12298-011-0062-x>.
- Singh, N. and Siddiqui, Z.A., (2015). ***Effects of Bacillus subtilis, Pseudomonas fluorescens and Aspergillus Awamori on the Wiltleaf Spot Disease Complex of Tomato***. Phytoparasitica, 43, 61-75. <https://doi.org/10.1007/s12600-014-0427-0>.
- Spago, F. R., Mauro, C. I., Oliveira, A. G., Beranger, J. P.O., Cely, M. V. T., Stanganelli, M. M., and Andrade, G., (2014). ***Pseudomonas aeruginosa Produces Secondary Metabolites that have Biological Activity Against Plant Pathogenic Xanthomonas species***. Crop Protection, 62, 46-54.
- Stall, R.E., Gottwald, T. R., Koizumi, M. and Schaad, N. C., (1993). ***Ecology of Plant Pathogenic Xanthomonads***. In *Xanthomonas*, 265-299. Springer, Dordrecht.
- Sunyar, B., Dönmez, M.F., ve Çoruh, İ. (2021). ***Iğdır'da Domates (Solanum Lycopersicon L.)'te Hastalığa Neden Olan Bakterilerin İzolasyonu ve Tanısı***. Journal of Agriculture, 4(2), 108-129.
- Swings, J., and Civerolo, E., (1993). ***Xanthomonas Chapman and Hall***. London UK.
- Tar'An, B., Michaels, T.E., and Pauls, K.P., (2001). ***Mapping Genetic Factors affecting The Reaction to Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli in Phaseolus vulgaris L. under field conditions***. Genome, 44(6), 1046-1056.
- Tariq, M., Noman, M., Ahmed, T., Hameed, A., Manzoor, N. and Zafar, M. (2017). ***Antagonistic Features Displayed by Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): a Review***. Journal of Plant Science and Phytopathology, 1(1), 038-43.
- Thomloudi, E.E., Tsalgatidou, P.C., Douka, D., Spantidos, T.N., Dimou, M., Venieraki, A. and Katinakis, P. (2019). ***Multistrain Versus Single-Strain Plant Growth Promoting Microbial İnoculants-The Compatibility Issue***. Hellenic Plant Protection Journal, 12,61-77.

- Torres, J.P., da Silva Junior, T.A.F. and Maringoni, A.C., (2009). ***Detection of Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli in Common Bean Seeds From the State of Paraná (Brazil)***. Summa Phytopathologica, 35(2), 136-139.
- Townsend, G.K. and Heuberger, J.W. (1943). “***Methods for Estimating Losses Caused by Diseases in Fungicide Experiments***”. Plant Disease Reporter, 27, 340-343.
- TÜİK, (2022). ***Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK)***. <https://data.tuik.gov.tr/>. Erişim Tarihi (04.06.2023).
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moëgne-Loccoz, Y., Muller, D., and Prigent-Combaret, C., (2013). ***Plant Growth-Promoting Rhizobacteria and Root System Functioning***. Frontiers in Plant Science, 4, 356. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>
- Vallet, G.I., Novikov, A., Augusto, L., Liehl, P., Bolbach, G., Péchy-Tarr, M. and Lemaitre, B., (2010). ***Association of Hemolytic Activity of Pseudomonas Entomophila, a Versatile Soil Bacterium, with Cyclic Lipopeptide Production***. Applied and Environmental Microbiology, 76(3), 910-921.
- Van Loon, L.C., (2007). ***Plant Responses to Plant Growthpromoting Rhizobacteria***. European Journal of Plant Pathology, 119, 243–254.
- Varhan, R. (2019). ***Maydanoz Bakteriyel Yaprak Leke Hastalığı Etmeni Pseudomonas syringae pv. şapii. Biyolojik Mücadelede Antagonist Bakterilerin Kullanım Olanaklarının Araştırılması***. Yüksek Lisans Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay, 63.
- Viecelli, C.A. and Moerschbacher, T., (2013). ***Control of the Common Bacterial Blight in the Bean Crop by Using Foliar Fertilizers***. Scientia Agraria Paranaensis, 12(1), 66-72.
- Wang, X., Li, Q., Sui, J., Zhang, J., Liu, Z., Du, J. and Liu, X., (2019). ***Isolation and Characterization of Antagonistic Bacteria Paenibacillus Jamilae HS-26 and their Effects on Plant Growth***. BioMed Research International 5-10.
- Watanabe, M., Suzuki, A., Komori, S. and Bessho, H. (2004). ***Comparison of Endogenous IAA and Cytokinins in Shoots of Columnar and Normal Type***

- Apple Trees.** Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 73(1), 19-24.
- Weller, D. M. and Saettler, A. W., (1980). **Colonization and Distribution of *Xanthomonas phaseoli* and *Xanthomonas phaseoli* var. *fuscans* in Field-Grown Navy Beans.** Phytopathol 70, 500–506.
- Wilson, M., Hirano, S.S. and Lindow, S.E., (1999). **Location and Survival of Leaf-Associated Bacteria in Relation to Pathogenicity and Potential for Growth Within the Leaf.** Appl Environ Microbiol 65(4), 1435–1443.
- Yılmaz, S., Dönmez, M.F. ve Çoruh, İ. (2020). **Farklı Lokasyonlarda Yabani Bitki Türlerinden İzole Edilen Bakterilerin Tanısı ve Azot Fikse Etme, Fosfor, Potasyum ve Kalsiyum Çözme Özelliklerinin Belirlenmesi.** Journal of Agriculture, 3(2), 71-90.
- Yörük, B., (2018). **Ceviz Bakteriyel Yanıklık Hastalık Etmeni *Xanthomonas arboricola* pv. *juglandis* 'e Karşı Antagonist Bakteriyel İzolatların İn Vitro Koşullarda Biyokontrol Etkinliklerinin Belirlenmesi.** Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 47.
- Zanatta, Z.G.C.N., Moura, A.B., Maia, L.C. and dos Santos, A.S., (2007). **Biossay for Selection of Biocontroller Bacteria Against Bean Common Blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*).** Brazilian Journal of Microbiology. 38, 511-515. <https://doi.org/1590/S1517-83822007000300024>.
- Zavaleta, E., (2000). **Alternativa de Manejo de las Enfermedades de las Plantas.** Revista Mexicana de la Ciencia del Suelo. Terra Latinoam. 17, 201-207.

## **EKLER**

Bakterilerin NCBI' da tanısı yapılırken kullanılan bölgeye ait sekans dizileri aşağıda verilmiştir.

### **AA-10-10f\_v9R\_003\_2022-06-08**

CCGTTGTGTCGATCAGATCGTCCCGCAGTGAATGGTCGATGGAAATTTGATG  
GTAAGTGGGCCGAGCTTGTTGCCTTGAGAGGGAGCAGGCTAGGGCTGTGTT  
GCGCTCCCACCTTCCTCGGTTGCACCGCAGCACCTTAGAGGCCAACTAAATGC  
TGCACTAAGATCAAGGGTGCCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCAC  
GACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGTCCCCGAAAGA  
CAAAGTCCCTATCTCTAGGGTTTGCTCAGCCGGATGATCAAGCACCTGGAT  
CATAGGGTTCTTCGCGTTGCCTTCGAATTTAGACCGACATGGCTTCGAACC  
CGCCTTGTTGACGTGAGTCTCCGCCCCCGCGGTTTCTCAT

### **>AA-13f\_013\_2022-05-26.ab1**

TGGGTAACCTGCCTGTAGGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATA  
CCGGATGCTTGTTTGAACCGCATGGTTCAAACATAAAAGGTGGCTTCGGCTA  
CCACTTACAGATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCT  
CACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG  
GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCC  
GCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTT  
CGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGG  
CGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGC  
AGCCGCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAA  
AGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACC  
GGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTG  
GAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAAC

### **>IT-159R\_003\_2022-05-26**

TGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTA  
CTAGCGATTCCAGCTTCACGCAGTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAACTGA  
GAACAGATTTGTGGGATTGGCTTAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCT

GTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGA  
CGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACACGGCAGTCACCTTAGAGTGCCC  
AACTGAATGCTGGCAACTAAGATCAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA  
CCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCACTC  
TGCCCCCGAAGGGGACGTCCTATCTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGAC  
CTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTG  
TGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCA  
GGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTGCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTA  
ACACTTAGCACTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGT  
TTCGCTCCCCC

**>IT-162\_11R\_007\_2022-05-26**

TGTTTTAAACGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCACGCA  
GTCGAGTTGCAGACTGCGATCCGAAGTGAAGAACAGATTTGTGGGATTGGCT  
TAACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTTCTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGC  
CCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTT  
TGTCACCGGCAGTCACCTTAGAGTGCCCAACTGAATGCTGGCAACTAAAAT  
CAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCT  
GACGACAACCATGCACCACCTGTCACTCTGCCCCCGAAGGGGACGTCCTAT  
CTCTAGGATTGTCAGAGGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTT  
CGAATTAAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTG  
AGTTTCAGTCTTGCGACCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCT  
GCAGCACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGG  
CGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCTCCCCACGCTTTTCG

**>ÖBF 71\_v1\_002\_2022-07-06**

TAAGAGCTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGG  
TAACCTACCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGG  
ATAATATTTTGAAGTGCATAGTTGAAATTGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCAC  
TTATGGATGGACCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACC  
AAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACT  
GAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGCAA



TGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGG  
TCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGC  
ACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC  
GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCG  
CGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGG  
AGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTC  
CATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAA  
AGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGC  
AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAAGT  
GGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAAGTTAACGCATTAAGCACTCC  
GCCTGGGGGAGTACGGGCCGCAAGGGCTGAAACTTCAAAGGAATTGGAC  
C