

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü

**DOMATESTE BAKTERİYEL LEKE HASTALIĞI  
(*Xanthomonas euvesicatoria*)'NA KARŞI  
BİYOKONTROL OLANAKLARININ VE  
TRANSKRİPTOMİK YANITLARIN  
ARAŞTIRILMASI**

Gizem ERYİĞİT

Danışman : Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Bitki Koruma Anabilim Dalı  
Fitopatoloji Doktora Programı

İzmir  
2022



Gizem ERYİĞİT tarafından doktora tezi olarak sunulan “Domateste Bakteriyel Leke Hastalığı (*Xanthomonas euvesicatoria*)’na karşı Biyokontrol Olanaklarının ve Transkriptomik Yanıtların Araştırılması” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 04/08/2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:****İmza**

<b>Jüri Başkanı</b>	: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN	.....
<b>Raportör Üye</b>	: Prof. Dr. Mustafa GÜMÜŞ	.....
<b>Üye</b>	: Prof. Dr. Ayşe GÜL	.....
<b>Üye</b>	: Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ	.....
<b>Üye</b>	: Doç. Dr. Ümit ÖZYILMAZ	.....



## EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

### ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Domateste Bakteriyel Leke Hastalığı (*Xanthomonas euvesicatoria*)’na karşı Biyokontrol Olanaklarının ve Transkriptomik Yanıtların Araştırılması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

04 / 08 / 2022

Gizem ERYİĞİT



**ÖZET****DOMATESTE BAKTERİYEL LEKE HASTALIĞI (*Xanthomonas euvesicatoria*)’NA KARŞI BİYOKONTROL OLANAKLARININ VE TRANSKRİPTOMİK YANITLARIN ARAŞTIRILMASI**

ERYİĞİT, Gizem

Doktora Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Ağustos 2022, 161 sayfa

Domateste *Xanthomonas euvesicatoria*’nın neden olduğu Bakteriyel Leke Hastalığı verim ve kalite kayıplarına neden olan ciddi ve yıkıcı hastalıklardan birisidir. Son yıllarda, bitkilerin hastalık yönetiminde kimyasal pestisitlere alternatif olarak biyolojik kontrol elemanlarına yönelim artmıştır. Bu çalışmada; domateste Bakteriyel Leke Hastalığına neden olan *X. euvesicatoria*’a karşı yararlı bakteriler kullanılarak bitki gelişimi ve biyokontrol verimliliği belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmamızda, İzmir, Aydın, Manisa illerindeki farklı lokasyonlardan alınan domates bitkilerinden, toplam 313 adet endofit ve epifit bakteri izole edilmiştir. Elde edilen bu bakterilere *in vitro* biyokontrol ve bitki gelişimine etki testleri uygulanmıştır. *In vitro* testler ile elde edilen sonuçlar tartılı derecelendirme yöntemi ile değerlendirilmiş ve 15 bakteri izolatu *in vivo* koşullarda *X. euvesicatoria*’a ve bitki gelişimine etki testleri için seçilmiştir. Biyokontrol etki testlerinde bakteriler patosisteme tohuma biopriming ve yeşil aksama püskürtme şeklinde verilmiştir. En etkili olan iki izolat, kontrole kıyasla yeşil aksam ve tohuma biopriming uygulamalarında sırasıyla hastalığı %40-45, %30-41 oranında engellemiştir. 16S rRNA primerleri kullanılarak yapılan tanımlama ve dizi analizine göre KD 91/1 ve KD 50/2 kodlu iki izolatu sırasıyla *Pseudomonas putida* ve *Enterobacter cloacae* olduğu belirlenmiştir. *P. putida* KD 91/1 ile tohuma biopriming yapılan bitkiler, tüm uygulamalara kıyasla en yüksek biyokütleyi göstermiştir. *P. putida* KD 91/1 izolatu patojen inokulasyonu sonrası domates dokularındaki popülasyonu sürgünlerde yaklaşık  $7,2 \times 10^4$  cfu/g ve köklerde  $1 \times 10^5$  cfu/g olarak bulunmuştur. *P. putida* KD 91/1 ile tohumlara biopriming yapılan bitkilerde, JA/ET yolu ile ilişkili olan AOC ve ACO gen ifadelerinde bir artış olmuştur.

**Anahtar sözcükler:** Domates, *Xanthomonas euvesicatoria*, Biyokontrol, Yararlı Bakteri, Uyarılmış Sistemik Dayanıklılık



**ABSTRACT****RESEARCH OF BIOCONTROL POSSIBILITIES AND  
TRANSCRIPTOMIC RESPONSES AGAINST BACTERIAL SPOT  
DISEASE OF TOMATO (*Xanthomonas euvesicatoria*)**

ERYIGIT, Gizem

PhD in Department of Plant Protection

Supervisor Prof. Dr. Hatice OZAKTAN

August 2022, 161 pages

Bacterial spot on tomato caused by *Xanthomonas euvesicatoria* is one of the serious and destructive diseases that cause yield and quality losses. In recent years, the tendency to biological control elements has increased as an alternative to chemical pesticides in the plant disease management. In this study; it was tried to determine plant growth and biocontrol efficacy by using beneficial bacteria against *X. euvesicatoria*, which causes bacterial spot disease in tomato. In our study, totally 313 endophytic and epiphytic bacteria were isolated from tomato plants obtained from different locations in İzmir, Aydın and Manisa provinces. *In vitro* biocontrol and plant growth efficacy tests were performed with these bacteria. The results obtained with the *in vitro* tests were evaluated by the “weighted-rankit” method and 15 bacterial isolates were selected for the effects on *X. euvesicatoria* and plant growth *in vivo* conditions. In the biocontrol effect tests, bacteria were applied to the pathosystem by biopriming of seed and spraying of leaves. The two most effective isolates prevented the disease incidence in spraying and seed biopriming applications compared to the pathogen alone control by 40 to 45% and 30 to 41%, respectively. According to the identification carried out by using 16S rRNA primers and sequence analysis, these two isolates KD 91/1 and KD 50/2 were determined as *Pseudomonas putida* and *Enterobacter cloacae*, respectively. Plants bioprimed to seeds with *P. putida* KD 91/1 showed the highest biomass compared to all treatments. The population of the *P. putida* KD 91/1 in tomato tissues after pathogen inoculation was determined to be about  $7,2 \times 10^4$  cfu/g shoot and  $1 \times 10^5$  cfu/g root. There was an increase in AOC and ACO gene expressions, which are associated with the JA/ET pathway in plants bioprimed to seeds with *P. putida* KD 91/1.

**Keywords:** Tomato, *Xanthomonas euvesicatoria*, biocontrol, beneficial bacteria, induced systemic resistance



## ÖNSÖZ

Küresel iklim değişikliğinin arttırdığı abiyotik ve biyotik stresler bitkisel üretimi sürekli olarak tehdit eden unsurlardır. Tarımsal üretim sistemlerinde, üreticiler biyotik streslere karşı ürün verim ve kalitesini garanti etmek için yıllar boyunca kimyasal pestisitleri kullanmıştır. Son yıllarda, kimyasal pestisit kullanımının; tarımsal üretim yapılan topraklarda, yüzey ve yeraltı sularında birikerek çevre biyotası ve insan sağlığı üzerindeki negatif etkilerine ilişkin artan farkındalık nedeniyle kimyasal pestisit kullanımlarını azaltma çabaları gösterilmektedir. Pek çok ülke, kimyasal pestisit üretimi ve kullanımına ilişkin daha sıkı düzenlemeler getirerek, bu araçların maliyetini arttırmakta ve kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Bu sebepler ile, bitkilerin hastalık yönetiminde kimyasal pestisitlere alternatif olarak biyolojik kontrol elemanlarının kullanımına yönelim artmıştır.

Bu çalışmada; domateste bakteriyel leke hastalığına neden olan *Xanthomonas euvesicatoria*'a karşı yararlı endofit ve epifit bakteriler kullanılarak biyokontrol olanakları araştırılmıştır. Biyokontrol elemanlarının, bitki gelişimine ve biyokontrol verimliliğine etkisi belirlenmiştir. Çalışma; biyokontrol elemanı-patojen-bitki interaksiyonunun anlaşılabilmesi için gen ifade profili çalışmaları ile desteklenmiştir.

Bitki hastalıkları ile mücadelede mikrobiyal biyokontrol elemanlarının bilime dayalı olarak, öncelikle laboratuvar koşullarında araştırılması, daha sonra kitlesel üretimi için pilot ve endüstriyel ölçeklerde geliştirilmesi, biyokontrol elemanlarının tarımsal üretimde kullanımının artmasına şüphesiz katkı sağlayacaktır.

Doktora eğitimim boyunca Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından yurt içi lisansüstü burs programı kapsamında olan 2228-B yüksek lisans öğrencileri için yurt içi doktora burs programı tarafından desteklendim. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

FDK-2019-20622 nolu proje desteğiyle doktora çalışmamın moleküler tanı ve gen ifadesi bölümlerinin finansal açıdan sorunsuz yürütülmesini sağlayan Ege

Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri koordinatörlüğüne içten teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasının, bakteriyel izolatlarının elde edilmesi 117O126 numaralı ‘Kök Bakterilerinin Domateste Kuraklık Stresine Etkileri’ başlıklı TÜBİTAK projesi çatısı altından sağlanmıştır. TÜBİTAK’a çalışmaya sağladığı destekten dolayı teşekkür ederim.

Gizem ERYİĞİT



**İÇİNDEKİLER**Sayfa

İÇ KAPAK .....	i
KABUL ONAY SAYFASI .....	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xix
TABLolar DİZİNİ.....	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1 Fitomikrobiyom ve Yararlı Bakteriler .....	7
2.1.1 Rizomikrobiyom.....	8
2.1.2 Filomikrobiyom .....	10
2.1.3 Endofit Organizmalar .....	11

**İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa

2.2 Yararlı Bakterilerin Biyolojik Kontroldeki Rolü .....	13
2.2.1 Ekolojik bir yer veya substrat için rekabet.....	13
2.2.2 Bitki patojenlerinin gelişimini inhibe edici bileşiklerin üretimi .....	16
2.2.2.1 Siderofor bileşiklerin üretimi .....	16
2.2.2.2 Antibiyotik üretimi.....	19
2.2.2.3 Bitki hormonu üretimi.....	21
2.2.3 Diğer potansiyel mekanizmalar .....	23
2.2.4 Dayanıklılığın uyarılması ve savunma yanıtlarının aktivasyonu .....	24
2.3 Priming.....	30
2.4 Domateste Bakteriyel Leke Hastalığı ( <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> ) .....	31
2.5 Bakteriyel Leke Hastalığının Mücadelesine Yönelik Çalışmalar .....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	44
3.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	44
3.1.1 Çalışmada kullanılan test bitkisi ve bitki yetiştirme ortamı.....	44
3.1.2 Bitkilerin <i>in vitro</i> olarak yetiştirilmesi.....	44
3.2 Çalışmada Kullanılan Bakteriyel Patojen .....	44

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.3 Yararlı Bakteri İzolasyonu.....	44
3.3.1 Epifit bakteri izolasyonu.....	45
3.3.2 Endofit bakteri izolasyonu.....	45
3.4. Yararlı Bakterilerin Morfolojik ve Fizyolojik Karakterizasyonu .....	47
3.5 Yararlı bakterilerin <i>In Vitro</i> Bitki Gelişimini Arttırma Potansiyellerininin Belirlenmesi.....	47
3.5.1 Siderofor üretme aktivitesi .....	47
3.5.2 İndol asetik asit (IAA) üretiminin belirlenmesi.....	48
3.5.3 Fosfatı çözme aktivitesinin belirlenmesi .....	49
3.5.4 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase aktivitesinin belirlenmesi.....	49
3.5.5 Hidrojen siyanür (HCN) üretiminin belirlenmesi.....	50
3.5.6 Yararlı Bakterilerin <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> 'a karşı <i>In Vitro</i> Antagonistik Etkisinin Belirlenmesi.....	51
3.6 <i>In vivo</i> Testler için Yararlı Bakteri İzolatlarının Seçilmesi .....	51
3.7 <i>In vivo</i> Koşullarda <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> 'a karşı Biyokontrol Etki Testleri .....	52

**İÇİNDEKİLER (devam)**

	<u>Sayfa</u>
3.8 Bitki Büyüme Parametrelerin Belirlenmesi .....	54
3.8.1 Vigorite indeksi.....	54
3.8.2 Kuru ağırlık/Yaş Ağırlık .....	55
3.9 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Moleküler Tanısı .....	55
3.10 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Bitkide Kolonizasyonunun İzlenmesi ...	55
3.11 Bitki Savunması ile İlişkili Gen İfade Profillerinin Belirlenmesi.....	56
3.12 Verilerin Analizi .....	59
4. BULGULAR.....	60
4.1 Yararlı Bakterilerin İzolasyon Sonuçları .....	60
4.2 Yararlı Bakterilerin Morfolojik ve Fizyolojik Karakterizasyonu Sonuçları ....	69
4.3 Yararlı bakterilerin <i>In Vitro</i> Bitki Gelişimini Arttırma Potansiyellerininin Belirlenmesine Yönelik Parametlerin Sonuçları.....	86
4.3.1 Siderofor Üretme Aktivitesi Sonuçları .....	86
4.3.2 İndol Asetik Asit (IAA) Üretiminin Belirlenmesi Sonuçları.....	86
4.3.3 Fosfatı Çözme Aktivitesinin Belirlenmesi Sonuçları.....	87
4.3.4 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase Aktivitesinin Belirlenmesi Sonuçları.....	88

**İÇİNDEKİLER (devam)**Sayfa

4.3.5 Hidrojen siyanür (HCN) Üretiminin Belirlenmesi Sonuçları.....	88
4.3.6 Yararlı Bakterilerin <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> 'a karşı <i>In Vitro</i> Antagonistik Etkisinin Belirlenmesi Sonuçları .....	89
4.4 <i>In vivo</i> Testler İçin Yararlı Bakteri İzolatlarının Seçilmesi.....	103
4.5 <i>In vivo</i> Koşullarda <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> 'a karşı Biyokontrol Çalışmaları Sonuçları.....	103
4.6 Yararlı Bakterilerin Bitki Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi.....	106
4.6.1 Vigorite indeksi sonuçları.....	106
4.6.2 Kuru Ağırlık/Yaş Ağırlık.....	106
4.7 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Moleküler Tanısı.....	107
4.8 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Bitkide Kolonizasyonunun İzlenmesi Sonuçları .....	109
4.9 Bitki Savunması ile İlişkili Gen İfade Profillerinin Belirlenmesi .....	110
5. TARTIŞMA.....	114
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	122
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	125
TEŞEKKÜRLER.....	160

**İÇİNDEKİLER (devam)**

Sayfa

ÖZGEÇMİŞ .....161



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 SA biyosentez ve sinyalizasyon yolağı .....	26
2.2 SA sinyal yolağı modeli .....	27
2.3 Jasmonat biyosentez ve sinyalizasyon yolağı .....	28
2.4 Etilen biyosentez ve sinyalizasyon yolağı.....	29
3.1 Yararlı bakteri izolasyonları için bitki örneklerinin toplandığı lokasyonlar .....	45
3.2 İmprinting yöntemi ile domates bitkisinin gövde ve kök kısımlarından kesitler alınarak gerçekleştirilen izolasyon .....	47
3.3 Hastalık şiddeti değerlendirmede kullanılan 0-4 skalası.....	54
4.1 İzolasyon sonrası elde edilen bakteriyel koloniler .....	60
4.2 Ön tanı testi sonucu patatesteki pektolitik aktivite ve tütünde HR (Hypersensitive Reaction) pozitif reaksiyonlar .....	69
4.3 Yararlı bakterilerin <i>in vitro</i> koşullarda PGPR parametreleri yönünden testlenmesi .....	87
4.4 Yararlı bakteri izolatlarının <i>in vitro</i> 'da ACC-deaminaz aktivitesinin belirlenmesi .....	88
4.5 Bakterilerin <i>Xe</i> 'e karşı <i>in vitro</i> antagonistik etkisi sonucu patojene karşı oluşan engelleme zonu .....	89

**ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.6 Yaralı bakteri izolatları ile püskürtme uygulaması görmüş bitkide <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> 'nın belirti gelişiminin uygulama görmemiş pozitif kontrol ile karşılaştırılması.....	105
4.7 Yaralı bakteri izolatları ile tohum kaplaması yapılan bitkilerin yaş/kuru ağırlık değerleri.....	107
4.8 KD 91/1 izolatının kök ve yeşil aksam gelişimine etkisinin uygulama görmemiş kontrol ile karşılaştırılması .....	107
4.9 27F/1492R primer çiftleri ile yapılan amplifikasyon sonucu 1460 bp'deki jel görüntüsü .....	108
4.10 Yararlı bakteri popülasyon yoğunluğunun zamana bağlı olarak değişimi .....	110
4.11 <i>Pseudomonas putida</i> KD 91/1 izolatının patojen inokulasyonu sonrası bitki içsel dokularında kolonizasyonu.....	110
4.12 <i>P. putida</i> KD 91/1 izolati ile priming yapılan bitkilerdeki gen ifade düzeyleri .....	112

## TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
3.1 Yararlı bakterilerin siderefor üretme aktivitesini belirlemek amacıyla kullanılan Blue-CAS Agar besi yeri için gerekli kimyasallar ve miktarları .....	48
3.2 Yararlı bakterilerin fosfatı çözme aktivitesinin belirlemek amacıyla kullanılan NBRIP Agar besi yeri için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	49
3.3 Yararlı bakterilerin ACC-deaminase aktivitesi belirlemek amacıyla kullanılan DF minimal tuz ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	50
3.4 <i>In vivo</i> biyokontrol çalışmasında kullanılacak izolatların tartılı derecelendirme yöntemiyle belirlenmesi amacıyla kullanılan puanlamalar.....	52
3.5 Yararlı bakteri izolatlarının kolonizasyonunu takip etmek için gerçekleştirilen örnekleme dönemleri.....	56
3.6 LiCl-phenol ekstraksiyon RNA izolasyon protokolü .....	57
3.7 Gen ifade profili çalışmalarında kullanılan primerler.....	59
4.1 Antagonist adayı bakteri izolatları ile ilgili bilgiler.....	61
4.2 İzole edilen epifit ve endofit aday yararlı bakterilerin morfolojik ve fizyolojik özelliklerine ait bilgiler.....	70

**TABLolar DİZİNİ (devam)**

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.3 Bakteri izolatlarının <i>in vitro</i> bitki gelişimini arttırma ve biyokontrol özellikleri ile ilgili bilgiler.....	90
4.4 İzolatların tartılı derecelendirme yöntemi ile aldıkları puanlar.....	103
4.5 Yeşil aksama püskürtme uygulaması yapılmış yararlı bakteri izolatlarının <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> 'a üzerine etkileri.....	104
4.6 Tohum kaplama uygulaması yapılmış yararlı bakteri izolatlarının <i>Xanthomonas euvesicatoria</i> 'a üzerine etkileri.....	105
4.7 Yaralı bakteri izolatlarının vigorite indeksi sonuçları.....	106
4.8 Başarılı bulunan yararlı bakteri izolatlarının tanı ve NCBI referans numaraları.....	108

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
ABA	Absisik asit
ABD	Amerika Birleşik Devleti
ACC	1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid
AOC	Allene oxide cyclase
ACO	1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Oxidase
ANI	Ortalama nükleotid benzerliği
BA	Benzoik asit
CK	Sitokinin
DAMP <sub>s</sub>	Hasar ilişkili moleküler yapı
DAPG	2,4-diacetylphloroglucinol
ET	Etilen
ETI	Efektörün tetiklediği immünite
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GA	Giberellin
HCN	Hidrojen siyanür
IAA	İndol asetik asit
ICS	Isochorismate synthase
IR	Uyarılmış dayanıklılık
ISR	Uyarılmış sistemik dayanıklılık

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
JA	Jasmonik asit
MAMP <sub>s</sub>	Mikropla ilişkili moleküler yapı
MLSA	Multilokus sekans analizi
NOI	Niş kesişme indeksi
PAL	Phenylalanine ammonia lyase
PAMP <sub>s</sub>	Patojenle ilişkili moleküler yapı
PAW	Plazma active edilmiş su
PCN	Fenazin -1-karboksamid
PGPR	Bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri
PR	Patogenez ile ilgili
PRR	Patern tanıma reseptörü
PTI	Paternin tetiklediği immünite
SA	Salisilik asit
SAR	Sistemik kazanılmış dayanıklılık
TUİK	Türkiye istatistik kurumu
<i>Xe</i>	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>

## 1. GİRİŞ

Dünyanın yıllar geçtikçe bitkisel üretim ihtiyacı artmaktadır. Bu artan bitkisel üretim talebi üç ana sebepten kaynaklanmaktadır. Bunlar; (i) artan insan nüfusu, (ii) et ve süt tüketiminde yükselme ve (iii) biyoyakıt tüketimidir. Ancak, 21. yüzyılda tarım birçok zorlukla karşı karşıyadır. Artan nüfusu beslemek için daha fazla gıda ve lif üretmesi, potansiyeli giderek artan biyoenerji pazarı için daha fazla hammadde üretmesi, daha verimli ve sürdürülebilir üretim yöntemlerini benimsemesi ve iklim değişikliğine uyum sağlaması gerekmektedir. 2050'ye kadar, bu artan talepleri karşılamak için küresel tarımsal üretimin %60-110 oranında artırılması gerekmektedir (FAO, 2009; Ray et al., 2013). Ayrıca nüfus artışı ile birlikte; insan faaliyetlerinin devamlılığı için barınma ihtiyacı artacaktır. Buna bağlı olarak sanayileşme, kentleşme faaliyetleri nüfusun taleplerini karşılayabilmek için hızlanacak ve bu durum, çiftçilik için gerekli tarımsal arazi mevcudiyetini etkileyecektir (Enebe and Babalola, 2018). Dünyanın gelecekteki gıda güvenliği ve sürdürülebilirlik ihtiyaçlarını karşılamak için, tarımsal verimin önemli ölçüde büyümesi ve aynı zamanda yanlış tarımsal uygulamaların çevresel etkilerinin azaltılması gereklidir (Foley et al., 2011). Ancak hızla artan insan popülasyonunun gıda ihtiyaçlarının karşılanabilmesi, iklim değişikliğinin arttırdığı abiyotik ve biyotik faktörler nedeniyle risk altındadır. Bitkiler sürekli verim kayıplarına neden olabilecek ve küresel gıda güvenliğini tehdit edebilecek patojenlere, yabancı otlara ve zararlılara maruz kalmaktadır. Bitki hastalıkları, en az 800 milyon insanın yetersiz beslendiği mevcut gıda tedarik açığının daha da kötüleşmesine neden olmaktadır (Strange and Scott, 2005; Oerke, 2006). Bitki hastalıkları ve zararlılarının neden olduğu ürün kayıpları hakkında somut verilerin oluşturulması, ayrıca tarımsal ürünler, tarımsal ekosistemler ve bölgeler arasında karşılaştırılması oldukça zordur. Ancak küresel düzeyde zararlı ve hastalık kaynaklı tarımsal ürün kayıplarının ortalama %17-30 arasında olduğu tahmin edilmektedir. Bu nedenle gıda güvenliği açısından tarımsal ekosistemlerin sürdürülebilirliği iyileştirmeye çalışılmalı ayrıca tarımsal ürünlerin sağlığı için hastalık ve zararlı yönetimine dikkat edilmelidir (Savary et al., 2019).

Hastalık ve zararlılardan kaynaklanan kayıpları azaltmak ve yüksek tarımsal üretim seviyelerini korumak için, tarım da kültürel önlemler, teknolojinin kullanımı, gübre-pestisit gibi agrokimyasalların kullanımı ve bitki ıslahı gibi yaklaşımlar uygulanmaktadır (van Esse et al., 2020). Son yıllarda tarımsal üretim operasyonlarında, üreticiler ekonomik istikrarına yardımcı olacak bitki koruma yöntemi olarak kimyasal pestisitlere gittikçe daha fazla bağımlı hale gelmiştir ve kimyasal pestisitleri uzun yıllardır yaygın olarak kullanmaya devam etmektedirler (Wu et al., 2015). Bu pestisitlerin, tarımsal üretim yapılan topraklarda, yüzey ve yeraltı sularında biriktiği ve çevre biyotası üzerinde istenmeyen etkiler veya sağlık riskleri oluşturabileceği rapor edilmiştir (Dao et al., 2021; Manjarres-López et al., 2021). Bu nedenle, kimyasal pestisit kullanımları, istenmeyen yan etkileri en aza indirmek için giderek daha katı düzenlemelerle karşı karşıya kalmaktadır (Donley, 2019; Schiavi et al., 2021). Bunun sonucunda, bitki korumada kimyasal pestisitlere alternatif olarak biyolojik kontrol elemanları ile hastalık kontrolü giderek artmakta ve kısmen kimyasal pestisitlerin yerini almaya başlamaktadır (Wu et al., 2015). Biyokontrol yaklaşımları, bağımsız olarak tek kullanılacak önlemler olabileceği gibi pestisit veya dayanıklı çeşitlerin kullanımı ile birlikte gerçekleştirilebilecek entegre yaklaşımlarda önemli bir rol oynayabilmektedir (Jensen et al., 2016). Biyokontrol elemanlarının, sürdürülebilir, güvenli ve etkili bir tarım sistemi geliştirmesinde, biyopestisit olarak kullanılmasının yanında biyogübre olarak değerlendirilme potansiyeli de büyüktür (Afzal et al. 2019).

Bitki hastalıklarının biyolojik kontrolü, genellikle bir bakteri, fungus, virüs veya bunların bir karışımını içeren biyokontrol elemanlarının bitkiye veya toprağa uygulanmasıyla hastalığın önlenmesidir (O'Brien et al., 2017). Biyokontrol; yararlı mikroorganizmalar arasından patojenlere karşı oldukça etkili olan ve yapay ortamda çoğaltılabilen izolatlar seçilerek gerçekleştirilir. Bazı durumlarda, antagonistin canlı hücreleri olmadan sadece seçilen mikrobiyal organizmalar tarafından üretilen antimikrobiyal metabolitler ile de mücadele gerçekleştirilir (Köhl et al., 2019). Özellikle bitki korumadaki yeni yaklaşımlar arasında, canlı bakteri hücreleri veya bunların metabolitlerini içeren biyolojik ürünler ilgi çekmektedir (Maksimov et al., 2020). *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Bacillus* cinslerine ait çeşitli bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR) ırkları, biyogübreleme ve biyokontrol etmenleri olarak kullanılan formüle edilmiş ürünler

şeklinde ticari olarak mevcuttur ve PGPR tabanlı ticarileştirme hızla yükselen trenddedir (Goswami et al., 2016). Şu anda, faaliyetleri tarihsel olarak kimyasal pestisitlerin geliştirilmesi ve ticarileştirilmesine odaklanan birçok şirket, halihazırda gelişmekte olan veya mikroorganizma bazlı pestisitler geliştirme potansiyeline sahip küçük şirketleri satın almaktadır (Pawlikowska et al., 2019).

Biyolojik kontrol elemanları, antibiyosiz, yer ve besinler için rekabet, parazitizm, ekstrasellüler proteinlerin üretimi (hücre duvarını parçalayan enzimler gibi) ve patojenite faktörlerinin degradasyonu gibi doğrudan veya bitki savunma yanıtlarının indüklenmesi gibi dolaylı etki mekanizmalarını kullanarak patojen popülasyonlarının çoğalmasını sınırlandırabilir ve bitkileri hastalıklardan kaynaklanan zararlardan korur (Jensen et al., 2016).

Bitkiler maruz kaldıkları biyotik ve abiyotik streslere karşı fiziksel ve kimyasal çeşitli savunma stratejileri geliştirmişlerdir. Bitki yüzeyinde yapısal olarak bulunan önceden oluşturulmuş fiziksel bariyerler ile (balmumu tabakaları, sert hücre duvarları) öncelikle patojenin bitkiye girişi önlenmeye çalışılır. Ancak bir patojen fiziksel savunma katmanlarının üstesinden gelmeyi başırırsa, mikrobiyal kolonizasyonun ilerlemesini sonlandıran etkili bitki immün sistemi ile karşılaşmak zorundadır. Memelilerden farklı olarak, bitkiler hem dolaşım sistemi hem de özelleşmiş bağışıklık hücrelerine sahip değildir. Bu nedenle adaptif bir bağışıklık sistemleri yoktur (Nishad et al., 2020). Bitkinin doğuştan gelen immün sistemi, patojen varlığını saptamak ve patojenin saldırı mesajını iletmek için bulunan çok sayıda reseptöre bağlı çalışmaktadır. Hücre dışı sinyallerin algılanması, hücrelerin plazma membranındaki Patern Tanıma Reseptörleri (Pattern-Recognition Receptors (PRR)) ile gerçekleşirken, sitoplazmik tehlike sinyallerinin tanınması, Nibblers (NB-LRR reseptörleri) direnç proteinleri gibi sitoplazmik sensörlere bağlıdır (Andolfo and Ercolano, 2015). Bitkilerin moleküler savunma stratejileri, iki katmanlı PTI/ETI zikzak modeli ile açıklanmıştır (Jones and Dangl, 2006). Bitki immün sisteminin ilk katmanı, hücre yüzeyinde lokalize olan patern tanıma reseptörleri (PRR'ler) aracılığıyla büyük bir mikroorganizma grubunda bulunan mikropla ilişkili moleküler yapı (Microbe-associated molecular patterns (MAMPs), patojen ilişkili moleküler yapı (Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs)) ve hasar ilişkili moleküler

yapı (Damage- associated molecular patterns (DAMPs))'ların tanınması üzerine tetiklenir ve paternin tetiklediği immünite (pattern-triggered immunity (PTI) olarak adlandırılır (Nishad et al., 2020). PTI, patojen saldırısını azaltmada ve bitki yaprağındaki endofitik yaprak mikrobiyotasının homeostazını sürdürmede önemli bir rol oynar. Birçok patojen tarafından salgılanan efektörler, saldırı ve çoğalmayı kolaylaştırmak ve konukçu immünitesini baskılamak için bitki hücrelerine ve apoplasta iletilir. Patojen virülansıya mücadele etmek için bitkiler, efektörlerin tanınması üzerine, bitkiler ETI olarak bilinen ikinci ve genellikle daha güçlü bir immünite sinyalini aktive eder. (Yuan et al., 2021). Bu immünite yanıtlarının aktivasyonu, patojen saldırılarının baskılanmasına yol açan bir dizi karmaşık sinyal olayını tetikler.

Bitki savunma stratejileri doğuştan gelirken, bazı durumlarda patojene, yararlı mikrop veya mikrop bazlı bir bileşik/metabolite yanıt olarak uyarılabilir (Pieterse et al., 2014; Mhlongo et al., 2018). Bitkide uyarılmış dayanıklılık (Induced resistance (IR)) mekanizmaları, spesifik tanıma reseptörleri tarafından tanınan uyarılar tarafından tetiklenir. Tipik tanıyan uyarıcılar, saldıran patojene karşı konukçu dayanıklılığını artırmak için bitkide savunma yollarını indükleyen PAMP'lardır. Dayanıklılık, saldırıya uğrayan dokuda lokal olarak indüklenebilir veya sinyal yoluyla bitkiye yayılabilir. Bu savunma yanıtı, nekrotizan patojenlerin uyarısına doğrudan bir tepkidir ve Sistemik Kazanılmış dayanıklılık (Systemic acquired resistance (SAR)) olarak tanımlanmıştır. Tüm bitkinin birçok patojene karşı gelişmiş savunma kapasitesinin yararlı mikroplar tarafından indüklendiği şekli uyarılmış sistemik dayanıklılık ISR olarak karakterize edilmiştir (Köhl et al., 2019).

Bitkiler, sesil doğaları gereği biyotik ve abiyotik streslere karşı çok çeşitli hayatta kalma ve adaptasyon stratejileri geliştirmiştir. Bu nedenle, bitkiler stres "hafızası" yaratma yeteneğine sahiptir. 'Priming' olarak da bilinen 'stres hafızası' daha sonraki bir strese karşı artan dayanıklılığa yol açan ilk strese maruz kalmanın neden olduğu genetik veya biyokimyasal modifikasyonlar olarak tanımlanmaktadır (Borges et al., 2014). Priming bir diğer deyişle 'hazırlanma', bitkilerin biyotik veya abiyotik strese maruz kaldıktan sonra daha hızlı ve/veya daha güçlü yanıt vermesini sağlayan fizyolojik bir duruma yol açan bir mekanizmadır. Bu

"Hazırlanmış" durum, savunma yanıtının artan, daha etkili aktivasyonu ve zorlu strese karşı geliştirilmiş dayanıklılık ile ilişkilendirilmiştir. Priming ile savunma yanıtının doğrudan aktivasyonundan ziyade, savunma yanıtını indükleyen sinyallerin algılanması veya amplifikasyonu gerçekleşir (Aranega-Bou et al., 2014). MAMP'ların algılanması, patojen kaynaklı efektörlerin tanınması veya yararlı mikroplar tarafından kolonizasyonun, bazı doğal veya sentetik bileşik uygulamaları veya yaralanma yoluyla bitkide priming indüklenebilir (Conrath, 2011).

Bitki immünite yanıtları, litik enzimlerin (kitinazlar, glukanazlar ve proteazlar), antimikrobiyal proteinlerin (defensinler) veya sekonder metabolitlerin (fitoaleksinler) üretimi, savunma hormonu sinyalleme ve patogenezle ilişkili (PR) proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonel aktivasyonu, fosforilasyon olayları, reaktif oksijen türlerinin birikimi (ROS) gibi süreçleri içerir (Nürnberg et al., 2004).

2020 yılında Türkiye'de toplam 25,3 milyon ton meyvesi yenen sebze grubuna ait tarımsal ürünler yetiştirilmiştir. Domates (*Solanum lycopersicum* L.), bu tarımsal ürünler arasında, 13,2 milyon ton üretimi ile %42,3'lük paya sahip önemli meyvesi yenen sebzelerdendir (TÜİK, 2020) ve sebze endüstrisinde büyük bir paya sahiptir. Bununla birlikte domates üretimi, verim ve kalite kayıplarına neden olan birçok biyotik faktörden etkilenir. Bunlar arasında ekonomik kayıplara neden olan önemli bir kısmını bakteriyel hastalıklar oluşturmaktadır. Dört *Xanthomonas* türünün (*Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas euvesicatoria* ve *Xanthomonas vesicatoria*) neden olduğu bakteriyel domates lekesi, dünya genelindeki domates yetiştirme alanlarının en ciddi ve yıkıcı hastalıklarından birisidir (Sharma and Bhattarai, 2019). Bakteriyel leke için geleneksel kontrol yöntemleri; bakır bazlı kimyasal pestisit uygulamalarını ve dayanıklı çeşit kullanımını içerir (Sahin and Miller, 1998). Ancak, bakteriyel lekeye dayanıklı kabul edilebilir farklı yabancı hat ve domates çeşitleri ile yapılan ıslah çalışmaları büyük ölçüde başarısız olduğundan, şu anda yetiştiriciler için dayanıklı domates çeşitleri mevcut değildir (Sharma and Bhattarai, 2019). Ayrıca, hastalığa karşı kullanılan bakırlı preparatlara karşı etkinlik, patojen evrimi nedeniyle hızla azalmaktadır (Martin et al., 2004; Abbasi

et al., 2015). Etmenin bakır toleransının artması sonucu, son zamanlarda bakteriyel leke ile mücadele seçenekleri, küçük moleküllü bileşikler (Qiao et al., 2021) ve nanomateryaller (Liao et al., 2019) gibi farklı kimyasal yaklaşımlar ve biyokontrol üzerine odaklanmıştır. Alternatif kimyasal yaklaşımların umutvar sonuçlar vermesine rağmen fitotoksik etkilerinin giderilmesi için ek optimizasyon çalışmalarına ihtiyacı vardır ve henüz çevresel etkileri bilinmemektedir (Paret et al., 2013).

Yıllar geçtikçe, patojen kontrolünde kimyasal pestisit kullanımının çevresel bir tehlike oluşturduğu ve gıda zincirinde toksik maddelerin birikmesine neden olduğu bulunmuştur. Bu sebeplerle çevre dostu bir alternatifin benimsenmesi zorunlu olmaktadır. Bitkilerin hastalık yönetiminde kimyasal pestisit kullanımını en aza indirmek ve ürün verimini arttırabilmek için; biyokontrol elemanlarının tanımlanması ayrıca biyotik strese karşı dayanıklılık mekanizmalarının ortaya çıkarılması çok önemlidir (Enebe and Babalola, 2019). Biyokontrol elamanı-patojen-bitki interaksiyonunun anlaşılması, bitki gelişiminin ve biyokontrol verimliliğinin bilime dayalı iyileştirilmesi açısından oldukça önemlidir. Ayrıca bu interaksiyondaki etki mekanizmalarının anlaşılması, muhtemel yeni biyokontrol elemanlarının tescil sürecinde risk değerlendirmesi için de bir gereklilik oluşturmaktadır (Jensen et al., 2016).

Bu çalışmanın amacı; domateste bakteriyel leke hastalığına neden olan *X. euvesicatoria*'a karşı yararlı endofit ve epifit bakterileri kullanarak biyokontrol olanaklarını araştırmaktır. Çalışma üç ana bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde; Sağlıklı domates bitkilerinden *X. euvesicatoria*'a karşı yararlı endofit ve epifit bakteri izolasyonu ve karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. İkinci bölümde; *in vitro* bitki gelişimini artırma ve biyokontrol testlerinde başarı sağlayan aday izolatlarının *in vivo*'da biyokontrol potansiyelleri ve bitki gelişimi parametreleri araştırılmıştır. Üçüncü bölümde, seçilen en başarılı bakteri ile tohuma bioprimingi gerçekleştirilerek uyarılan bitkilerde, *X. euvesicatoria* enfeksiyonu ile birlikte bazı bazal savunma yanıtları moleküler düzeyde araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Fitomikrobiyom ve Yararlı Bakteriler

Bitkiler evrensel ve sürekli olarak kendi habitatları içinde bulunan mikrobiyal topluluklar (mikrobiyomlar) ile yaşarlar (Mueller and Sachs, 2015). Mikrobiyom tanımını bazı araştırmacılar; belirli bir habitatteki mikroorganizmaların genom kümeleri olarak ifade ederken (Bulgarelli et al., 2013) birçok araştırmacı belirli bir habitatta kolonize olan mikrobiyal topluluklar bütünü (Orozco-Mosqueda et al., 2018) olarak tanımlamaktadır. Bu konukçu ile ilişkili mikrobiyal topluluklar (mikrobiyomlar) konukçu yüzeylerinde gelişir, birçok doku tipinde yaşar ve hem hücreler arası hem de hücre içi konukçu habitatlarını kolonize eder (Mueller and Sachs, 2015).

Son yıllarda yapılan biyolojik araştırmalar, konukçu ile ilişkili mikrobiyal toplulukların (mikrobiyom) çok hücreli organizmaların sağlığı için çok büyük öneme sahip olduğunu göstermiştir. Bitkilerde kolonize olan mikrobiyal topluluklar onları patojen enfeksiyonlarına karşı koruyabilir (Berg et al., 2005). Bitki rizosferi veya herhangi bir hayvanın bağırsağında konukçusu ile ilişkili olarak gelişen mikrobiyal topluluklar kendi konukçularının sağlığını etkileyebilir (Haney et al., 2015). Bu nedenle bitki mikrobiyomu içerisinde bulunan muhtemel yararlı türler bitki sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Fitomikrobiyom; bitki ile ilişkili, kökler, sürgünler, yapraklar, çiçekler ve tohumlar gibi bitkinin farklı dokularında yaşayabilen, gelişebilen ve bunlarla etkileşime girebilen mikrobiyal topluluklar olarak tanımlanabilir (Orozco-Mosqueda et al., 2018). Tarla koşullarında büyüyen bir bitkinin sadece tek bir birey olarak değil, topluluk olduğunu ve bitkilerin ilişkili olduğu mikrobiyal toplulukların koşullarının iyileştirilmesinden aynı zamanda potansiyel olarak zararlı olanların varlığını en aza indirmesini kontrol etmelidir (Smith et al., 2017).

Fitomikrobiyomlar, bakteri, fungus, protozoa, arkea ve virüsler de dahil olmak üzere birkaç farklı organizmadan oluşur ancak bu mikrobiyal topluluklar arasında genellikle bakteriler daha dominant bir şekilde var olmaktadır (Mueller and Sachs, 2015). Bitki mikrobiyomları; (i) Rizosfer (mikrobiyal toplulukların

yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu ve bitki eksüdatlarından etkilendiği dar bir toprak bölgesi), (ii) Fillosfer (bitkinin toprak üstü dokularının yüzeyi ve apoplastı), (iii) Endosfer (endofitik mikrobiyal toplulukların yaşadığı bitki dokularının iç bölgeleri), ve (iv) Rizosfer dışındaki yığın toprakta (kök metabolitlerinin mikrobiyal toplulukları etkileyemediği, ancak bu toplulukların yine de bitki kökleri üzerinde bir miktar etki yaratabildiği rizosferin dışındaki toprak) yaşarlar (Orozco-Mosqueda et al., 2018).

### 2.1.1 Rizomikrobiyom

Karasal bitkiler tarafından karşılaşılan en karmaşık kimyasal, fiziksel ve biyolojik etkileşimlerden bazıları, kökler ve rizosfer arasında meydana gelen etkileşimlerdir. Rizosferdeki bitki köklerini içeren etkileşimler arasında kök-kök, kök-böcek ve kök-mikroorganizma etkileşimleri bulunur (Bais et al., 2006). Son yıllarda, bu farklı etkileşim ve sinyalizyon mekanizmaları bilimsel çalışmalar ile anlaşılmaya çalışılmaktadır.

Bitki köklerini çevreleyen ve bitki kök salgılarından doğrudan etkilenen dar toprak bölgesi olan tanımlanan rizosfer, çok sayıda mikroorganizma ve omurgasız ev sahipliği yapar ve dünya üzerindeki hareketliliğin en fazla olduğu ara bölgelerden biri olarak kabul edilir. Rizosfer mikrobiyotasında bulunan organizmaların, agroekosistemdeki bitkilerin büyümesi, beslenmesi ve sağlığı üzerinde derin etkileri olabilir (Philippot et. al, 2013).

Biyolojik çeşitlilik rezervleri açısından toprak mikrobiyal toplulukları geniş bir yayılım gösteriler ve 30.000'den fazla prokaryotik tür içerebilirler. Bitkiler kök ve toprağın bulunduğu ortak yüzeyde (rizosferde) fotosentetik karbonlarının %21'ine kadarını dışarı atarlar, böylece mikrobiyal toplulukları beslerler ayrıca aktivitelerini ve çeşitliliklerini etkilerler (Mendes et al., 2011). Bitkiler ve rizosfer mikroorganizmaları arasındaki etkileşimle ilgili çalışmalar patojenler, simbiyotik azotu fikse eden bakteriler ve mikorizal funguslar üzerine odaklanmıştır, ancak diğer toprak mikroorganizma gruplarının bitki büyümesini ve sağlığını etkileyebileceğine dair kanıtlar vardır (Jambhulkar et al., 2015; Remigi et al., 2016).

Rizosferdeki bakteri popülasyonu, rizosfer dışındaki yığın toprağa göre 100-1000 kat daha fazladır. Bunun nedeni, bu tür bakterilerin kök eksüdatlarını verimli bir şekilde farklı formlara dönüştürmek ve kullanmak için metabolik çok yönlülüğe sahip olmasıdır. Genel olarak, rizosfer bakterilerinin yaklaşık %2-5'i bitki büyümesini teşvik eder. PGPR'ların çoğunluğu *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Frankia*, *Serratia*, *Thiobacillus*, *Pseudomonas*, ve *Bacillus* cinsine bağlıdır (Goswami et al., 2016).

Bitkinin kökü veya yakın çevresini içeren rizosferinde, bol miktarda bakteri vardır ve kök yüzeyinin %15'i çeşitli bakteri türlerine ait mikrobiyal popülasyonlarla kaplıdır (Goswami et al., 2016). Çoğunlukla bakteriyel popülasyonlar, mikro koloniler şeklinde bulunurlar. Bu rizobakterilerin bazıları sadece bitki kökü tarafından salgılanan besinlerden faydalanmakla kalmaz, aynı zamanda bitkiyi doğrudan veya dolaylı bir şekilde olumlu yönde etkiler, bu da bitki büyümesinin uyarılmasına neden olur. Bu bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) faydalı etkilerine göre sınıflandırılabilir. Makro ve mikro besinleri çözünür hale getiren ve bitkiler için biyolojik yararlanımını artıran organik asitleri ve diğer ikincil metabolitleri salgılayarak biyogübre olarak kullanılırlar. Azot ve fosfor, bitki büyümesi için gerekli makro besin maddelerinden ikisidir. PGPR'lar havanın serbest azotunu toprağa bağlayarak, topraktaki azot miktarı sınırlandırıldığında bitki büyümesini arttırabilir. Bitkiler için topraktaki fosfor yüksek oranda kullanılabilir değildir. Yararlı mikroorganizmalar, sitrik, glukonik ve malik asit gibi organik şelatörler aracılığıyla fosforu harekete geçirir. Bu asitlerin salgılanması, toprak pH'ında bir düşüğe ve bitkinin yararlanabildiği HPO<sub>4</sub> üretimine neden olur. Fitostimülatör olarak PGPR'lar, oksinler, sitokininler, gibberellinler, etilen ve absisik asit gibi beş ana fitohormon üretiminin kontrolü ile bitkilerin büyümesini doğrudan teşvik edebilir. Ayrıca çeşitli patojenik organizmaların farklı bölümlerini degrade eden enzim gibi antibakteriyel ve antifungal bileşikler salgılayarak biyokontrol elemanı olarak, bitkileri fitopatogenik organizmaların enfeksiyonlarına karşı koruyabilir.

İnokulant olarak tarımsal üretimde PGPR'lerin büyük ölçekli uygulanması, genellikle çevreyi kirleten kimyasal gübre ve pestisit kullanımını önemli ölçüde

azaltacağı için cazip olacaktır. Buna ek olarak, PGPR'lerin uygulanması tarımsal ürünlerin verimliliğini artıracak ve böylece büyüyen dünya nüfusunun beslenmesine yardımcı olacaktır. PGPR'lar piyasaya sürülmesi giderek artmaktadır. Ancak, bu PGPR izolatlarının, yararlı etkilerinin moleküler temeli ve bu özelliklerin biyotik ve abiyotik faktörlerden etkilenme mekanizmaları anlaşılırsa, optimal olarak kullanılabilir olacaktır (Bloemberg and Lugtenberg, 2001; Lucke et al. 2020).

### 2.1.2 Filomikrobiyom

Filosfer, bitkilerin toprak üstü kısımlarını içeren ve yaprakların hakimiyetinde olan bölgeleridir (Vorholt, 2012). Filosferde kolonize olan nüfusa epifit denir (Lindow and Brandl, 2003). Bakteri, fungus ve mayaları içeren mikrobiyal epifitler veya epifitik mikroorganizmalar, bitki yaprağı ve meyve yüzeylerinde hayatta kalabilen ve gelişebilen olarak da tanımlanabilir (Leveau, 2006). Filosfer, bakteri (Mazinani et al., 2017), fungus (Fiss et al., 2000) ve maya (Sipiczki, 2006; Wang et al., 2016), protistler (Flues et al., 2018), algler (Zhu et al., 2018) ve bakteriyofajlar (Balogh et al., 2018) dahil olmak üzere çok çeşitli organizmalar tarafından kolonize edilir.

Tomurcuk ve çiçek kolonistleri hakkında bazı araştırmalar yapılsa da, filosfer mikrobiyolojisi üzerine yapılan çalışmaların çoğu yapraklara odaklanmıştır. Bakteriler, en yoğun popülasyonda olan yaprak kolonistleridir ve yaprak yüzeyinde ortalama  $10^6$  ile  $10^7$  hücre/cm<sup>2</sup> (en fazla  $10^8$  hücre/gram kadar) sayılarda bulunurlar (Lindow and Brandl, 2003). Filosfer bakterilerinin büyük bir bölümünü Proteobacteria filum'una bağlı türler oluşturur iken, bunu Firmicutes, Actinobacteria ve Bacteroidetes filumuna bağlı üyeler izler (Delmotte et al., 2009; Knief et al., 2012; Rastogi et al., 2012). Filosferdeki fungus popülasyonunun toplam boyutu henüz tahmin edilmemiştir, ancak bakteriyel popülasyona göre daha düşük olması beklenmektedir (Vorholt., 2012).

Tek yıllık bitkiler yaşam döngülerini tek bir büyüme mevsiminde tamamlarken, çok yıllık yaprak döken bitkiler her yıl benzer zamanlarda yaprak oluşturur ve dökerler, yaprak dökmeyen bitkiler ise; yaprak değişimlerini yıl

boyunca sırayla gerçekleştirirler. Sonuç olarak filofiler, toprakta bitki köklerinin etrafındaki alanı oluşturan rizosferin aksine, kısa ömürlü bir ortam olarak kabul edilebilir. Mikrobiyal epifitler atmosfer ile sürekli bir ilişki içerisinde, böylece doğrudan güneş ışığından ve dolaylı olarak bitki metabolizmasından etkilenirler. Ayrıca, bitkinin epidermal hücrelerini kaplayan hidrofobik mumsu kütikül, suyun buharlaşmasını ve bitki metabolitlerinin sızmasını azaltır, böylece oligotrofik bir ortamla sonuçlanır (Vorholt., 2012). Filosferde bulunan epifitik mikrobiyal yoğunluk çeşitli biyotik ve abiyotik faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösteren bir değerdir (Leveau, 2006). Yaprak bakteri topluluklarının büyük bir kısmı örneğin toprakda yerel olarak korunur ve filofiler çeşitliliğinin önemli bir kaynağı olarak rol oynar. Bununla birlikte, filofiler bakterilerinin küçük bir kısmını kaynağını hava ve diğer bitkiler oluşturur. Toz parçacıkları, bitki artıkları ve polenler ile bütünleşen epifitler, rüzgar erozyonu ve yağmur damlalarının sıçramasıyla uzun mesafeler dağılabilirler (Shakir et al., 2021). Ayrıca yayımda böcek vektörleri de etkili olabilmektedir (de Vega and Herrera, 2013).

Genel olarak, epifitler biyofilm benzeri büyüyerek kolonileşirler. Bakteri kümeleşmelerinin en yoğun olduğu bölgeler, yaprak sızıntıları kaynaklı besin açısından daha zengin bölgeler olduklarından dolayı, trikolar, damarlar ve epidermal hücre alanlarıdır. Dış kütikülün varlığı ve fizyolojisi, mikroorganizmaların bu bölgeleri kolonileştirmesine yardımcı olur. Kütikül tabakasında alifatik bileşiklerin varlığı, yaprak yüzeyinin fizikokimyasal özelliklerini belirleyerek mikroorganizmaların yapışmasını kolaylaştıran geçirgenlik ve ıslanabilirlik sağlar. Bu bölgenin su geçirgenliği, epifitlerin hayatta kalması ve büyümesinde hayati bir rol oynar. Besinlerin suyla birlikte süzülmesi sonucu daha yüksek su ve besin penetrasyonuna sahip yaprak yüzeyi oluşması, bakteri toplulukları tarafından yoğun şekilde kolonizasyon gerçekleşmesi ile sonuçlanır (Sivakumar et al., 2020).

### **2.1.3 Endofit organizmalar**

Endofitler, bitkilerin canlı dokularında, görünüşte olumsuz etkiler vermeden büyüyen fungus veya bakterilerdir. Yeryüzündeki yaklaşık 300.000 kara bitki türünün her birinin bir veya daha fazla endofit türü içerdiği

düşünülmektedir. Bu beklenen çeşitliliğe rağmen, bu organizmaların çok azı karakterize edilmiştir. Birçok endofit, diğer organizmaların büyümesini engelleyen biyoaktif doğal ürünler yapar ve bazı durumlarda bitki tarafından üretilen aynı savunma amaçlı doğal ürünleri sentezleme yeteneği kazanırlar. Sonuç olarak, endofitler tıpta, tarımda ve endüstride kullanılmak üzere potansiyel yeni ürünler kaynağıdır (Smith et al., 2008).

Bakteriyel endofitler 'Canlı bitki dokularında, sürekli kalıcılık sağlamanın yanında önemli bir zarar vermeden veya fayda sağlamadan yaşayan bakteriler' olarak tanımlanmışlardır (Hallmann et al., 1997). Endofit mikroorganizmalar genellikle rizosferden veya filozferden gelmektedir ve bitkilere doğal açıklıklar veya yaralar yoluyla girerler ve ayrıca selüloz, pektinazlar ve proteinaz gibi farklı enzimler kullanarak bitki hücre duvarını çözer ve bitkiye penetrasyon gerçekleştirirler. Rizosferden bitkiye giriş yapan bakteriler, kök ucundaki ilk kolonizasyondan sonra, yukarı doğru göç ederler ve koloni oluşumu için farklı bitki dokularına ulaşırlar (Rana et al., 2020).

Endofitik bakteriler, agronomik ürünleri, çayır bitkilerini, yabani ve çok yıllık bitkileri içeren çeşitli bitki konukçularından ayrıca kök, gövde, yaprak, tohum, meyve, ovül ve yumru gibi bitkinin birçok farklı kısmından izole edilmiştir. Özellikle köklerin, yer üstü dokulara kıyasla daha fazla sayıda bakteriyel endofite sahip olduğu belirlenmiştir (Afzal et al., 2019). Genel olarak;  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ -Proteobacteria sınıflarını içeren, Proteobacteria şubesine bağlı endofitlerin dominant türler olduğu bildirilse de, Firmicutes ve Actinobacteria üyeleri de devamlı olarak endofitlerin belirlendiği sınıflar arasındadır. Bacteroidetes, Planctomycetes, Verrucomicrobia ve Acidobacteria gibi diğer sınıflar endofitler olarak daha az bulunur. En yaygın bulunan bakteriyel endofitler: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Microbacterium* cinslerine bağlıdır (Santoyo et al., 2016).

Konukçu ile ilişkili mikroorganizmalar, konukçusunu çevre aracılığıyla horizontal (yatay) olarak veya ebeveynden yavruya vertikal (dikey) olarak aktarılabilir. Bitki dokularının içinde yaşayan endofitik mikroorganizmalar, genellikle tohumlar aracılığıyla vertikal veya atmosfer aracılığıyla horizontal

olarak taşınabilir. Belirli endofit fungus grupları için (*Epichloë* ve *Neotyphodium* fungal endofitleri) tohumlar yoluyla vertikal taşınması yaygın iken, çoğu bakteriyel endofitin muhtemelen yatay olarak iletiildiği düşünölmektedir. Bunun nedeninin birincisi, steril koşullar altında yetiştirilen tohumlar ve fidelerdeki bakteri çeşitliliği tipik olarak toprakta yetişen bitkilerdeki çeşitlilikten daha düşüktür, bu da endofitlerin çoğunun çevreden elde edildiğini düşöndürmektedir. İkincisi, endofitlerin yararlı özellikleri genellikle birbirleri ile uzaktan akraba olan bitkilere de aktarılabilir ve bakteriyel endofitlerin birçok harbitata gelişebilen genel organizmalar olduğu kabul edilir (Frank et al., 2017).

## **2.2 Yararlı Bakterilerin Biyolojik Kontroldeki Rolü**

Yararlı bakteriler, bitki büyümesinin doğrudan geliştirilmesinde, biyotik ve abiyotik (Tiwari et al., 2016; Khan et al., 2016) streslerin azaltılmasında, tarımsal ürönlere besin sağlanması, fitohormon üreterek bitki büyümesinin uyarılması, toprak yapısının iyileştirilmesi, inorganik bileşiklerin biyoakümülyasyonu ve ayrıca biyoremediasyona kadar değişen bir dizi olayda rol oynar (Mahmood et al., 2016) Yararlı bakteriler, bitki patojenlerinin biyokontrolü için tarımsal ürönlere uygulanır ve burada çeşitli mekanizmalar aracılığıyla hareket ederler. Bu mikrobiyal biyolojik kontrol elemanları, hedeflenen patojen ile ekolojik bir niş veya substrat için rekabet oluşturarak veya patojenin optimum gelişebilmesi için gerekli koşulları inhibe edici alelokimyasalları üreterek doğrudan ya da konukçu bitkide geniş patojen spektrumuna karşı direnci indükleyerek dolaylı yoldan bitkiler ile etkileşime girerler (Compant et al., 2005, Köhl et al., 2019). Öncelikle yararlı bakteriler arasında sinyal veren bileşikler aracılığıyla bir şekilde iletişim kurulur ve böylelikle yararlı bakterilerin biyofilm oluşumu ile birlikte bitkinin patojene karşı, doğrudan veya dolaylı olarak savunmasının hazırlanmasına veya dayanıklılığın indüklenmesi ile sonuçlanan bir dizi metabolik olay düzenlenir (Mhlongo et al., 2018).

### **2.2.1 Ekolojik bir yer ve substrat için rekabet**

Bitki patojenlerinin çimlenmesi ve büyümesi besin alımına bağlıdır (Agrios, 2005). Kök yüzeyi ve çevreleyen rizosfer, önemli karbon merkezleridir.

Bu bölgelerde fotosentez ile oluşmuş molekül varlığı %40'a varan oranlarda yüksek olabilir (Compant et al., 2005). Bitki kökleri, organik asit, amino asit, şekerler, vitamin, fenolik, flavonoid bileşikleri içeren çeşitli besinler salgılar. Bu maddeler, toprakta bulunan mikroorganizmalar için temel besinlerdir (Dakora and Phillips 2002). Bu nedenle, kök yüzeyleri boyunca, fitopatojenler de dahil olmak üzere çok çeşitli mikroorganizmaları çeken çeşitli uygun besin açısından zengin nişler vardır (Compant et al., 2005). Mikroorganizmaların yaşam döngülerinin önemli bir bölümünde bu eksojen besinlere olan bağımlılığı nedeniyle; patojen ve yararlılar arasında oluşacak besin ve yer rekabeti temel biyokontrol mekanizmasını oluşturmaktadır. Potansiyel biyokontrol elemanları; bu tür nişleri işgal edebilmeli, hayatta kalabilmeli ve bitki yüzeylerinde ve bitki kalıntılarında şekerler, bitki eksüdatları gibi patojen enfeksiyonu için gerekli olan besin kaynaklarını hızla tüketebilmelidir, böylece patojen popülasyonu azalacaktır (Köhl et al., 2019). Filosferde, çok daha düşük karbon varlığı nedeniyle mikrobiyal varlık sınırlı olmasına rağmen (Mercier and Lindow, 2000), muhtemel filosfer toplulukları arasındaki karbon rekabeti de biyokontrol açısından önemli rol oynamaktadır (Innerebner et al., 2011).

Buz çekirdeği oluşturan *Pseudomonas syringae* ırklarının kontrolüne karşı epifitik bakteriler ile yapılan çalışmada, antibiyosiz mekanizmasının önemli bir özellik olmadığı (Lindow, 1988) belirlenmesi üzerine *P. syringae* popülasyon büyüklüğünün karbon kaynakları için rekabet ile daha fazla sınırlandırılacağı gözlemlenmiştir (Wilson, and Lindow, 1994a). Bunun sonucu, biyokontrol etmeninin etkinliğinde, patojen ve biyokontrol etmeni arasındaki beslenme benzerliği ile belirleneceği hipotezi ile niş kesişme indeksi (The niche-overlap index (NOI)) oluşturulmuştur. Epifitlerin ekolojik benzerliği, *in vitro* karbon kaynağı kullanım profillerinden türetilen NOI ile tahmin edilmiştir. Hedef patojene göre yüksek NOI' ye sahip bir epifit bakterinin, daha yüksek oranda karbon kaynaklarını kullanarak hedef patojenin önlenmesinde etkili olacağı belirlenmiştir (Wilson and Lindow, 1994b). Yapılan bir çalışmada, fasulyenin filosferindeki *Pseudomonas syringae* ve patojenik olmayan epifitik türlerin (*Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea agglomerans*, *Stenotrophomonas maltophilia* ve *Methylobacterium organophilum*) birlikte yaşama seviyeleri; izogenik bir *P. syringae* izolatu ile gözlemlenenen daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ekolojik

benzerliği, NOI ile belirlenen epifitlerin bir arada bulunma seviyesi, izolatların ekolojik benzerliği ile ters orantılı olduğu saptanmıştır. *P. fluorescens* ve *P. syringae* izolatları birçok karbon kaynağı, *S. maltophilia* ve *M. organophilum* izolatları ağırlıklı olarak organik asit ancak az sayıda amino asit veya karbondhidrat için *Pseudomonas syringae* ile rekabet ettiği belirlenmiştir. *P. aglomerans* izolatları çoğunlukla amino asit ve organik asit için ancak çok az sayıda karbondhidrat için *P. syringae* ile rekabet ettiği saptanmıştır (Wilson and Lindow, 1994b). Başka bir çalışmada, 36 patojenik olmayan filofter bakterisinin NOI' si, *P. syringae* pv. *tomato*' nun neden olduğu hastalığı baskılama yeteneği ile ilişkilendirilmiştir ve karbon kaynağı kullanımındaki benzerliğin hastalığı baskılama kabiliyetini belirlemede önemli olduğu doğrulanmıştır (Ji and Wilson, 2002).

Filosferdeki bakteriyel topluluklarında bazı cinslerin özel besin kullanım koşulları gibi nedenlerle yaygınlıkları daha fazladır. Sıklıkla bulunan bakteriyel cinslerin *Methylobacterium*, *Sphingomonas* ve *Pseudomonas* olduğu saptanmıştır. *Methylobacterium* spp. metanol gibi tek karbonlu bileşikleri metabolize ederek dşuk besinli ortama uyum sağlayabilmesi, *Sphingomonas* spp. Çok çeşitli karbon kaynaklarını metabolize ederek besin kıtlığıyla başa çıkabilmesi ve *Pseudomonas* spp. daha uygun bölgelere ulaşmak için flagellar motiliteyi kullanabilmesi veya efektörler aracılığıyla hücrelerden apoplasta su sızdırabilmesi gibi özel adaptasyon faktörlerine sahip olmaları nedeniyle yaygın buldukları belirlenmiştir (Legein et al., 2020). Yapılan bir çalışmada, sağlıklı dikotil bitkiler üzerinde yaygın bulunan *Methylobacterium* ve *Sphingomonas* izolatlarının *Arabidopsis thaliana*'da *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu hastalık kontrolündeki rolü araştırılmıştır. *Methylobacterium* izolatlarının hastalık gelişimi üzerinde herhangi bir etkisi gözlenmemiştir. Bununla birlikte, çoğu *Sphingomonas* izolatının, hastalık semptomlarını baskılayarak ve patojen büyümesini azaltarak dikkat çekici bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca biyokontrol açısından başarılı olan ve olmayan *Sphingomonas* izolatlarının karbon kaynağı profilleri arasında farklılıkların olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak; substrat rekabetinin bitki koruma açısından aktif bir rol oynadığı ortaya konmuştur (Innerebner et al., 2011). *Arabidopsis thaliana* yapraklarında epifit rekabet gücünü açıklamak için yapılan başka çalışmada; yaprak yüzeyi bileşikleri ve bu

bileşiklerin epifitik yaşamdaki rolleri belirlenmeye çalışılmıştır. Yaprak yüzeylerindeki baskın karbonhidratlar sakaroz, fruktoz ve glikoz olarak saptanmıştır. Bu şekerlerin yoğunluğunda, *Sphingomonas melonis* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* tarafından gerçekleşen epifitik yaprak kolonizasyonundan sonra önemli ölçüde ve spesifik düşüş gözlemlenmiştir. Bu monosakkaritler ve disakkaritleri metabolize etme yeteneğinden yoksun olan *Methylobacterium extorquens* tarafından kolonize edilen yapraklarda şeker düzeyinde azalma gözlenmemiştir (Ryffel et al., 2016).

Karbonhidratlar ve karbon kaynaklarının yanı sıra;  $Fe^{+3}$  iyonlarının düşük çözünürlüğü nedeniyle kısıtlı demir varlığı, mikrobiyal büyüme için sınırlayıcı bir faktör olabilir. Demirin sınırlı bulunduğu ortamlarda mikroorganizmalar büyümelerini sağlamak için, sideroforlar olarak adlandırılan yüksek afiniteli demir bağlayıcı moleküllerin salgılanmasına dayanan güçlü  $Fe^{+3}$  alım sistemleri geliştirmiştir. PGPR sideroforlarının ayrıca topraktaki demir miktarını azaltarak patojen popülasyonlarını baskılayarak bu temel element için rekabete neden olduğu bilinmektedir (Kramer et al., 2020). Mısır tohumlarına siderofor üreten *Pseudomonas*'ların bakterizasyonu ile gerçekleştirilen çalışmada, demir kısıtlı koşullar altında *Pseudomonas* spp. GRP3A ve PRS<sub>9</sub> ırkları *Colletotrichum dematium*, *Rhizoctonia solani* ve *Sclerotium rolfsii* patojenlerine karşı antagonistik etki göstermiştir ayrıca bitki gelişimi ve çimlenme yüzdesinde artış sağlamıştır (Sharma, and Johri, 2003).

## 2.2.2 Bitki Patojenlerinin Gelişimini İnhibe Edici Bileşiklerin Üretimi

Yapılan çok sayıda çalışma, toprak ve bitki ile ilişkili bakteriler tarafından üretilen antibiyotikler, enzimler ve uçucular dahil olmak üzere metabolitlerin, bitki patojenlerinin baskılanmasında kilit faktörler olduğunu göstermiştir (Raaijmakers and Mazzola, 2012).

### 2.2.2.1 Siderofor Bileşiklerin Üretimi

Tüm canlı hücreler için en gerekli mikro element demirdir. Çevrede özellikle toprakta bol miktarda bulunur ve çözünürlüğü düşüktür. Demir, birçok

enzimatik reaksiyon için temel bir kofaktördür. Demir ağırlıklı olarak aerobik ortamda  $Fe^{+3}$  olarak bulunur ve reaksiyonda hidroksitler ve oksihidroksitler oluşturur. Her iki formda çözünemez, bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından kullanılamaz. Mikroorganizmalar, düşük moleküler ağırlıklı (500-1000 Da) demir bağlayıcısı olan,  $Fe^{3+}$ 'ı yüksek afinite ile bağlayabilen ve ayrıca hücre dışı ve hücre içi olmak üzere iki türe ayrılan suda çözünür olan sideroforlar üretir (Rana et al., 2020). Kısacası sideroforlar, demir iyonlarının bağlanabileceği yan zincirlere ve fonksiyonel gruplara sahip küçük peptit molekülleridir (Olanrewaju et al., 2017).

Kültüre alınmış hemen hemen tüm mikroorganizmaların sideroforlar ürettiği bulunmuştur ve şu anda yaklaşık 500 bilinen siderofor yapısı bulunmaktadır. Mikrobiyal türlerin büyük çoğunluğu kültüre alınmamış olduğundan, siderofor yapılarının gerçek çeşitliliğinin bilinenden çok olduğu tahmin edilmektedir. Yapısal özelliklerine ve ligand türlerine bağlı olarak, Fenol katekolatlar, Hidroksamatlar, Karboksilat, Pyoverdine sınıfına ait dört ana bakteri sideroforu ve Rodotorulik asit, Ferrikrom, Fusarininler ait üç sınıf fungal siderofor vardır (Crowley, 2006). En yüksek afiniteli sideroforu üreten mikroorganizmalar, rizosferi verimli bir şekilde kolonize ederken, düşük afiniteli sideroforlar üreten mikroorganizmalar elimine edilir (Palaniyandi et al., 2013).

Siderofor biyosentezi genellikle demire duyarlı Fur proteinleri, genel düzenleyiciler GacS ve GacA, sigma faktörleri RpoS, PvdS ve FpVI, N-açıl homoserin lakton gibi quorum sensing otoindükleyicileri ve bölgeye özgü rekombinazlar tarafından düzenlenir (Saraf et al., 2014). Bununla birlikte, bazı veriler, bu genel düzenleyicilerin hiçbirinin siderofor üretimine dahil olmadığını göstermektedir. GacS ve RpoS, *Enterobacter cloacae* tarafından sentezlenen sideroforların seviyesini önemli ölçüde etkilememiştir (Saleh and Glick. 2001). RpoS, *Pseudomonas putida* WCS358 izolatu tarafından siderofor üretiminin düzenlenmesinde yer almadığı belirlenmiştir (Kojic et al., 1999). Demir seviyesi, pH, demir iyonlarının formu, diğer iz elementlerin varlığı ve yeterli miktarda karbon, nitrojen ve fosforun varlığı gibi çok sayıda çevresel faktör siderofor sentezini de modüle edebilir (Saraf et al., 2014).

Hücrenin içinde  $Fe^{+3}$  sideroforlar için düşük afiniteye sahip olan  $Fe^{+2}$  ye enzimatik indirgenme reaksiyonu ile dönüştürülür ve hücre içinde serbest bırakılarak mikrobiyal büyümeyi desteklemek için kullanılabilir hale gelir. Yararlı bakterideki demir tutma etkinliği, rizosferdeki demir konsantrasyonunu azaltabilir ve böylece diğer mikropların büyümesini önleyebilir. Bu sadece rizosferdeki besinler için rekabeti azaltmak ve faydalı bakterilerin kalıcılığını daha da artırmakla kalmaz, aynı zamanda biyokontrol uygulamalarının da temelini oluşturur (Saraf et al., 2014). Ayrıca, sideroforların bitki immünesini uyaran elisitör olarak görev aldığı (Pršić and Ongena, 2020) ve böylece bitkilerde sistemik direnci indükleyerek hastalığı baskılamada etkili olduğu belirlenmiştir (Bakker et al., 2007). 1990'larda yapılan bir çalışmada turpta *Fusarium solgunluğuna* karşı, *Pseudomonas fluorescens* WCS374 ırkı tarafından üretilen pyoverdinin sistemik direncin indüklenmesinde rol oynadığı belirlenmiştir (Leeman et al., 1996). *Pseudomonas fluorescens* WCS374r' nin pirinçte (*Oryza sativa*) *Magnaporthe oryzae*' ye karşı ISR tetiklemeden sorumlu kritik belirleyici olarak bir psödobaktin tipi sideroforun rol oynadığı saptanmıştır. WCS374r'den elde edilen psödobaktinin (Psb374) kök uygulaması ile, patojen giriş bölgelerinde fenolik bileşiklerin hızlı alınımı, çeşitli yapısal savunmaların ifadesi ve hidrojen peroksit oluşumunun zamanında hiperindüksiyonu gibi birçok yönlü savunma yanıtının oluşmasında etkili olduğu gözlemlenmiştir (De Vleeschauwer et al., 2008). Başka bir çalışmada, *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 ve mutantları, KMPCH (Pyochenin ve pyoverdin negatif) ve KMPCH-567 (Pyochenin, pyoverdin ve salisilik asit negatif)'nin, bağda *B. cinerea*' ya karşı savunma mekanizması incelenmiştir. Mutantlar patojene karşı kısmi direnç oluşturmuştur. Her iki mutant da asma hücrelerinde düşük seviyede fitoaleksinin oluşumuna neden olurken, KMPCH fitoaleksinin oluşumu için asma yapraklarını hafifçe uyarmıştır. Fitoaleksinin yanıtının oluşumunda SA, pyochelin ve/veya pyoverdinin önemi vurgulanmıştır (Verhagen et al., 2010).

Siyanojenik floresan *Pseudomonas*'lar ile yapılan bir çalışmada, güçlü bir şelater 8-Hidroksikinolin (50 mg/l) varlığında siderofor üreten izolatların tohum primingi ile gerçekleştirilen tarla denemelerinde nohutta *Sclerotium rolfsii*'nin neden olduğu sap çürüklüğünü azaltmıştır ve bitki gelişiminde artma gözlenmiştir (Kotasthane et al., 2017). Soya fasulyesi epifiti *Pseudomonas syringae* pv.

*syringae* 22d / 93 ırkının, bakteriyel yanıklık etmeni *P. syringae* pv. *glycinea*'e karşı etkinliğinde siderofor üretimin etkili olduğu belirlenmiştir. Siderofor-negatif mutant *P. syringae* pv *syringae* 22d / 93 ırkının popülasyon büyüklüğü, patojen inokulasyon sonrası mutant olmayan ırktan 2 kat daha düşüktür. *P. syringae* pv. *syringae* 22d / 93' ün siderofor-negatif mutantları, bakteriyel yanıklığın gelişimini azaltsada, siderofor üretimi, epifitik bulunma yeteneği ve dolayısıyla antagonistin rekabet gücünü arttırdığı saptanmıştır (Wensing et al., 2010).

### 2.2.2.2 Antibiyotik Üretimi

Antibiyotikler, mikroorganizmalar tarafından üretilen kimyasal olarak heterojen organik grup, düşük moleküler ağırlıklı bileşikler kapsar. Düşük konsantrasyonlarda antibiyotikler, diğer mikroorganizmaların büyümesi veya metabolik aktiviteleri için zararlıdır (Raaijmakers et al., 2002). Birçok yararlı bakteri, diğer bakteri ve fungusu ortadan kaldırarak rekabet avantajı sağlayan birden fazla antibiyotik (lipopeptitler gibi antibiyotik özelliklere sahip biosümfaktan aktif maddeler dahil) üretir (O'Brien et al., 2017). Biyokontrol bakterileri tarafından üretilen antibiyotiklerin çoğu geniş spektrumlu aktivite sergiler (Raaijmakers and Mazzola, 2012). Genel olarak, biyokontrol çalışmalarında yararlı bakterilerin sentezlediği antibiyotiklerin hastalık bastırmadaki rolü farklı iki çeşit metod ile belirlenmiştir. İlk yöntemde, antibiyotik sentezleyen ve sentezleme yeteneği olmayan mutant bakterileri izolatları, eşzamanlı olarak bitkilere uygulanmış ve mutant bakteri izolatları uygulamalarında hedef fitopatojenlerin neden olduğu hastalığı önleme yeteneğinin tamamını veya büyük bir kısmını kaybettiğini belirlenmiştir. İkinci yöntemde, yararlı bakterilerden spesifik antibiyotikleri izole etmenin ve saflaştırmanın mümkün olduğu durumlarda, saflaştırılmış antibiyotiklerin yararlı bakteri izolatının kendisiyle aynı fitopatojen spektrumunu inhibe ettiği belirlenmiştir (Olanrewaju et al., 2017).

Floresan *Pseudomonas*'lar tarafından üretilen phenazine türevleri, biyolojik savaş çalışmalarında rol aldığı belirlenen ilk antibiyotiklerdir. Antibiyotiklerin bu rolleri, phenazine-1-carboxylate üretiminde hataya neden olan transpozon insersiyon mutasyonları ile aydınlatılmıştır. Bu mutasyon ile hastalık

baskılayıcı aktiviteleri azalır (Ramadan et al., 2016). *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas chlororaphis* türlerinde rhamnolipid ve phenazine sentezi genlerinin bozulması, bu türlerin *Verticillium microsclerotia*' yı baskılama yeteneklerinin önemli ölçüde azaltmasına sebep olmuştur (Debode et al., 2007).

Geçtiğimiz yıllarda, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces* spp. gibi farklı bakteri cinslerini temsil eden çeşitli biyokontrol izolatlarından amfisin, 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG), oomycin A, phenazine, pyoluteorin, pyrrolnitrin, tensin, tropolone, oligomycin A, kanosamine, zwittermicin A, ve xanthobaccin gibi çok sayıda antibiyotik izole edilmiştir (Raaijmakers et al., 2002).

Bakteriler tarafından üretilen diğer bir güçlü antibiyotik sınıfı, lipopeptitlerdir. Yapısal özelliklerinden dolayı, bu bileşikler amfifiliktir, peptidazlar ve proteazlar tarafından hidrolize dirençlidir ve oksidasyona ve nispeten yüksek sıcaklıkların etkisine karşı duyarsızdır. Kimyasal yapıya bağlı olarak, lipopeptitler linear veya siklik olabilir. Siklik lipopeptidler üç sınıfa ayrılır: (i) sürfaktinler; (ii) iturinler (iturin A, mikosubtilin ve basilomisin); ve (iii) fengisinler (plipastatin). Lipopeptidlerde bulunan antimikrobiyal, insektisidal, antikarsinojenik ve immüniteyi uyarma gibi çeşitli özellikler bitki korumadaki sorunların çözülmesinde kullanılacak umut var bir alternatif oluşturmaktadır (Maksimov et al., 2020). Sürfaktinler, bitki yüzeylerindeki hücrelerin hareketliliğinde, biyofilm oluşumunu tetiklemede ve bitki savunmalarının indüksiyonunda önemlidir. Bu nedenle, cyclic lipopeptid antibiyotik genlerinin inaktivasyonu, sadece antibiosisin azalmasına değil, aynı zamanda biyofilm oluşturma yeteneğinin de azalmasına yol açar. Bu nedenle antibiyotikler, patojenleri baskılamak için birçok yolla hareket eder (O'Brien et al., 2017). Endofit *Bacillus velezensis* 9D-6 izolatının, *Clavibacter michiganensis*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas campestris* ve *Xanthomonas euvesicatoria*' ya karşı antibakteriyel özellikleri, sürfaktin B ve sürfaktin C sentezi ile ilişkilendirilmiştir (Grady et al., 2019). Domates ve fasulye bitkisinde *B. subtilis* 168 izolatının sürfaktin ve fengisin sentezleyen mutanlığı *B. subtilis* 2508 hastalık insidansında önemli azalma sağlamanın yanında önemli bir ISR göstergesi olan Lipoxygenase (LOX) enzim aktivitesinde artışa neden olmuştur (Ongena et al., 2007).

Biyokontrol çalışmalarında, antibiyotiklerin genellikle mikroorganizmaların büyümesini engellemekten başka ek rollere sahiptir. Antibiyotiklerin sistemik dayanıklılığı uyarda rol oynadığı yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır. Arabidopsis'te *P. fluorescens* tarafından *P. syringae* pv. *tomato*'a karşı uyarılmış sistemik dayanıklılığın (Induced Systemic Resistance, ISR), 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) üretimine bağlı olduğu belirlenmiştir. Saf bileşik DAPG' nin uygulamasının ISR' yi tetiklediği ve DAPG üretmeyen mutantlar ile bitki de direnci indüklemediği belirlenmiştir (Weller et al., 2004). Phenazine bileşiği piyosiyanın' in indüklenen dirençteki rolünü incelemek için, bir piyosiyanın negatif mutanı *P. aeruginosa* izolatu, domateste *B. cinerea*' ya direnci indükleyemezken, *P. aeruginosa* 7NSK2-562 (Pch-negatif, SA-negatif, piyosiyanın-pozitif) ile birlikte aşılama için direnç indüklenmiştir (Audenaert et al., 2002). *Pseudomonas* sp CMR12a'nın fenazin üretimi bozulmuş mutantları, pirinçte *Magnaporthe oryzae*'e karşı sistemik direnci indükleme yeteneklerini tamamen yitirirken, 0,1 veya 1 µM konsantrasyonda saf fenazin-1-karboksamid (PCN) toprağa içirme şeklinde uygulandığında direnç indüklenmiştir (Ma et al., 2016).

### 2.2.2.3 Bitki Hormonu Üretimi

Fitohormonlar, bitkiler tarafından sentezlenen, sinyal molekülleri olarak görev yapan ve hücre uzaması, doku farklılaşması, hücre bölünmesi ve hücre içi iletişimi gibi bitkilerin çeşitli fizyolojik süreçlerini etkileyen maddelerdir (Cassán et al., 2014). Bitki hormonları, genellikle nanomolar konsantrasyonlarda hareket ederler ve oksinler, sitokininler, giberellinler, absisik asit ve etilen olarak adlandırılan 'klasik hormonlar', temelde beş gruptan oluşur. Jasmonatlar, salisilatlar, strigolaktonlar, brassinosteroidler, poliaminler ve bazı peptitler, bitki hormonlarının yeni aileleri olarak kabul edilmiştir (Munné-Bosch and Müller, 2013). Birçok bilimsel çalışmada, bakterilerin bitki büyüme hormonlarının salgılanmasını uyarma ve büyümeyi teşvik edici aktivitelerini artırma yeteneklerini olduğu belirlenmiştir (Vurukonda et al., 2018). Bakteriler tarafından üretilen bu hormonlar, bitki büyümesini uyarabilir, inhibe edebilir veya bitki büyümesinin düzenlenmesini sağlayabilir. Bitki hormonları en önemli büyüme düzenleyicileri arasındadır; bitkinin ikincil metabolizması üzerinde önemli bir

etkiye sahip oldukları bilinir ayrıca streslere karşı bitki savunma mekanizmalarının uyarılmasında hayati bir rol oynarlar. Yararlı mikroorganizmalar tarafından bitki büyümesinin ve stres toleransının iyileştirilmesinin mekanizmalarından biri, rizosferde veya kök dokusunda fitohormon sentezleme yetenekleridir (Kumar et al., 2019).

Kök büyümesi ve gelişimindeki değişiklikler, bitkileri optimal veya stresli ortamlara adapte etmek için çok önemlidir. Kök büyümesinin rizobakteriyel uyarımı, çoğunlukla indol asetik asidi (IAA - oksin sınıfının en yaygın, doğal olarak oluşan bitki hormonu) sentezleme kapasiteleri aracılığıyla kabul edilir (Kudoyarova et al., 2019). Bakteriyel IAA, ideal bir konsantrasyon aralığında olduğunda yan ve birincil köklerin sayısını ve uzunluğunu artırırken kök tüy oluşumunu uyarır (Duca et al., 2014). Fiğ bitkisine *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* LPR1105 ve 14 kat daha fazla IAA salımı yapan mutant *Rhizobium leguminosarum* bv *viciae* RD20 izolatı aşılansmıştır. IAA üretimi yüksek olan *R. l. viciae*, RD20, LPR1105 izolatına kıyasla 60 kata kadar daha fazla fiğ kök nodül gelişimine neden olmuştur. RD20' den elde edilen nodüllerin bitki başına sayıca daha az olduğu, ancak kuru ağırlık olarak daha yüksektir ve büyümüş olduğu belirlenmiştir (Camerini et al., 2008). Kanola'da, oksin üretimi azaltılmış mutant *Pseudomonas putida* izolatları ile yapılan uygulamalarda, bakteri uygulamalarının kök büyümesi üzerine büyümeyi teşvik edici etkisininin azaldığı belirlenmiştir (Patten ve Glick, 2002).

Sitokinin, bitki hücre bölünmesini ve bazı durumlarda kök gelişimini ve yan kök oluşumunu uyarır (Frankenberger and Arshad 1995). *Sesbania rostrata* kök nodüllerinden izole edilen *Methylobacterium* sp. NPFM-SB3 izolatı indol-3-asetik asit ve sitokinin üretti ayrıca pirinç bitkilerine uygulama sonucunda çok sayıda yan kök oluşturduğu belirlenmiştir (Senthilkumar et al., 2009). Sitokinin eksikliği olan *Pseudomonas fluorescens* G20-18' in mutantları *Arabidopsis*' te *P. syringae* enfeksiyonunu biyokontrolün de azalmaya neden olmuştur ancak bitki gelişimi üzerinde hiçbir etkisi olmadığı belirlenmiştir (Großkinsky et al., 2016).

Bitkilerde absisik asit (ABA) kısmen kloroplastlarda sentezlenir ve tüm biyosentez öncelikle yapraklarda gerçekleşir. Absisik asit üretimi, kuraklık ve

düşük sıcaklıklar gibi abiyotik stresler ile artar. Absisik asidin stoma kapanmasını uyardığı, kök büyümesini etkilemeden sürgün büyümesini inhibe ettiği, tohumları protein depolamak ve dormansi için indüklediği, proteinaz inhibitörleri için gen transkripsiyonunu indükleyerek patojen savunması sağladığı rapor edilmiştir (Gopalakrishnan et al., 2015). Mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada *Pseudomonas putida* FBKV2 izolatı kuraklık koşullarında uygulandığında, absisik asit (ABA) ve oksin sinyalizasyonunun aşağı yönlü regülasyonunu doğrulanmıştır. Ayrıca kuraklık toleransında anahtar unsurlar olarak hareket edebilen,  $\beta$ -alanin ve kolin biyosentezi, ısı şoku proteinleri ve LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteinlerinde yer alan genler, *P. putida* FBKV2 izolatı uygulamalarında yukarı yönlü regüle edildiği belirlenmiştir (SkZ et al., 2018).

### 2.2.3 Diğer Potansiyel Mekanizmalar

Ekolojik niş içindeki patojen-antagonist rekabeti yalnızca besin mücadelesiyle değil, başka mekanizmalar ile de gerçekleşebilir. Çin lahanasında *Bacillus brevis* uygulaması, yaprak yüzeylerinin hızlı kurummasını sağlayarak *Botrytis cinerea*' yı %68 oranında azaltmıştır. Antagonistler tarafından, biosürfaktan gibi maddelerin salgılanması yoluyla yaprak ıslaklık sürelerinin değişimi, patojen ve antagonist arasında herhangi bir doğrudan etkileşim olmaksızın, hastalıkların önlenmesi için güçlü bir etki şekli olabilir (Köhl et al., 2019).

Mikroorganizmalar çok sayıda hidrolitik enzim üretir ve bu enzimler aracılığıyla patojenlere karşı hiperparazitik aktivite sergileme yeteneğindedirler (Compant et al., 2005). Bakterilerin salgıladıkları hücre dışı enzimler (kitinaz ve  $\beta$ -1,3-glukanaz) özellikle hücre duvarının parçalanma görevi ile ilişkilidir (Goswami et al., 2016). Bu enzimler arasında kitinazlar bulunur. Mikrobiyal kitinazlar, birçok zararlı ve patojenin hücre duvarlarını zayıflatır ve bozar, böylece antibakteriyel, antifungal, insektisidal veya nematisidal aktivite sergiler. Kitinolitik mikroorganizmalar, insektisit ve fungusit uygulamaları gibi çevreye daha zararlı uygulamaların yerine geçme potansiyelleri nedeniyle dikkat çekmektedir (Veliz et al., 2017). Kitinaz aktivitesine sahip ve inek gübresi

mikroflorasından elde edilen *Bacillus subtilis* izolatları, tatlı patatesten *Fusarium oxysporum* ve *Botryodiplodia theobromae* enfeksiyonunu %83'e varan oranda inhibe etmiştir. Taramalı elektron mikroskobu ile, fungal hücre duvarının tamamen parçalandığını doğrulanmış ve hücre duvarlarının parçalanmasının kitinaz üretiminden kaynaklandığını öngörülmüştür (Swain et al., 2008).

Hidrojen siyanür (HCN), birçok rizobakteri tarafından sentezlenen ve birçok organizma üzerinde güçlü bir etkiye sahip olan uçucu bir ikincil metabolittir. HCN, elektron taşınmasını inhibe eder ve hücredeki enerji mekanizmasını bozar, bu da canlı organizmaların ölümüne yol açar. *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* türleri de dahil olmak üzere birçok bakteri cinsi HCN üretme yeteneğine sahiptir (Abd El-Rahman et al., 2019)

#### **2.2.4 Dayanıklılığın Uyarılması ve Savunma Yanıtlarının Aktivasyonu**

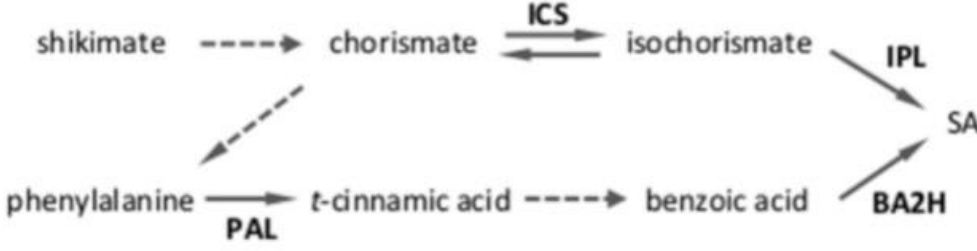
Evrimsel süreçte, patojenler ve bunların bitki konukçuları arasında zikzak modeli olarak tanımlanan çok katmanlı bir saldırı ve savunma ilişkisi gelişmiştir. Patojen, bitkilerin dış yapısal savunma engellerini geçip, ilk enfeksiyonu gerçekleştikten sonra bitkinin sistemik savunma yanıtlarını aktive edip uzak kısımlarını koruyabilir (Bürger and Chory, 2019). Patojenin Savunma yanıtlarının aktivasyonunda öncelikle; mikropların moleküler yapıları, apoplastta, patern tanıma reseptörleri (PRR) olarak adlandırılan bir dizi plazma zarına bağlı immünite sensörleri tarafından yüksek özgüllük ve hassasiyetle saptanır. Bu PRR'ler, mikrobiyal uygunluk için önemli işlevleri koruyan bu nedenle, türler arasında geniş çapta korunan ve mikropla ilişkili moleküler yapılar (MAMP'lar) olarak adlandırılan, makro moleküllerin epitoplarını bağlar. MAMP'ın PRR tarafından bağlanması, iyon akışları, oksidatif patlama ve fosforilasyon kaskadı gibi yanıt veren hücrelerde dakikalar içinde immünite ile ilişkili erken olayları başlatır. Ayrıca, hücre duvarı kalınlaşması ve fitoaleksinler olarak adlandırılan antimikrobiyal enzimlerin ve ikincil metabolitlerin üretimi gibi sınırlı savunma mekanizmaları uyarılır. Bu PRR ilişkili savunma yanıtı [pattern tetiklemeli bağışıklık (PTI)], yüksek transkripsiyonel aktivasyon ile daha güçlü savunma yanıtlarının oluşmasını sağlaması nedeniyle önemlidir. Bununla birlikte, patojenler, PTI'yi azaltmak ve bu ilk savunma yanıtını yıkmak için konukçu

hücrelere yollanan protein efektörlerini kullanır. Buna karşılık, bitkiler, bu efektörlere müdahale eden R (direnç) proteinleri adı verilen hücre içi sensörler geliştirmiştir. Bu efektör tarafından tetiklenen bağışıklık tipine (ETI) olarak adlandırılır (Pršić and Ongena, 2020).

Genel olarak; bitki yanıtları, salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA) ve etileni (ET) içeren üç anahtar sinyal molekülü aracılığıyla düzenlenir. ve dayanıklılığın uyarılması iki ana türe ayrılabilir: sistemik kazanılmış dayanıklılık (Systemic Acquired Resistance, SAR) ve sistemik uyarılmış dayanıklılık (Induced Systemic Resistance, ISR). SAR, patojenler ve çeşitli kimyasallar (örn. Acibenzolar-S-metil, ASM) ile indüklenebilir ve salisilik aside (SA) bağlı bir süreç aracılığıyla gerçekleşir. ISR, yararlı mikroorganizmalar ile uyarılır ve jasmonik asit (JA) ve etilene (ET) bağlı sinyal yolağı izlenir (Walters et al., 2013). İndüklenen direnç, bitki hormonlarının önemli bir düzenleyici olarak rol oynadığı birbirine bağlı sinyal yolları tarafından düzenlenir (Pieterse et al., 2012). İndüklenmiş direnç terimi, bitkilerde biyolojik veya kimyasal indükleyiciler tarafından tetiklenen ve henüz herhangi bir patojenin ya da böceğin saldırısına maruz kalmamış bitki dokularını gelecekteki saldırılara karşı koruyacak olan direncin uyarılması durumunu tanımlayan genel bir terimdir. Bitkiler, bir patojenin neden olduğu enfeksiyon sonucu, böcek beslenmesine yanıt olarak, köklerin yararlı mikroorganizmalar ile kolonizasyonu sonucu veya belirli kimyasal uygulamalarından sonra dayanıklılıklarını uyarılabilir. (Pieterse et al., 2014).

Jasmonik asit (JA), salisilik asit (SA) ve etilen (ET) gibi bitki hormonları bitki savunma yanıtlarının düzenlenmesinde önemli bir düzenleyici olarak rol oynar ve bitki ile ilişkili mikrobiyomların modüle edilmesinde kritik öneme sahiptir (Smith et al., 2009; Carvalhais et al., 2015; Pieterse et al., 2012, Lebeis et al., 2015). SA, JA ve ET' in yanı sıra, absisik asit (ABA), oksinler, gibberellinler (GA), brassinosteroidler ve sitokininlerdir (CK) içeren diğer bitki hormonları bitkide gerçekleşen sinyalizasyonda doğrudan veya dolaylı rolleriyle katkıda bulunurlar (Pieterse et al., 2012). Bitki immünite yanıtlarında sinyalizasyon ağının modüle edilmesinde, hormonların çapraz konuşma varolduğuna inanılır ve

bitkilere büyümeleri ve korunmaları için gerekli olan savunma yanıtlarının oluşmasını sağlamaktadırlar (Pieterse et al., 2014).

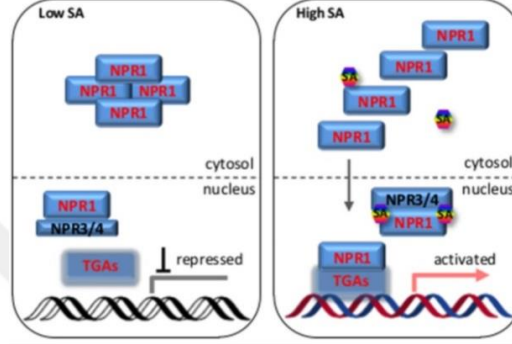


Şekil 2.1 SA biyosentez ve sinyalizasyon yolağı (Li et al., 2019)

SA biyosentezinde isochorismate veya phenylpropanoid yolağı kullanılır (Şekil 2.1). Ancak her iki mekanizmada da shikimate yolağından elde edilen kimyasal chorismate'a gerek vardır. SA biyosentezi için phenylpropanoid yolağı, phenylalanine 'in (Phe) trans-cinnamic aside dönüştürülmesiyle başlar (t-CA), phenylalanine ammonia lyase (PAL) tarafından katalize edilir. t-CA daha sonra sorumlu enzimin henüz bilinmediği benzoik aside (BA) dönüştürülür. SA daha sonra benzoic acid 2-hydroxylase (BA2H) tarafından katalize edilen BA' dan üretilir. Yapılan birçok çalışmada, isochorismate yolağının, çoğunlukla patojen kaynaklı SA birikiminden sorumlu olduğu bildirilmiştir. isochorismate yolağı, plastidlerde meydana gelir. İlk olarak, ICS1 enzimi, chorismate-isochorismate dönüşümünü sağlar ve isochorismate daha sonra isochorismate pyruvate lyase (IPL) tarafından SA' ya dönüştürülür (Li et al.; 2019). ICS1 ekspresyonunu düzenleyen, SARD1 (SAR-deficient 1), CBPg60 (calmodulin-binding protein 60-like g) (Zhang et al., 2010) ve WRKY28 (van Verk et al., 2011) gibi birkaç transkripsiyon faktörü izole edilmiştir.

Sistemik dokularda, SAR, redoksle düzenlenen protein Non-Expressor of Pr Genes1 (NPR1) aracılığıyla, salisilik asit hormonunun (SA) artan seviyeleri ile karakterize edilir ve savunma yanıtlarında yer alan geniş bir Patogenez ile ilgili (PR) gen setinin ekspresyonunu aktive eder (Pieterse et al., 2014). İndüklenmemiş düşük SA seviyelerine sahip hücrelerde, NPR1 oligomer olarak sitozolde kalır, NPR3 ve NPR4, NPR1 fonksiyonunu önlemek için çekirdekteki kalan NPR1' i bağlar. Hücrel redoks durumunda SA kaynaklı değişiklikler, NPR1' in monomerizasyonunu kolaylaştırır, ardından çekirdeğe taşınır. Transkripsiyonel

engel aktivitelerini bloke etmek için SA, NPR3 ve NPR4' e bağlanır (Li et al., 2019; Şekil 2.2). SA ile aktive olan hücrelerde, NPR1, WRKY transkripsiyon faktörleri ile birlikte SA'ya cevap veren savunma genlerinin promotörlerine bağlanan ve bunların aktivasyonu ile sonuçlanan TGA transkripsiyon faktörleri ailesinin üyeleri ile etkileşime girer böylece savunma yanıtlarının aktivasyonuna yol açar (Pieterse et al., 2014).



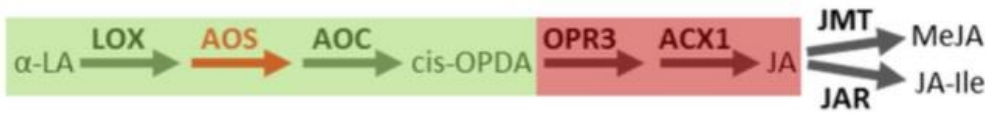
Şekil 2.2 SA sinyal yolağı modeli (Li et al.; 2019)

Patojenik olmayan mikropların ISR' yi tetikleyebileceğinin keşfinden beri, bu olayın arkasındaki moleküler mekanizmayı araştıran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Geniş etkililiği nedeniyle, rizobakteri aracılı ISR' nin başlangıçta patojen kaynaklı SAR' a mekanik olarak benzer olduğu düşünülüyordu. Ancak Arabidopsis'te *P. fluorescens* WCS417r-ISR' nin sistemik yaprak dokusunda PR geni aktivasyonu olmaksızın geliştiği gösterilmiştir. SA biriktiremeyen transgenik Arabidopsis NahG bitkilerinin test edilmesi, *P. fluorescens* WCS417r-ISR' nin SA' dan bağımsız bir sinyal yolu tarafından aracılık edildiğine ve artan SA seviyeleri ile örtüşmediğine dair genetik kanıt sağladı. Böylece, rizobakterilerin aracılık ettiği ISR' nin ve SAR' dan farklı sinyal yolları tarafından düzenlendiği sonucuna varılmıştır (Pieterse et al., 2014). Bununla birlikte, sinyal yollarının PGPR, patojen ve konukçu bitki türüne bağlı olarak farklılık gösterdiği ve JA/ET (ISR) yolağını değil, SA yolağını kullanan PGPR' ların varlığı rapor edilmiştir (van de Mortel et al., 2012; Takishita et al., 2018). SAR' dan farklı olarak ISR, JA ve ET' ye yanıt veren savunma ile ilgili genlerin ekspresyonu ile sonuçlanır (Mathys et al., 2012) ve mutlaka PR proteinlerinin birikimini içermez. SAR ve ISR terimleri eş anlamlı olmasına rağmen pragmatik nedenlerle, indüklenen direnç bir patojen tarafından tetiklendiğinde veya SA' ya bağlı olduğu

gösterildiğinde SAR' a ve indüklenen direnç yararlı bir mikroorganizma tarafından tetiklendiğinde veya SA' dan bağımsız olduğu gösterildiğinde ISR olarak değerlendirilir (Pieterse et al., 2014). SAR' dan farklı olarak ISR, JA ve ET' ye yanıt veren savunma ile ilgili genlerin ekspresyonu ile sonuçlanır (Mathys et al., 2012) ve mutlaka PR proteinlerinin birikimini içermez.

Bir tür sinyal molekülü olarak fitohormonlar, biyotik stres yanıtlarında önemli bir rol oynar (Legein et al., 2020). SA ile birlikte bitki hormonları JA ve ET' de bitki bağışıklık sisteminin önemli düzenleyicileridir. JA veya ET sinyalizasyonu bozulmuş Arabidopsis mutantları kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda, JA ve ET' nin rizobakteri aracılı ISR' nin regülasyonunda merkezi oyuncular olduğu kanıtlanmıştır (Pieterse et al., 2014).

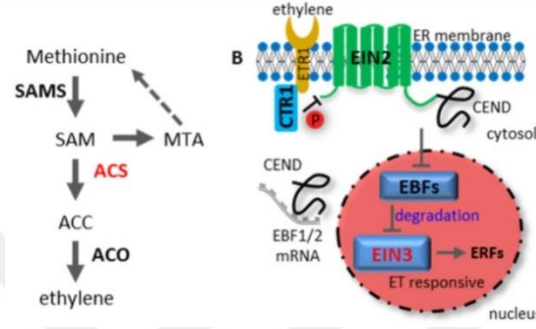
Jasmonat (JA) ve türevleri, bitki savunma ve gelişiminin düzenlenmesinde önemli roller oynayan oksijenli lipid (oksilipinler) bazlı hormonlardır. JA' nın biyosentezi, kloroplastlarda lipid substratı olan linolenic acid oksijenlenmesiyle başlar. 13-lipoxygenase (LOX), allene oxide synthase (AOS) ve allene oxide cyclase (AOC) tarafından katalize edilen bir dizi reaksiyonun son ürünü 12-oxophytodienoic (OPDA)'e dönüşür. Kloroplastlarda üretilen OPDA, peroksizomlara taşınır, burada daha sonra OPDA Reductase 3 (OPR3) tarafından indirgenir ve acyl-CoA-oxidase 1 (ACX1) tarafından oksitlenerek JA oluşumuna neden olur. JA sentezine katılan genler, JA tarafından indüklenebilir, böylece pozitif bir geri besleme döngüsü sağlar. Peroksizomlarda üretilen JA sitozole taşınır (Li et al., 2019; Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Jasmonat biyosentez ve sinyalizasyon yolağı (Li et al.; 2019)

Etilen (ET), bitkilerde savunma yanıtlarının düzenlenmesinde rol oynayan önemli bir sinyal molekülüdür (Ju and Chang, 2015). Çoğunlukla, bitki etilen sentezi, patojenik enfeksiyonun şiddeti ile artar. Yüksek etilen seviyeleri ile hastalık semptomlarında artma veya bir çevresel baskıyı şiddetlendirme

yeteneğine sahiptir (Yim et al., 2014). ET, bitki büyüme düzenleyicisi olarak kabul edilen gaz halindeki bir hormondur ve biyosentez yolağı, amino asit metionin ile başlar. 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) sentaz (ACS), S-adenosil metionini (SAM) ACC' ye dönüştüren ET biyosentezinin hız sınırlayıcı bir enzimdir. Bu nedenle, ACS aktivitesinin düzenlenmesi, ET üretiminin sıkı kontrolünü sağlar (Li et al., 2019; Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Etilen biyosentez ve sinyalizasyon yolağı (Li et al.; 2019)

Fitohormon üretmeye ek olarak, birçok PGPB, bitki etilen seviyelerini düşürebilen ACC deaminaz enzimine sahiptir (Glick, 2014). ACC deaminaz enzimini üreten bakteriler, bitki tarafından sentezlenen ACC' yi karbon ve nitrojen kaynakları olarak doğrudan kullanabilir ve aynı zamanda bitki dokularındaki ACC seviyelerini düşürebilme yeteneği gösterirler. ACC deaminaz enzimi, genel olarak rizosferik ve endofitik PGPB'ler ve bazı bitki patojenleri dahil olmak üzere bitki ile ilişkili bakteriler de *acdS* olarak adlandırılan tek bir gen tarafından kodlanır. Yararlı ACC deaminaz üreten bakteriler, bitki büyümesini ve gelişimini artırır ve ayrıca inhibitör ACC ve ET seviyelerini azaltarak çok çeşitli biyotik ve abiyotik streslere karşı bitki toleransını artırır (Nascimento et al., 2018).

Bitki savunma genleri, bitki savunmasından sorumlu proteinleri kodlar. Olası öncüler ve kodlanmış proteinler arasında UDP-glukosiltransferaz, ERF' ler ve WRKY' ler gibi transkripsiyon faktörleri, kalsiyum sinyal reseptörleri, hormonlar, patogenezele ilgili proteinler (PR), fitoaleksinler, peroksidaz ve lignin sentaz bulunur (Kumar et al., 2021; Huang et al., 2022). Biyokontrol elemanları ile dayanıklılığın uyarılan bitkilerde, kallos, lignin ve fenoliklerin birikiminde artış (Nawrocka et al., 2018), Peroksidaz (POD), Polifenol oksidaz (PPO),

fenilalanin amonyak liyaz (PAL), kitinaz aktivitelerinde artış (Magnin-Robert et al., 2007) gözlemlenir. Pirinç kabuğu yanıklığına neden olan *Rhizoctonia solani*'ye karşı *Bacillus amyloliquefaciens* (SN13), gelişmiş savunma yanıtı oluşturarak, patojene karşı toleransı uzatmıştır. SN13 ile priming yapılmış bitkilerde, gözlemlenen uzun süreli stres toleransı hormonal çapraz konuşma, terpen sentazın ifade seviyesinin artması, ferrik redüktazların ve hipoksi ile indüklenen proteinlerin ekspresyonu yoluyla ROS ve ROS radikallerinin dengesi, ikincil metabolitlerin üretimi, immünite sistemini aktif tutmak için elisitörlerin sürekli devamlılığının sağlanması ile gerçekleştiği tespit edilmiştir (Srivastava et al., 2016).

### 2.3 Priming

Bitkiler, çevrelerinden gelen uyarı veya sinyalleri (patojen, PGPR, kimyasallar, abiyotik stres vb.) algıladıktan sonra immün sistemlerini uyararak doğuştan gelen direnç mekanizmalarını aktive ederler. Priming olarak tanımlanan bu yanıt mekanizması; birincil bir indükleyici uygulandığında bitkinin ikincil streslere karşı direncini artıran ve indüklenmiş, tetiklenmiş veya aktive edilmiş durum olarak tanımlanabilen süreci ifade eder. Priming, bitkilerin savunma kapasitesini artıran uyarlanabilir bir stratejidir. Priming yapılmış bitkiler, fizyolojik, transkripsiyonel, metabolik veya epigenetik düzeyde değişiklikleri tetikleyerek sonraki streslere karşı daha verimli ve hızlı yanıt gösterir. Priming aracılı savunma, bitkinin yaşam döngüsü boyunca devamlı olabilir ve korunabilir ve hatta sonraki nesle aktarılabilir (Bukhat et al., 2020).

Priming olayları, rizobakteriler, mikorizal funguslar, virüent veya avirüent patojenler, doğal veya aksenik bileşiklerin aracılık ettiği indüklenmiş dayanıklılık meknizmaları aracılığıyla bireyler arası veya türler arası iletişimin bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Balmer et al., 2015). Bitkilerde mikrobiyal priming ile, biotik ve abiotik streslere lokal ve sistemik savunma yanıtlarını daha hızlı ve sağlam bir şekilde aktive ederek, artan stres toleransını sağlar (Mauch-Mani et al., 2017). Bakterilerin faydalı etkilerinin keşfedilmesinden bu yana, farklı tarımsal ürünlerin verimliliğini artırmak için farklı yöntemler ile bakteriyel uygulamalar gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler arasında tohum kaplama, peletleme, yaprak

uygulaması ve doğrudan toprak uygulaması yer alır. PGPR aracılığıyla tohuma priming, tohumların sıvı bakteri süspansiyonu içinde bir süre bekletilmesi ile gerçekleştirilir ve tohum içindeki fizyolojik süreçleri başlatır (Mahmood et al., 2016). Tohum biyoprimingi, biyopolimerler gibi yardımcı maddelerin kullanımıyla gerçekleştirilir. Biyopolimerler, tohum biyopriminginde taşıyıcı veya kaplama ajanları olarak işlev gören polimerik maddelerdir. Kullanılan en popüler biyopolimerler, yüksek moleküler ağırlığı ve monosakkarit bileşimi nedeniyle polisakkaritlerdir (Mishra et al., 2018). Tohum biyopriminginde yaygın olarak kullanılan biyopolimer karboksimetilselülozdur (Sing et al., 2016).

İnorganik fosforu çözme ve siderofor, indol asetik asit ve hidrojen siyanür üretme yeteneğine sahip *Pseudomonas* sp. 23S izolatu ile domates bitkileri uyarılmıştır ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e(Cmm) karşı antagonistik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. *Pseudomonas* sp. 23S'ün toprak uygulaması ile bioprimingi gerçekleştirilmiş ve Cmm doğrudan gövdeye inokule edilmiştir. *Pseudomonas* sp. 23S, hastalığın ilerlemesini önemli ölçüde geciktirdiği ve bitkilerin daha yüksek kuru sürgün ve kök ağırlığına neden olmuştur. *Pseudomonas* sp. 23S' in tek başına PR1a transkriptlerinin seviyesinde önemli bir artışı tetiklediği ayrıca *Pseudomonas* sp. 23S ve Cmm ile uygulama görmüş bitkilerde, PR1a ve ACO transkriptlerinin seviyesi arttığı belirlenmiştir (Takishita et al., 2018). Sağlıklı buğday dokusundan izole edilen, hem *in vitro* hem de *in vivo*'da birçok buğday fungal patojenini baskılayabilen endofitik aktinobakteriler, *Arabidopsis thaliana*' da *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* ve *Fusarium oxysporum*' a karşı hem SAR hem de JA/ET yollarındaki genleri yukarı yönlü düzenlediği belirlenmiştir (Conn et al., 2008).

#### **2.4 Domateste Bakteriyel Leke Hastalığı (*Xanthomonas euvesicatoria*)**

Bakteriyel leke, sıcak ve yüksek bağıl nemin etkili olduğu iklime sahip ekim alanlarında, üründe önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan domates ve biberin yıkıcı hastalıklarından biridir (Jones et al., 1986; Pernezny ve Collins, 1997). Hastalık etmeni domateste %50'ye kadar ürün kaybına neden olabilir ve meyvelerin taze tüketim için pazarlanabilirliklerini engeller (Balogh et al., 2003). Bakteriyel leke hastalığının belirtileri yaprak, gövde ve meyvede gözlenebilir. İlk

belirtiler, düzensiz ve suda haşlanmış yaprak lekeleri olarak görünür. Lezyonlar başlangıçta yeşildir ve daha sonra kahverengileşerek, düzensiz nekrotik lekeler olarak görünür. Lezyonlar çoğunlukla büyük klorotik alanlar ile çevrilidir. Küçük lezyonlar birleşerek büyük lezyonlar oluşmasına neden olur. Birleşmiş büyük lezyonlar yaprak yanıklığı şeklinde görünür ve daha sonra yaprak dökümü meydana gelebilir. Gövde boyunca nekrotik lezyonlar ve kanser benzeri çatlaklar gözlenir. Meyve lezyonları ilk olarak, suda haşlanmış görünümlü küçük lezyonlar olarak başlar, daha sonra lezyonlar genişleyerek kahverengi ve kabuk benzeri pürüzlü lekeler haline gelir. Meyve lekeleri, çeşitli istilacı fungus ve bakteri patojenlerinin giriş kapısı olması sonucunda ikincil meyve enfeksiyonlarına neden olabilir (Ritchie, 2000).

Hastalık açısından primer inokulum kaynağı olarak enfekteli tohumların önemi büyüktür (Goode ve Sasser, 1980). Hastalığın uzun mesafeli yayılması, uluslararası ticareti yapılan kontamine tohumlar aracılığıyla sağlanmaktadır (Giovanardi et al., 2015). Bitki artıkları ve ara konukçularda, enfeksiyonun primer inokulum kaynağı olabilirler (Jones et al., 1986). Ayrıca patojen domates filofitinde epifitik olarak hayatta kalabilir. Latent enfeksiyonlardaki epifitik popülasyonlar, hastalık açısından uygun koşullar oluştuğunda, patojenin yayılmasında önemli bir faktör olabilir (McGuire et al., 1991). Latent enfeksiyonlar özellikle fide üretim tesislerinde, yağmurlama sulama uygulamaları nedeniyle kısa sürede komşu bitkilere hastalığın bulaşmasına neden olabilir (Abrahamian et al., 2021a). Patojen, stomalar ve hidatod gibi doğal açıklıklardan ve yaralar yoluyla konukçuya giriş yapar. Epifit olarak bulunan patojen yaprak yüzeyinde belirli bir popülasyon oluşturduktan sonra, öncelikle yaprak epidermal hücreleri arasındaki ve stomaların etrafındaki çöküntüleri işgal eder, stoma yoluyla bitkiye girer ve daha sonra substomatal bölge ve yaprak apoplastında büyür (Zhang et al., 2009). Hastalık gelişimi için yüksek bağıl nem ve 25 ila 28 °C arasında değişen optimum sıcaklıklar gereklidir (Abrahamian et al., 2021b).

Bakteriyel leke ilk olarak 1914' te Güney Afrika' da domateste saptanmıştır ve *Bacterium vesicatorium* olarak isimlendirilmiştir. Etmenin ilk keşfinden sonra, *B. vesicatorium*' un bakteriyel leke hastalığına neden olan tek etmen olduğu düşünülmüştür ve etmen *Pseudomonas vesicatoria*, *Phytophthora*

*vesicatoria* ve *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* olarak birkaç kez yeniden sınıflandırılmıştır (Potnis et al. 2015). 1990' ların ortalarına kadar domates ve biberde bakteriyel lekeye neden olan tek bir patojen türü olduğu düşünülüyordu ancak hastalığa, *Xanthomonas* türüne ait çeşitli bakteri izolatlarının neden olduğu belirlenmiştir. Grup A ve grup B olarak ayrılan genetik olarak iki farklı grup tanımlanmıştır ve sırasıyla *X. axanopodis* pv. *vesicatoria* ve *X. vesicatoria* olarak yeniden isimlendirilmiştir (Stall et al., 1994, Vauterin et al., 1995). Daha sonra, patojenik ve serolojik olarak A ve B ırklarından ayrı olduğu ve özgün bir DNA bölgesinden oluştuğu belirlenen C olarak adlandırılan üçüncü bir grup oluşturulmuştur. C grubunun ayrı bir grup olduğu fakat A ırkları ile ilişkili olduğu ve grup A'nın bir alttürü olabileceği bildirilmiştir. *X. gardneri* olarak adlandırılan son grup D grubunun, diğer gruplardan genetik olarak farklı olduğu belirlenmiştir; ayrıca domates ve biberde üçüncü bir patojenik *Xanthomonas* türü olduğu bildirilmiştir (Jones et al., 1998). Son yapılan çalışmalar ile, domates ve biberde bakteriyel lekeye, *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. perforans* ve *X. gardneri* olarak isimlendirilen, fizyolojik ve moleküler özellikler açısından farklı dört *Xanthomonas* türünün olduğu bildirilmiştir (Jones et al., 2004a). Bununla birlikte, bakteriyel leke etmenlerinin arasındaki genetik çeşitlilik ve filogenetik ilişkiler incelenerek, bakteriyel lekeye neden olan dört *Xanthomonas* türünün taksonomik konumu ile ilgili revizyonlar devam etmektedir. Bakteriyel leke etmenleri arasındaki ilişkileri netleştirmek amacıyla altı housekeeping gen kullanılarak (*fusA*, *gapA*, *gltA*, *gyrB*, *lacF* ve *lepA*) MLST tabanlı filogenetik analiz ve multilokus sekans analizi (MLSA) sonucu, *X. perforans* ve *X. euvesicatoria* aynı grup içinde yer alarak, türler arası yakın bir filogenetik ilişki gösterdikleri belirlenmiştir (Almeida et al., 2010; Timilsina et al., 2015). Bu nedenle, bu bakteriyel leke etmenlerinin taksonomik pozisyonları değerlendirilmeye devam etmektedir. Yapılan son çalışmalarda, Constantin ve ark. (2016), *X. euvesicatoria* ve *X. perforans*'ı aynı türe ait farklı patovaryolar olarak önermiştir sırasıyla *X. euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* ve *X. euvesicatoria* pv. *perforans* olarak yeniden isimlendirmişlerdir. Prokaryotik organizmalarda belirli bir genom çifti arasındaki benzerlik, ortalama nükleotid benzerliği (Average Nucleotide Identity, ANI) indeksi ile belirlenir, % 95 ve üzeri değerler, bunların aynı türe ait olduğunu gösterir (Figueras et al., 2014). Barak ve ark. (2016), *Xanthomonas euvesicatoria* ve *X. perforans* izolatları arasındaki % 98' in üzerindeki ANI değerlerine göre, bu

izolatların tek bir bakteri türü olduğu ve *X. euvesicatoria* olarak kabul edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Ayrıca; *X. campestris* pv. *raphani* (Vicente et al., 2006)'nin domates ve biberde lezyonlara neden olduğu bildirilmiştir. Ancak *X. campestris* pv. *raphani*'nin oluşturduğu lekelerin *X. vesicatoria* ve *X. axanopodis* pv. *vesicatoria*'nın oluşturduklarından daha büyük olduğu ayrıca bu etmenin turp ve lahanada da yüksek patojenik özellik gösterdiği bildirilmiştir (Vicente et al., 2006). Rusya'da yaprak lekesi ve solgunluk belirtisi görülen domates bitkilerden elde edilen sarı pigmentli bakteri izolatlarının *gyrB* bölgesinin Xc0006-Xc0007 operonlarının çoğaltılması ve sekanslanması sonucu bu izolatların *X. campestris* pv. *raphani* olduğu saptanmıştır (Punina et al., 2009). Ayrıca, Kore'de kahverengi lezyonlar gözlemlenen biber fidelerinden, Tanzanya'da hastalık belirtisi gözlemlenen domates bitkilerinden ve Avustralya'da domates bitkilerinden elde edilen izolatların *Xanthomonas arboricola* olduğu belirlenmiştir (Myung et al., 2010; Mbega et al., 2012a, Roach et al., 2018). Tanzanya'da domates tohumlarından izole edilen sarı pigmentli bakteri kolonilerinin, domates ve bibere re-inokulasyonu sonucu tipik bakteriyel leke belirtisi göstermiştir ve 16S rRNA bölgesinin sekanslanması sonucu *X. arboricola* olabileceği bildirilmiştir (Mbega et al., 2012b). Domates ve biberde bakteriyel lekeye neden olan bakteriyel patojenlerin terminolojisi ve sınıflandırması daha fazla değerlendirilmeye devam edecektir ve taksonomik konuları gelecekte değişebilir.

Dört tür arasında, *X. euvesicatoria*, *X. vesicatoria* ve *X. gardneri* izolatları hem domates hem de biberin patojenleri olarak rapor edilmiştir, *X. perforans* izolatları sadece domatesten rapor edilmiştir (Jones et al. 2004b). Ancak, Florida'daki bir biber tarlasından bir *X. perforans* izolatı izole edilmiştir ve bu durum etmenin konukçu aralığının genişlediğini düşündürmüştür (Potnis et al., 2015). Domates ve biberde bakteriyel lekeye neden olan türler arasında, *Xanthomonas euvesicatoria* dünyanın birçok yerinde varlığı rapor edilmiştir (Potnis et al., 2015; Roach et al., 2018).

## 2.5 Bakteriyel Leke Hastalığının Mücadelesine Yönelik Çalışmalar

Bakteriyel leke hastalığının, birincil yönetim stratejisi patojen içermeyen, sertifikalı tohum veya hastaliksız bitki materyalinin kullanımını içermelidir.

Enfekteli tohumlarını dekontamine etmek için, sıcaklık uygulaması, domates tohumlarında meyve özünün fermantasyonu, biber tohumları için klor / asit uygulamaları gibi işlemler testlenmiştir, ancak bu uygulamalar tohum kalitesini önemli derecede azaltmadan enfekte olmuş tohumlardan patojenlerin tamamen ortadan kaldırılmasını sağlayacak hiçbir yöntem mevcut değildir (Giovanardi et al., 2018). Patojen, konukçu materyal parçalandığında hayatta kalmaz, bu nedenle ekim nöbeti önerilir (Ritchie, 2000). Hastalık ile mücadelede kimyasal savaşım, hem organik olmayan hem de organik tarım üretim sistemlerinde ağırlıklı olarak bakır bazlı bakterisitler ile gerçekleşir. Bakır bazlı ürünlerin, düşük maliyetli ve bulunabilirliğinin kolay olması nedeniyle de sürekli kullanılmaktadır (Griffin et al. 2017). Ancak bakırlı preparatların sık sık uygulanması, 1980'lerden beri etmenin bakıra toleransında azalma bildirilmesine neden olmuş (Marco and Stall, 1983) ve dünyanın birçok bölgesinde bakıra dayanıklı veya toleran *Xanthomonas* spp. ait izolatlarının ortaya çıkmasına neden olmuştur (Martin et al., 2004, Obradovic et al., 2004, Mirik et al., 2007, Shenge et al., 2014, Abbasi et al., 2015). Bakteriyel lekeye karşı arazi ve sera koşullarında, bakır uygulamasının hastalık şiddetini azaltmada etkili olmadığını belirlenmiştir (Abrahamian et al., 2019). Hastalık kontrolü yöntemlerine, mancozeb gibi etilen-bis-ditiokarbamatların eklenmesi daha pozitif sonuç vermesine rağmen hastalık için optimal koşullarda ve bakıra toleranslı izolatlar mevcut olduğunda bakteriyel lekeyi yeterince kontrol edememektedir (Strayer et al., 2016) *Xanthomonas* türlerindeki bu bakır toleransı, domates ve biberde bakteriyel lekenin kontrolü için bakır bazlı ürünlerin kullanılabilirliğini etkileyen bir sorundur (Griffin et al. 2017). Şu anda, ticari olarak temin edilebilen bakır bazlı bakterisitler tipik olarak bakır (II) hidroksit, bakır (II) oksit veya bakır (II) oksiklorür, bazik bakır (II) sülfat ve tiodiazol bakır gibi çözünmeyen bakır bileşikler şeklinde mikron boyutlu metalik bakır içerir (Dong et al., 2020). Ancak bazı nanometre boyutundaki metalik bileşiklerin mikron boyutlu muadilleriyle karşılaştırıldığında daha yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır (Panáček et al., 2006). Bu nedenle şuan farklı bakır kompozitlerinin bitki hastalıklarına karşı kullanılmasına yönelik çalışmalar artmaktadır. Buna yönelik, domateste bakıra toleran *Xanthomonas perforans*'a karşı gelişmiş bakır kompozitleri denenmiştir. Bakır kompozitlerin, arazi çalışmalarında bakır-mancozeb' e kıyasla % 80 daha az metalik bakır kullanarak, hastalık şiddetini önemli ölçüde azalttı belirlenmiştir.

Ancak çalışmada mikron boyutlu bakır bakterisitlerin yıllarca yoğun kullanımı sonucu oluşan bakır direncinin gelişmesini referans olarak bakterinin bakır kompozitlerine karşı da direnç geliştirmesinin muhtemel olabileceği vurgulanmıştır (Strayer-Scherer et al., 2018). Ayrıca domates bitkisinde bazı fungal hastalıklarının kontrolü için tavsiye edilen, Pyraclostrobin, pyraclostrobin + metiram, ve fluazinam aktif maddeler domateste bakteriyel leke için denenmiştir ve umutvar sonuçlar elde edilmiştir. *In vitro* testlerde doğrudan bakterisidal etkisi olmadığı bilinen pyraclostrobin domates yapraklarına püskütüldüğünde, hastalık semptomlarında azalma ve peroksidaz, polifenol oksidaz aktivitesinde artış saptanmıştır, bu durumun direnç indüksiyonu ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Itako et al., 2015).

Tarımsal alanlarda antibiyotik uygulamasına izin verilen bazı ülkelerde, bakteriyel leke kontrolünde antibiyotikler kullanılmıştır. ABD’de streptomisin kullanımı fide üretim alanlarıyla sınırlı olmasına rağmen; Florida ve Kuzey Carolina gibi ABD’deki farklı domates tarlalarında *X. euvesicatoria* popülasyonlarında dayanıklılık rapor edilmiştir. Patojenin bakır gibi antibiyotik dayanıklılık gelişme riski yüksektir (Abrahamian et al., 2021b).

Bakteriyel leke etmenlerinin kontrolüne yönelik, bitki aktivatörleri, küçük moleküllü bileşikler ve nanomateryaller gibi farklı kimyasal yaklaşımlarda bulunmaktadır. Özellikle bakıra toleranslı bakteriyel leke etmenleriyle mücadele etmek için; 2-aminoimidazole (Worthington et al., 2012), N-asetilsistein (Qiao et al. 2021) gibi küçük moleküllü bileşikler antibakteriyel olarak testlenmiş ve arazi denemelerinde bakteriyel leke belirtilerini azaltarak hastalık yönetimi açısından etkili bulunmuştur. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların ana bileşeni ve birçok insan ve bitki patojenine karşı etkili olan, carvacrol [2-metil-5- (1-metiletil) -fenol, C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O] küçük bir moleküldür. *In vitro* (Kotan et al., 2007) ve *in vivo* denemelerde bakteriyel lekeye karşı başarılı bulunmuştur ayrıca carvacrol’ın tohum primingi ile tohum çimlenmesini ve vigor indeksini arttırmada etkili olduğu (Qiao et al., 2020) saptanmıştır. Bir diğer kimyasal strateji, bakteriler de dahil olmak üzere birçok bitki patojeninin patogenezi sınırlandırmak için bitkilerde sistemik kazanılmış direnci (Systemic Acquired Resistance, SAR) indükleyen ve genellikle ‘bitki aktivatörü’ olarak adlandırılan biyoaktif ürünlerin

kullanımıdır. Sentetik SAR indükleyici salisilik asit analogu olan acibenzolar-S-methyl ile yapılan arazi çalışmaları bakteriyel meyve lekesi oluşumu azalmış ve hastalık kontrolü açısından standart bir bakır bakterisit programı (bakır hidroksit + maneb veya mancozeb tank karışımı) kullanılarak elde edilene benzer veya daha başarılı bulunmuştur. Serada gerçekleştirilen çalışmalarda acibenzolar-S-methyl işlemleri ile domates fidelerinde *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* popülasyon yoğunlukları azalmıştır (Louws et al., 2001). Yine de acibenzolar-S-methyl, harpin gibi direnci indükleyen maddelerin tek kullanımları bakteriyel leke semptomlarını tamamen engellemektedir, bu uyarıcıların çeşitli bakır bazlı bakterisit, bakteriyofaj gibi farklı yönetim stratejileri ile entegre bir şekilde kullanımı ayrıca uygulama sıklığının ve oranının optimize edilmesi daha başarılı sonuçlar alınan alternatif bir hastalık yönetim şekli olmaktadır (Louws et al., 2001, Obradovic et al., 2005, Huang et al., 2012). Ayrıca acibenzolar-S-methyl'in domates bakteriyel leke kontrolü için etkinliği belirlenmiş olsa da bazen bitki büyümesinde olumsuz etkilere sahip olduğu ve verime etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Louws et al., 2001; Abbasi et al., 2002). Hastalık şiddeti açısından olumlu sonuçlara rağmen, verim artışı düşük veya önemsiz olduğunda fayda / maliyet oranı negatif olarak kabul edilebilir. Bu amaçla, hem hastalık kontrolü hem de optimal bitki gelişimi için acibenzolar-S-methyl uygulamalarının aralığı ve sayısı arasındaki optimum ilişkinin belirlenmesi gereklidir. Acibenzolar-S-methyl'in çok sayıda uygulanması verimi tehlikeye atabilecek bir enerji harcamasına da yol açabilir. Bakteriyel lekeye karşı domateste acibenzolar-S-methyl uygulamaları arasındaki ideal aralık 8 ila 10 gün olarak belirlenmiştir. 10 acibenzolar-S-methyl uygulaması ile verimde de azalma olduğu saptanmıştır. Hastalık kontrolünde, acibenzolar-S-methyl önleyici olarak uygulanmalıdır. Hastalık baskısının düşük olduğu veya hiç olmadığı koşullar altında direnç indüksiyonu ile ilişkili enerji açığı oluşması sonucu vejetatif büyümenin ve verimin negatif yönlü etkilenebileceği sonucuna varılmıştır (Pontes et al., 2016). Son zamanlarda direnç indükleyici olarak, tarımda plazma aktive edilmiş su (Plasma activated water, PAW) kullanımına odaklanan yeni bir yaklaşım oluşmuştur. Suyun soğuk atmosferik basınçlı plazmaya maruz kalması, sıvı fazda hem reaktif oksijen hem de nitrojen türlerinin üretimini tetikler böylece PAW ile uyarılan bitkilerde metabolik süreçleri, bitki gelişimini ve stres yanıtlarını düzenleyen çeşitli sinyal yollarında değişimler olur (Zambon et al., 2020). Bu

yaklaşım, domateste bakteriyel yaprak lekesine karşı direnç indükleyici olarak PAW testlenmiştir ve *in vitro* deneylerde *Xanthomonas vesicatoria* 'a karşı doğrudan antimikrobiyal aktivite göstermemesine rağmen, *in vivo* denemelerde hastalık şiddetini azaltmada etkili olmuştur. Ayrıca patojen inokulasyonu sonrası ilk 48 saatte PAL (Phenylalanine ammonia-lyase) geninin transkript seviyeleri önemli ölçüde yükselmiştir (Perez et al., 2019).

Nanomateriyallerde son yıllarda bitki hastalıklarına karşı farklı bir alternatif oluşturmaktadır. Işıkla aktive olan nano ölçekli titanyum dioksitin ( $TiO_2$ ), gümüş katkılı nano ölçekli  $TiO_2$  ( $TiO_2/Ag$ ) ve çinko katkılı nano ölçekli  $TiO_2$ ' nin ( $TiO_2/Zn$ ) domates de *Xanthomonas perforans*' a karşı değerlendirilmiştir ve bakır bazlı bakterisitlere kıyasla hastalık insidansını önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Ancak  $TiO_2/Zn$  uygulaması yapılmış iki farklı deneme alanında kısmi yaprak fitotoksitesisi ( $\approx$  %2-10 yaprak alanı) gözlenmiştir. Hastalık kontrolü açısından sonuçlar umut verici olsa da nano ölçekli fotokatalizörlerin bitki hastalık yönetiminde kullanılabilmesi için ek optimizasyon çalışmalarına ihtiyacı olduğu belirtilmiştir (Paret et al., 2013). Nano magnezyum oksidin (Nano-MgO) *in vitro* deneylerde *Xanthomonas perforans*' a karşı, ticari bakır preparatı ile karşılaştırıldığında yüksek antibakteriyel aktivitesi sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca çeşitli çevresel faktörlerin nonapartikülün etkililiğini etkileyebilecek iken, tarla koşullarında yapılan çalışmada da 200 ug / ml konsantrasyonda hiçbir fitotoksitesite belirtisi olmaksızın, hiçbir uygulama yapılmamış kontrole kıyasla bakteriyel leke şiddetinde önemli bir azalma sağlamıştır (Liao et al., 2019).

Patojenin bakıra karşı dayanıklılık geliştirmesi kimyasal mücadelenin etkililiğini azaltmaktadır. Bu nedenle bu patojene karşı dayanıklı çeşit kullanımı ekonomik ve teknik açıdan en pratik mücadele metodudur (Şahin and Miller, 1998). Bakteriyel lekeye karşı genetik dayanıklılığın olması, nispeten uzun vadeli ve daha etkili bir çözümdür. Farklı yabancı hatlarda ve yetiştirilen domates akrabalarında hypersensitive (Aşırı duyarlı) ve non-hypersensitive (aşırı duyarlı olmayan) dayanıklılık tanımlanmıştır ve yetiştirilen domateslere aktarılmıştır. Ancak, tam bir dayanıklılık henüz elde edilememiştir (Sharma and Bhattarai, 2019).

Hastalıkla mücadelede; patojenlerin bakır dayanıklılığının olması, henüz dayanıklı ticari bir çeşit bulunmaması, alternatif kimyasal yaklaşımların umutvar sonuçlar vermesine rağmen fitotoksik etkilerinin giderilmesi için ek optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç olması ve henüz çevresel etkilerinin bilinmemesi nedeniyle sürdürülebilir bir tarım endüstrisi için doğadostu farklı biyolojik ve alternatif yaklaşımlara yönelinmiştir. Hastalığa karşı kompost (Al-Dahmani et al., 2003), uçucu yağ gibi alternatif yaklaşımlara ek olarak bakteriofajlar (Flaherty et al., 2000), doğada doğal olarak bulunan nonpatojenik bakteriler (Byrne et al., 2005) ve PGPR'lar (Ji et al., 2006) gibi biyokontrol elemanları üzerine yoğunlaşmıştır.

Son yıllarda çözümler humatlar ve PGPR'lar ile biyogübreleme, besin alınımında ve abiyotik strese karşı başarılı olması nedeniyle dikkat çekmektedir. Domateste *Xanthomonas euvesicatoria* karşı tek veya kombine şekilde *Herbaspirillum seropedicae* ve hümik asit biyogübre uygulamasının, patojen enfeksiyonu altında kontrole kıyasla sürgün ve kök büyümesini desteklediği ayrıca hastalık şiddetini azalttığı saptanmıştır (da Silva et al., 2021). Yenilikçi bir organik kontrol stratejisi olarak kumari'nin *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* karşı antibakteriyel aktivitesinin olduğu ve yarım doz bakır hidroksit uygulaması ile kombinasyonu sonucu hastalık şiddetinin azalmasını sağladığı belirlenmiştir (Schiavi et al., 2021). Domateste bakteriyel lekeye karşı kompostlanmış inek gübresi, kompostlanmış çam kabuğu, organik çiftlik kompostu veya kompostlanmış bahçe atığından hazırlanan özütler yapraklara püskürtme şeklinde uygulanması sonucu hastalık şiddetinde orta düzeyde ancak istatistiksel olarak önemli bir azalmaya neden olmamıştır (Al-Dahmani et al., 2003).

Biyokontrol elemanlarının, bitkiye uygulanmaları genel olarak tohum primingi, toprağa içirme, fide şaşırtmadan önden köklerin daldırılması, yaprak spreyi veya damla sulama yoluyla gerçekleştirilir (Mahmood et al., 2016). Canlılığı doğrudan etkileyen çevresel koşulların yanı sıra, biyokontrol elemanlarının uygulanma yöntemleri onların hayatta kalma, çoğalma ve kolonizasyon potansiyellerini etkiler (Singh et al., 2020).

Biyokontrol çalışmaları, genellikle çeşitli bitki patojenlerine karşı yararlı mikrobiyal türlerin izolasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu ve bunların antimikrobiyal ve biyokontrol etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik gerçekleştirilmektedir. Arazi koşulları altında doğal olarak *Xanthomonas vesicatoria* ile enfekte olmuş bitkilerden elde edilen tohumların antagonistik *Pseudomonas fluorescens* ile tohuma priming sonucu tohum kalitesini iyileştirmiş ve tarlada bakteriyel leke hastalığı insidansını büyük ölçüde azaltmıştır (Kavitha and Umesha, 2007). Domates tohumlarına *Methylobacterium* spp. ile priming yapılmış bitkilerde *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* baskısı altında hastalık şiddetinde önemli ölçüde azalma ve daha yüksek bitki büyümesi belirlenmiştir. Ayrıca biopriming yapılan örneklerde sadece patojen inokulasyonu yapılanlara kıyasla daha az hastalık insidansı gözlenmiştir. Çalışmada biopriming yapılan bitkilerdeki hastalık şiddetindeki düşüş ACC deaminaz aktivitesi nedeniyle azalmış etilen seviyesinden kaynaklı olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, bu bitkilerdeki  $\beta$ -1,3-glucanase ve PAL savunma enzimlerinde ve bunların ilgili gen ifadelerinde önemli bir artışta saptanmıştır ve düşük etilen seviyesine paralel olarak patogenezele ilgili savunma proteinlerinin artış sonucu bakteriyel lekeye karşı savunma indüklenmiştir (Yim et al., 2014).

Mısırda yapılan bir çalışmada, domates de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın neden olduğu bakteriyel leke hastalığına karşı antagonist *Rahnella aquatilis*'in biyolojik kontrol etkisi araştırılmıştır. Çalışmada *R. aquatilis* strainleri yaprak, kök, toprak ve tohum aracılığıyla uygulanmıştır. *R. aquatilis* uygulanmış tüm fidelerde *X. c.* pv. *vesicatoria*'a karşı duyarlılıkta azalma belirlenmiştir. *R. aquatilis*'in yaprak uygulaması hastalık kontrolünde en etkili yöntem olarak bulunmuştur (El-Hendawy et al., 2005).

Domates de 50 potansiyel biyokontrol ajanının bakteriyel leke hastalığına karşı biyokontrol etkisi araştırılmıştır. Asimptomatik domates yapraklarından izole edilen muhtemel biyokontrol ajanlarının hastalık şiddetini düşürme yetenekleri sera koşulları altında testlenmiştir. Bakteriyel benek hastalığına karşı koruma sağlayan *Pseudomonads*'larda çalışmada testlenmiş ve bu strainlerin bakteriyel leke hastalığını şiddetini azaltmada etkili ve tutarlı olduğu belirlenmiştir. Tüm strainler arasında *Cellulomonas turbata* BT1, hastalık şiddeti

düşürme de en başarılı strain ve *Pseudomonas syringae* Cit7, en tutarlı strain olarak belirlenmiştir (Byrne et al., 2005).

ABD yapılan bir çalışmada; yapraklardan izole edilen biyokontrol ajanları ile bitki gelişimini düzenleyen rhizobacter (PGPR)'lerin integrasyonu ile domates de bakteriyel benek (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) ve bakteriyel leke hastalığına karşı biyokontrol etkileri araştırılmıştır. Sonuçlara göre; PGPR straini olan *Pseudomonas fluorescens* 89B-61 ve *Bacillus pumilis* SE34'in bakteriyel leke hastalığına karşı önemli bir baskı uyguladığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca yaprak biyokontrol ajanı *Pseudomonas syringae* Cit7 ve PGPR straini *Pseudomonas fluorescens* 89B-61'in birlikte kombinasyonu bakteriyel benek ve leke hastalığını önemli derecede (ortalama %53-82 oranında) azalttığı belirlenmiştir (Ji et al., 2006).

Korede yapılan bir çalışmada, biberde bakteriyel leke hastalığına karşı endofit bakterilerin antagonistik aktivitesi ve bitki gelişimini arttırıcı etkisi araştırılmıştır. Sağlıklı biber bitkilerinden elde edilen endofitik izolatlardan, populasyonlarda baskın olma ve her bir biber bitkisini temsil etmesi dikkate alınarak 23 adet EB seçilmiştir. 16S rRNA sekans analizleri sonucu EB izolatlarının, *Ochrobacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Janthinobacterium*, *Ralstonia*, *Arthrobacter*, *Clavibacter*, *Sporosarcina*, *Acidovorax* ve *Brevundimonas* genuslarına ait olduğu saptanmıştır. Bu EB izolatları arasından çalışmanın devamında, biber gövdesinde  $10^6$ - $10^7$  cfu/g seviyelerindeki tutarlı kolonizasyonları nedeniyle PS4 ve PS27 izolatları seçilmiştir ve ek analizler ile bu izolatların sırasıyla *Pseudomonas rhodesia* ve *Pantoea ananitis* olabileceği saptanmıştır. EB kontrole göre hastalık şiddetini düşürdüğünü ve *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'a karşı uyarılmış sistemik dayanıklılığı tetiklediği belirtilmiştir (Kang et al., 2007).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada; *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* 'a karşı *Bacillus* izolatları ile biyolojik mücadele olanakları araştırılmıştır. Sera ve tarlada yetiştirilen biber rizosferinden alınan toprak örneklerinden izole edilen üç *Bacillus* izolatı testlenmiştir. Sonuçlara göre; üç *Bacillus* sp. izolatının tek başına ve onların kombinasyonlarıyla inokule edilen biber bitkilerinde sırasıyla sera

koşulları ve tarla denemelerinde hastalık gelişimini %11-62 ve %38-67 oranlarında azalttığını belirlenmiştir (Mirik et al., 2008).

Çeşitli bitkilerin rizosferinden izole edilen *Paenibacillus polymyxa* izolatlarının bitki gelişimini arttırıcı etkisi ve biberde bakteriyel leke hastalığına karşı ISR (Induced Systemic Resistance) etkisi araştırılmıştır. 29 *P. Polymyxa* straininden sadece KNUC265 izolatının hastalık şiddetini kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında önemli derecede azalttığı saptanmıştır. 29 izolatdan 17'sinin bitki biomass'ında artışı teşvik etmiştir. *P. Polymyxa* KNUC265 izolatının hem bitki gelişimi hemde ISR tetiklemesi nedeniyle; biber ve diğer ürünlerde de verimi arttırabileceği için kullanılabilirliği bildirilmiştir (Phi et al., 2010).

Kore'de yapılan bir çalışmada; Laktik asit bakterilerinin biberde bakteriyel leke'ye karşı biokontrol etkisi sera ve arazi koşullarında incelenmiştir. İnokulasyondan 10 gün sonra yapılan değerlendirmede kontrolle karşılaştırıldığında hastalık şiddeti sera koşullarında %57-73, arazi koşullarında %70-94 oranında azalmıştır (Shrestha et al., 2014).

16 S rDNA sekanslarına göre, *Streptomyces* (DFs1296 ve DFs1315), *Bacillus* (DFs1414, DFs1420 ve DFs1423) ve *Pseudomonas* (DFs1421) genusuna bağlı olduğu tanımlanan altı PGPR izolatı domates tohumlarına kaplanarak ve *Xanthomonas gardneri*'nin kontrolü için testlenmiştir. Sonuçlar doğrultusunda *Bacillus* izolatlarından; DFs1420 önemli derecede hastalık şiddetini azaltmıştır (Naue et al., 2014).

Son zamanlarda biyokontrol ajanlarının kitlesel üretimi için biyoteknolojik süreçlerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar da artmaktadır. Buna yönelik taze peynirden izole edilen *Bacillus velezensis* IP22 izolatı laboratuvar ölçeğinde biyoreaktörde üretildikten sonra, biber bitkisinde *Xanthomonas euvesicatoria*'a karşı biyokontrol ajanı olarak kullanılmış ve bakteriyel leke semptomlarını önemli ölçüde bastırdığı belirlenmiştir (Pajčin et al., 2020). Bitki hastalıkları ile mücadelede biyokontrol ajanlarının biyoproses süreçlerinin adım adım laboratuvar, pilot ve endüstriyel ölçeklerde araştırılarak geliştirilmesi, biyokontrol

ajanlarının tarımsal üretimde biyopreparat olarak kullanımının artmasına katkı sağlayacaktır.

Bakteriyel leke yönetimde biyolojik ve kimyasal yaklaşımların entegre bir şekilde kullanılarak, hastalık için başarı yüzdesi yüksek mücadele programları oluşturmaya çalışılmıştır. Famoxadone, cymoxanil, acibenzolar-S-methyl, ve *Bacillus subtilis* içeren preparatların bakır ve mancozeb ile 14 hafta boyunca arazi denemelerinde farklı oranlarda, tek veya birbirleriyle kombine ve rotasyonlu şekilde uygulandığı spreyleme programları sonucu; famoxadone içeren uygulamalar ve acibenzolar-S-methyl, veya *Bacillus subtilis*'in bakır ile kombine spreyleme programlarında hastalık şiddetinde önemli ölçüde azalmalara neden olmuştur. Bu preparatlar bakteri lekесinin bastırılması için oluşturulacak entegre bir yönetim programında başarılı olabilecek yardımcı alternatiflerdir (Roberts et al., 2008). Biyolojik ajan olarak *Pseudomonas fluorescens*' in süspansiyon ve talk bazlı formulasyonu ile sentetik kimyasal olarak acibenzolar-S-methyl domatese yapraklara püskürtme ve tohuma priming şeklinde tekli veya kombinasyonlar şeklinde testlenmiştir. Hastağı azaltma ve verim parametrelerine göre, *P. fluorescens* süspansiyonunun yaprağı püskürtülmesinin en etkili uygulama olduğu ancak *P. fluorescens* ve acibenzolar-S-methyl'in kombine olarak uygulaması, patojen popülasyonunu azalttığı ve kontrol fidelerine göre fide biyokütlesini arttırmıştır (Abo-Elyousr and El-Hendawy, 2008).

Dayanıklılık indükleyici olarak, canlı bakteri hücreleri dışında; bakteriyel proteinler, lipoproteinler, lipopolisakaritler ve ekzopolisakaritler (EPS) gibi mikroorganizmalardan üretilen moleküllerinde hastalık kontrolünde etkiliğı konusunda çalışılmaktadır. *Lactobacillus plantarum* tarafından üretilen ekzopolisakaritlerin (EPS) domates yapraklarında *Xanthomonas gardneri* şiddetinde kontrol bitkilerine kıyasla %55 azalma sağlamıştır. EPS uygulaması yapılmış bitkilerde patojen inokulasyonu sonrası polifenoloksidaz (PPO), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktiviteleri artmıştır. EPS ile püskürtülen ve patojenle enfekte edilen bitkilerde, kontrol bitkilerine kıyasla fotosentez hızının üç kat daha yüksek olduğu, stoma iletkenliğinin ise %36 daha düşük olduğu belirlenmiştir (Blainski et al., 2018).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Bitkilerin Yetiştirilmesi

##### 3.1.1 Çalışmada kullanılan test bitkisi ve bitki yetiştirme ortamı

Çalışmada *Xanthomonas euvesicatoria*'a karşı yüksek duyarlılık gösterdiği saptanan Torry F1 (Sygenta) domates çeşidi kullanılmıştır. Bitki yetiştirme ortamı olarak steril torf kullanılmıştır.

##### 3.1.2 Bitkilerin *in vitro* olarak yetiştirilmesi

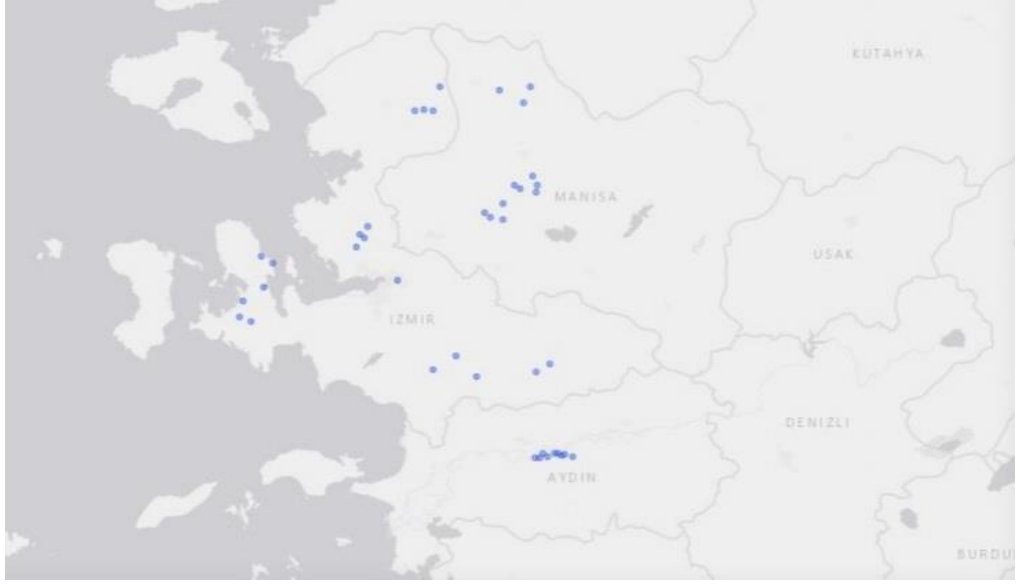
Çalışmada kullanılan Torry F1 domates tohumları 45 gözlü steril torf içeren viyollere ekilmiştir. Bitkiler 3-4 haftalık olduğunda 15 cm çapında steril torf içeren saksılara şaşırtılmıştır. Bitkiler ortam sıcaklığının  $24\pm 1$  °C, oransal nemin %70-80 olduğu, 16 saatlik ışık periyodu (16 saat aydınlık, 8 saat karanlık) koşullarındaki iklim odasında yetiştirilmiştir.

#### 3.2 Çalışmada Kullanılan Bakteriyel Patojen

Bakteriyel test patojeni olarak, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan ve yüksek lisans tezinde virülensliğinin yüksek olduğu saptanan *Xanthomonas euvesicatoria* (182 nolu *Xe*) izolatu (Eryiğit, 2016) kullanılmıştır.

#### 3.3 Yararlı Bakteri İzolasyonu

İzmir, Manisa ve Aydın ilinde domates yetiştiriciliğinin yaygın olarak yapıldığı 40 farklı lokasyondan sağlıklı domates bitkilerine ait kök, gövde ve yaprak örneklerinden yararlı epifit ve endofit bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Yararlı bakteri izolasyonları için bitki örneklerinin toplandığı lokasyonlar

### 3.3.1 Epifit bakteri izolasyonu

Örnekleme yapılan bitkiler arasındaki kontaminasyonu önlemek için laboratuvarında izolasyon yapılana kadar steril plastik kaplarda saklanmıştır. Yaprak yıkama tekniği ile epifitik bakteriler izole edilmiştir. 250 mg'lık taze kök, gövde ve yaprak örneklerine 10 ml steril fizyolojik su (% 0,9 NaCl içeren distile su) eklenerek yarım saat süreyle 120 rpm'de çalkalanmıştır. Elde edilen yaprak yıkama süspansiyonu sırasıyla  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  oranlarında seyreltilmiştir ve 20  $\mu$ L alınarak tryptic soy agar (TSA, Sigma, Germany) ortamına ekilmiştir ve bakteriyel koloniler gelişene kadar 48 saat süreyle  $24 \pm 1$  °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen bakteriyel koloniler morfolojik özelliklerindeki farklılıklar (şekil, boyut, yapı, opaklık, pigmentasyon, yükseklik ve kıvam gibi) dikkate alınarak daha fazla fonksiyonel karakterizasyon için saflaştırılmıştır ve saf izolatlar daha ileri çalışmalar için  $-80$  °C'de %20 (v/v) gliserol içeren Nutrient Broth'ta saklanmıştır (Aneja, 2003; Sánchez-López et al., 2018).

### 3.3.2 Endofit bakteri izolasyonu

Örnekleme yapılan bitkilerde endofit bakteri izolasyonu için; (1) yapışan toprak partiküllerini ve mikrobiyal yüzey epifitlerinin çoğunu gidermek için musluk suyu altında bitki dokusu iyice yıkanmıştır, (2) kalan mikrobiyal

kolonileri kök yüzeyinden uzaklaştırmak için yüzey sterilizasyonu yapılmıştır, (3) steril bir yıkama solüsyonunda aseptik koşullar altında birkaç durulama yapılmıştır ve (4) kök yüzeyinin tam sterilizasyonunu doğrulamak için sterilit kontrolü yapılmıştır. 1-2 cm büyüklüğünde kesilerek hazırlanan kök, gövde ve yaprak örnekleri, 1 ml Tween 20 ilave edilmiş %5 oranında hazırlanmış sodyum hipoklorite daldırılarak 10 dk, daha sonra %70'lik ethanol'e aktararak 5 dk bekletilmiş ve üç kez steril damıtık su ile durulanarak sodyum hipoklorit ve ethanol uzaklaştırılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılan örnekler steril kurutma kağıtlarında kurutulmuştur.

Yukarıda belirtilen işlemlerden sonra bitki örneklerinin üzerindeki epifit bakterilerden tamamen arındığından emin olmak için; üçüncü durulama işleminde kullanılan steril damıtık sudan 0,1 ml alınarak TSA ortamına yayılarak  $24\pm 1$  °C inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonunda herhangi bir bakteriyel gelişmenin olmaması durumunda yüzey dezenfeksiyonunun başarılı bir şekilde yapıldığına karar verilmiştir.

Yüzey dezenfeksiyonu yukarıda açıklandığı şekilde yapılan kök, gövde ve yapraklardan endofit bakteri izole etmek için; dokulara göre tritürasyon ve imprinting yöntemi olmak üzere iki farklı teknik kullanılmıştır. Tritürasyon yöntemi ile endofit bakteri izolasyonu için, 5 g taze bitki dokusu 100 ml fosfat tamponlu tuz solüsyonunda (PBS, 1 litre için: 8 g NaCl, 0,2 g  $KH_2PO_4$ , 1,1 g  $Na_2HPO_4$  ve 0,2 KCl, pH 7.4) stomaker yardımı ile ezilmiştir. Elde edilen süspansiyon  $10^{-1}$ - $10^{-2}$  oranında seyreltilmiş, TSA ortamına ekilmiştir ve bakteri kolonileri görünür hale gelene kadar  $24\pm 1$  °C inkübasyona bırakılmıştır. İmprinting yönteminde ise; 2-3 cm uzunluğundaki kök ve gövde kısımları yüzey dezenfekte edilip kurutulduktan sonra steril bistüri ile kesitler alınmış ve kesitler TSA ortamına aktarılmıştır (Şekil 3.2). Bir saat sonra kök ve gövde kesitleri TSA ortamından alınarak bakteriyel koloniler gelişene kadar 48 saat süreyle  $24\pm 1$  °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Gelişen farklı tipteki koloniler seçilip saflaştırılarak -80 °C'de ve %20 gliserol içeren nutrient broth içerisinde ileri çalışmalarda kullanılmak üzere saklanmıştır (Nejad and Johnson, 2000; Hallmann et al., 2006).



Şekil 3.2 Imprinting yöntemi ile domates bitkisinin gövde ve kök kısımlarından kesitler alınarak gerçekleştirilen izolasyon

### 3.4. Yararlı Bakterilerin Morfolojik ve Fizyolojik Karakterizasyonu

Sağlıklı domates bitkilerinden izole edilen epifit ve endofit yararlı bakterilerin koloni morfolojileri (şekil, boyut, yapı vb.) King B besiyerinde UV (366 nm) pigmentasyonu, gram reaksiyonları, levan oluşumu, oksidaz testi, tütünde hipersensitif reaksiyonu, patatesten pektolitik aktivitesi ve 37 °C’de gelişme durumları belirlenerek ön tanı yapmak üzere genel olarak değerlendirilmiştir (Schaad et al., 2001). Bitki ve insan patojeni olma riski taşıyanlar daha ileri çalışmalarda kullanılmamak üzere elenmiştir.

### 3.5 Yararlı bakterilerin *In Vitro* Bitki Gelişimini Arttırma Potansiyellerinin Belirlenmesi

#### 3.5.1 Siderofor üretme aktivitesi

Bakterilerin siderofor üretme aktivitesi, Schwyn ve Neilands (1987)’nin önerdiği Blue-CAS Agar metodunun uyarlanması ile belirlenmiştir. Yararlı bakteri izolatlarının siderofor üretiminin belirlenmesi için Blue-CAS Agar besiyeri kullanılmıştır (Tablo 3.1). 9 cm çaplı petri kaplarında Blue-CAS Agar üzerinde birbirlerine eşit uzaklıkta olacak şekilde dört noktaya 24 saatlik saf yararlı bakteri kültürleri nokta inokulasyon yoluyla ekilmiştir. Ekim yapılan Blue-CAS Agar besi ortamları 24 °C’de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların ekiminden 7 gün sonra, bakteri kolonileri çevresinde oluşan sarı zonların genişliği mm olarak ölçülerek, bakterinin siderofor üretiminin göstergesi

olarak değerlendirilmiştir (Klement et al., 1990). Deneme 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

Tablo 3.1 Yararlı bakterilerin siderefor üretme aktivitesini belirlemek amacıyla kullanılan Blue-CAS Agar besi yeri için gerekli kimyasallar ve miktarları

<b>Blue -CAS Agar</b> (1 lt besi ortamı) (Klement, et al., 1990)	1. solüsyon (casamino asit solusyonu)	60,5 mg chrome azurol S (CAS) (50ml saf su içinde çözüldü)
		10 ml Demir (III) solüsyonu CAS solüsyonuna eklendi (1 mM FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O, 0,027g/100ml 10 mM HCl, 10 mM HCl: 0,036 g/100ml içinde çözüldü)
		HDTMA 0,0729g (72.9 mg HDTMA 40 ml suda çözüldü ve CAS solüsyonuna eklendi)
		Koyu mavi süspansiyon otoklavda sterilizasyonu 121°C / 15 dk olarak gerçekleştirildi
	Free asid solüsyonu (750 ml suda)	30,24 g Pipes Free asit
		12 g NaOH (50% (w/v) 750 ml Pipes Free asit solüsyonuna eklendi
	Tuz solüsyonu (100 ml)	3 g/l KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0,3 g/100ml)
		5g/l NaCl (0,5 g/100ml)
		10 g/l NH <sub>4</sub> Cl (1 g/100ml)
		20 mM MgSO <sub>4</sub> (0,492 g/100ml)
1 mM CaCl <sub>2</sub> (0,110 g/100ml)		
15 g Agar		
Filtre ile steril edilmiştir	Free asit ve Tuz solüsyonları karıştırılmış ve pH:6.8'e ayarlanmıştır. 121 °C 'de 15 dk. otoklav da sterilize edilmiştir.	
	10 ml (% 20'lik sukroz veya glikoz solüsyonu)	
	30 ml Casamino acid (%10 w/v)	
Hazırlanan süspansiyonlar karıştırılarak petrilere dökülmüştür.		

### 3.5.2 İndol asetik asit (IAA) üretiminin belirlenmesi

Bakterilerin IAA üretimi L-triptofan (L-TRP)'ın varlığında spektrofotometrede 535 nm'de absorbans değeri okunarak kolorometrik olarak değerlendirilmiştir (Bric et al., 1991). 50 mL steril Nutrient Broth (NB) besiyerine 0,2 µm' lik bir membrandan filtre edilerek sterilizasyonu sağlanmış 5 mL L-TRP (%0,05) eklenmiştir. Bu sıvı besiyerine yararlı bakteri süspansiyonlarından ( $\approx 10^8$  cfu/ml) 100 µL eklenmiş ve 24 ±1 °C'de, 120 rpm'de 24 saat çalkalanmıştır. Elde edilen sıvı kültür 1000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant Whatman (No: 2) filtre kağıdından geçirilmiştir. Filtre edilen süpernatanttan 3 mL alınmış

ve üzerine 2 mL Salkowski ayırıcı (2 mL 0,5 M FeCl<sub>3</sub> + 98 mL %35'lik HClO<sub>4</sub>) ilave edilmiştir. Bu sıvı 30 dk. sonunda spektrofotometrede 535 nm'de absorbans değeri okunmuştur. IAA konsantrasyonlarını belirlemek için; 1'den 50'ye kadar farklı ppm düzeylerinde IAA süspansiyonu hazırlanıp ölçümler yapılarak, IAA standart eğrisi ile oluşturulmuştur ve bu standart eğriye göre izolatların IAA üretimi hesaplanmıştır.

### 3.5.3 Fosfatı çözme aktivitesinin belirlenmesi

Bakterilerin fosfatı çözme aktivitesini test etmek için; 9 cm çaplı petri kaplarında NBRIP Agar besiyeri üzerinde (Tablo 3.2) birbirlerine eşit uzaklıktaki 4 noktaya 24 saatlik saf yararlı bakteri kültürleri nokta inokulasyon yoluyla ekilmiş ve 24 ±1 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İzolatların ekiminden 14 gün sonra, bakteri kolonileri çevresinde oluşan saydam zonların genişliği mm olarak ölçülerek, bakterinin fosfatı çözme aktivitesinin varlığı değerlendirilmiştir (Nautiyal, 1999).

Tablo 3.2 Yararlı bakterilerin fosfatı çözme aktivitesinin belirlemek amacıyla kullanılan NBRIP Agar besiyeri için gerekli kimyasallar ve miktarları

	Kimyasal	Miktar	
NBRIP Agar (1 lt için)	Glukoz	10 g	
	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	5 g	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,1 g	
	KCl	0,2 g	
	MgSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O	0,25 g	
	MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O	5 g	
	pH 7'ye ayarlandı.		
	Agar	15 g	
	121 °C de 20 dk otoklavlandı.		

### 3.5.4 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase aktivitesinin belirlenmesi

Bakterilerin ACC deaminaz aktivitesinin belirlenmesi; *in vitro*'da ACC'yi tek bir azot kaynağı olarak kullanma yeteneği prensibine dayanmaktadır. İzole edilen antagonist bakterilerinin *in vitro*'da ACC-deaminase aktivitesi ACC katkılı DF minimal tuz ortamında koloni gelişimine bakılarak değerlendirilmiştir

(Penrose ve Glick, 2003). DF minimal tuz ortamı (Dworkin and Foster, 1958) Tablo 3.3’de belirtildiği şekilde hazırlanmıştır. Azot kaynağı olarak 2 g/l  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  içeren DF minimal tuz ortamı pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. ACC deaminaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla azot kaynağı  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  yerine 0,2  $\mu\text{m}$ 'lik bir membrandan filtre edilerek sterilizasyonu gerçekleştirilmiş 3 mM ACC solüsyonu herhangi bir azot kaynağı içermeyen DF minimal tuz ortamının yüzeyine 100  $\mu\text{l}$  yayılmıştır. ACC solüsyonu ortam yüzeyinde tamamen kuruduktan sonra, 24 saatlik saf kültürlerden hazırlanan yaklaşık  $10^8$  cfu/ml yoğunluktaki bakteri süspansiyonlarından 20  $\mu\text{l}$  alınarak nokta ekim yapılmıştır. 72 saat  $24\pm 1$  °C’de tutulan petriyerler, her gün bakteri üremesi açısından incelenmiştir. İzolatların gelişim yoğunluğu dikkate alınarak (-, gelişim yok; +, düşük gelişim; ++, gelişim var; +++, iyi gelişim; ++++ kuvvetli gelişim) ACC-deaminase aktiviteleri belirlenmiştir.

Tablo 3.3 Yararlı bakterilerin ACC-deaminase aktivitesi belirlemek amacıyla kullanılan DF minimal tuz ortamı için gerekli kimyasallar ve miktarları

		Kimyasal	Miktar
			$\text{KH}_2\text{PO}_4$
		$\text{Na}_2\text{HPO}_4$	6 g
		$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 g
		Glukoz	2 g
		Glukonik Asit	2 g
		Sitrik Asit	2 g
DF minimal tuz ortamı (Dworkin ve Foster, 1958). (1 lt için)	İz element solüsyonu (100 ml steril suda çözüldü, daha sonra solüsyondan 0.1 ml alınarak ortama eklendi)	$\text{H}_3\text{BO}_3$	10 mg
		$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	11,19 mg
		$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	124,6 mg
		$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	78,22 mg
		$\text{MoO}_3$	10 mg
		$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100 mg
Karışımın ph'sı 7,2 ye ayarlanıp 18 g agar eklenerek $121$ °C de 20 dk otoklavlandı			

### 3.5.5 Hidrojen siyanür (HCN) üretiminin belirlenmesi

Glycine (4,4 g/L) içeren TSA ortamına 24 saatlik saf kültürlerden elde edilen bakteri izolatlarının çizgi ekim yapılmış ve  $24\pm 1$  °C’de 2 gün inkubasyona

bırakılmıştır. %0,5 pikrik asit ve %2,0 sodyum karbonat emdirilmiş bir filtre kağıdı parçası her bir petri kabının kapağına yerleştirildikten sonra petri ters çevrilmiştir. Petri kapları parafilm ile kapatılmıştır ve 24±1 °C’de 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra filtre kağıdının sarıdan-kahverengi turuncuya doğru renk değişikliği, mikrobiyal siyanür üretiminin göstergesi olarak değerlendirilmiştir (Bakker and Schippers, 1987).

### **3.5.6 Yararlı Bakterilerin *Xanthomonas euvesicatoria*’a karşı *In Vitro* Antagonistik Etkisinin Belirlenmesi**

İzole edilen epifit ve endofit yararlı bakterilerin, test patojeni *Xanthomonas euvesicatoria*’a karşı *in vitro* biyokontrol özelliklerinin belirlenmesi amacıyla; *Xanthomonas euvesicatoria*’nın 48 saatlik saf kültüründen hazırlanan yaklaşık 10<sup>8</sup> cfu/ml (OD<sub>600nm</sub>: 0,28) yoğunluktaki süspansiyondan 100 µl alınarak 9 cm çaplı petri kaplarında King B besiyerine baget yardımıyla yayılmıştır. Daha sonra 24 saatlik saf yararlı bakteri izolatları nokta ekim ile birbirine eşit uzaklıktaki 4 noktaya ekilmiş ve 48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra bakteri kolonileri çevresinde oluşan engelleme zonlarının genişliği mm olarak ölçülerek değerlendirilmiştir.

### **3.6 *In vivo* Testler için Yararlı Bakteri İzolatlarının Seçilmesi**

İzole edilen yararlı bakteri izolatlarının *in vitro* bitki gelişimini arttırma ve biyokontrol testlerinden elde edilen sonuçların tek seferde değerlendirilmesinde tartılı derecelendirme yöntemi modifiye edilerek kullanılmıştır (Serçe ve Görgülü, 2009). Bakteri izolatlarının *in vivo* biyokontrol çalışmasında kullanılmasında; gerçekleştirilen *in vitro* testlerin önem sıraları baz alınarak farklı düzeylerde puanlamalar yapılmıştır. Gerçekleştirilen *in vitro* PGPR ve biyokontrol testlerine verilen farklı puan değerleri, biyokontrol alanındaki çalışmalar yorumlanarak bizim tarafımızdan belirlenmiştir. Tartılı derecelendirme yöntemi ile Tablo 3.4’de belirtilen puanlamalar dikkate alınmıştır. Elde edilen *in vitro* test sonuçlarının tartılı derecelendirme yöntemine göre değerlendirilmesi sonucu, 100 üzerinden 45 ve üzerinde puan alan yararlı bakteri izolatları ile bitki büyüme odasında, kontrollü koşullarda *in vivo* biyokontrol testleri gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.4 *In vivo* biyokontrol çalışmasında kullanılacak izolatların tartılı derecelendirme yöntemiyle belirlenmesi amacıyla kullanılan puanlamalar

<i>In vitro</i> Testler	Değerlendirme skalaları	<i>In vitro</i> Testler	Değerlendirme skalaları
Biyokontrol	10 mm $\geq$ <b>30 puan</b>	IAA üretme aktivitesi	300 ppm $\geq$ <b>15 puan</b>
	8-10 mm <b>24 puan</b>		250-300 ppm <b>12 puan</b>
	5-8 mm <b>18 puan</b>		200-250 ppm <b>9 puan</b>
	3-5 mm <b>12 puan</b>		150-200 ppm <b>6 puan</b>
	1-3 mm <b>6 puan</b>		100-150 ppm <b>3 puan</b>
	0-1 mm <b>1 puan</b>		50-100 ppm <b>1 puan</b>
Siderofor Üretme Aktivitesi	12 mm $\geq$ <b>25 puan</b>	Fosfatı Çözme Aktivitesi	15 mm $\geq$ <b>10 puan</b>
	9-12 mm <b>20 puan</b>		12-15 mm <b>8 puan</b>
	6-9 mm <b>15 puan</b>		9-12 mm <b>6 puan</b>
	3-6 mm <b>10 puan</b>		6-9 mm <b>4 puan</b>
	1-3 mm <b>5 puan</b>		3-6 mm <b>2 puan</b>
	0-1 mm <b>1 puan</b>		1-3 mm <b>1 puan</b>
ACC deaminaz aktivitesi	+ <b>5 puan</b> ++ <b>10 puan</b> +++ <b>15 puan</b> ++++ <b>20 puan</b>	HCN üretme aktivitesi	HCN üretme aktivitesinin puanlamada etkisi olmayacak

### 3.7 *In vivo* Koşullarda *Xanthomonas euvesicatoria*'a karşı Biyokontrol Etki Testleri

*In vitro* testlerden elde edilen tartılı derecelendirme sonuçlarına göre seçilen yararlı bakteriler patosisteme tohuma bioprüming ve yeşil aksam uygulaması olmak üzere 2 farklı biçimde verilmiştir.

Tohuma bioprüming: Yıkılmış ve yüzey dezenfeksiyonu yapılmış domates tohumları *in vitro* test sonuçlarına göre seçilmiş epifit ve endofit bakterilerinin 24-48 saatlik TSA'da gelişen kültüründen %1,5 CMC'de süspansiyon edilerek hazırlanmış bakteri süspansiyonu ile 30 dakika süreyle 121 rpm'de çalkalanarak kaplanmıştır. Kaplama işleminden sonra kurutma kağıtları arasında tutulan tohumlar 24 °C'de 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan tohumlar steril torf içeren viyollere ekilmiş ve bitki büyüme odasında kontrollü koşullarda yetiştirilmiştir. Üçüncü gerçek yapraklar görüldüğünde  $10^8$  cfu/ml yoğunluğundaki patojen *Xe* süspansiyonu yapraklara püskürtme biçiminde uygulanmıştır.

Yeşil aksam uygulaması: Herhangi bir uygulama görmemiş tohumlardan yetiştirilen 3-4 yapraklı domates fidelerine; 24 saatlik kültürden hazırlanan ve yaklaşık  $10^8$  cfu/ml (OD<sub>600</sub>: 0,45) yoğunluktaki yararlı bakteri süspansiyonları her bitki başına 10 ml olacak şekilde pülverizatör yardımıyla püskürtme biçiminde uygulanmıştır. Yararlı bakteri uygulamasından 24 saat sonra yaklaşık  $10^8$  cfu/ml yoğunluğundaki patojen *Xe* süspansiyonu yapraklara püskürtme biçiminde uygulanmıştır (El-Hendawy et al., 2005).

Sadece *Xe* uygulanmış domates bitkileri pozitif kontrol olarak, herhangi bir uygulama görmemiş domates bitkileri ise negatif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Yukarıda belirtilen uygulamalar dikkate alınarak, bitki büyüme odasında yapılan saksı denemelerinde domates bitkileri ortam sıcaklığının  $24 \pm 1$  °C, oransal nemin %70-80 olduğu, 16 saatlik ışık periyodu (16 saat aydınlık, 8 saat karanlık) koşullarında tutulmuştur. *Xe* inokulasyonundan sonra ise; bitkilere 3 gün süreyle yüksek oransal nem (%90) sağlanmıştır. Yararlı bakterilerinin *in vivo* biyokontrol etki denemeleri 10 tekerrürlü ve her tekerrürde 1 bitki yer alacak şekilde Tesadüf blokları deneme desenine göre planlanmış ve her deneme 2 kez tekrarlanmıştır. *Xe* inokulasyonundan 10 gün sonra hastalık şiddeti; Al-Dahmani et al., (2003) tarafından oluşturulan hastalık şiddeti skalası modifiye edilerek 0–4 skalasına göre (0: belirti yok, 1: yaprakta 1-5 lezyon, 2: yaprakta çok sayıda lezyon ve birleşmiş lezyonlar, 3: birleşmiş lezyonlar ve nekrotik yapraklar, 4: ölü yapraklar) değerlendirilmiştir (Şekil 3.3). Hastalık enfekte edilen 1 bitkinin sahip olduğu her bir bileşik yaprak skala değerlerine göre ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Hastalık şiddeti indeksi (DI), Liu ve ark. (1995)'in belirttiği formül ile hesaplanmıştır.

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

Su kontrolüne kıyasla hastalık şiddetindeki azalma, Moss ve ark. (2007) tarafından açıklanan formüle göre belirlenmiştir.

Hastalık yüzde etki (%) =  $\left( \frac{[\text{Hastalık şiddeti kontrolü} - \text{Hastalık şiddeti tedavisi}]}{\text{Hastalık şiddeti kontrolü}} \right) \times 100$ .



Şekil 3.3 Hastalık şiddeti değerlendirilmede kullanılan 0-4 skalası

### 3.8 Bitki Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi

#### 3.8.1 Vigorite indeksi

Tartılı derecelendirme yöntemi ile seçilen yararlı bakteri izolatlarına vigorite indeksi testi uygulanmıştır. %2'lik sodyum hipoklorit ile yüzey dezenfeksiyonu yapılmış domates tohumları, bölüm 3.7'deki protokole göre yararlı bakteriler ile bioprümling yapılmıştır. Kaplama işleminden sonra tohumlar nemlendirilmiş steril kurutma kağıtlı petrilere ekilmiştir. Çalışma 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 50 tohum olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol tohumları ise sadece %1,5'lük CMC çözeltisi ile kaplanmıştır. 24 °C'de 7 günlük inkubasyondan sonra, çimlenme %'si, radisil ve hipokotil uzunluğu ölçülerek Vigorite İndeksi ((VI): % çimlenme X (radicil uzunluğu + hipokotil uzunluğu)) hesaplanmıştır.

### 3.8.2 Kuru ağırlık/Yaş Ağırlık

Tartılı derecelendirme yöntemi ile seçilen yararlı bakteri izolatları ile tohuma bioprimingi yapılarak yetiştirilen domates bitkileri sökülmüş, yıkanarak kökleri yetiştirme ortamından temizlenmiş ve kök yaş ağırlığı hassas terazi ile ölçülmüştür. Daha sonra 65 °C'ye ayarlı etüvde sabit ağırlığa ulaşınca kadar bekletilmiş ve kök kuru ağırlığı belirlenmiştir.

### 3.9 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Moleküler Tanısı

*In vivo* testlerde *Xe*'ye karşı en başarılı bulunan yararlı bakteri izolatlarının moleküler tanısı; 16S rRNA hedef bölgesine göre dizayn edilmiş, 27F/1492R (Forward: AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG, Reverse: GGT TAC CTT GTT ACG ACT T) universal primer çiftleri kullanılarak Jiang ve ark. (2006)'nın önerdiği protokole göre (95 °C'de 5 dk, [94 °C'de 30 sn, 55 °C 30 sn, 72 °C 2 dk toplam 35 döngü], 72 °C'de 7 dk, 15 °C'de ∞) gerçekleştirilmiştir. Bakteri DNA'sı 24 saat boyunca King B ortamında geliştirilen kolonilerden elde edilen bakteriyel süspansiyonların (konsantrasyon ≈ 10<sup>8</sup> cfu/ml) 100 °C'de 10 dakika kaynatılmasıyla elde edilmiştir (Queipo-Ortuno et al., 2008). Elde edilen PCR ürünleri TAE buffer (Fermentase, 0,5 M) ile hazırlanan %1'lik Agaroz jelde 80 Volta 1 saat elektroforezde koşularak sonuçlar UV transilluminator görüntüleme cihazında 1460 bp'de bantların varlığıyla değerlendirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri sekans analizine gönderilmiştir. Sekans düzenleme ve inceleme, Sequencher V5.4.5 ile yapılmıştır. PCR ürünlerinin DNA dizileri, BLAST software (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) kullanılarak GenBank dizileri ile karşılaştırılmıştır.

### 3.10 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Bitkide Kolonizasyonunun İzlenmesi

*In vitro* ve *in vivo* deneylerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda *Xe*'ye karşı önemli biyolojik kontrol gösteren iki yararlı bakteri izolatının bitkideki kolonizasyonu izlenmek üzere seçilmiştir. Domates bitkileri içindeki bakteri popülasyonunu izlemek için, seçilen iki bakteri izolatu rifampisin (200 ppm) 'e

dayanıklı kılınarak etiketlenmiş ve tohum kaplama uygulaması biçiminde uygulama yapılmıştır. Yararlı bakterilerin domates bitkilerinde patojen varlığında ve yokluğunda zamana bağlı olarak kolonizasyonu Tablo 3.5’de belirtilen örnekleme zamanlarına göre gerçekleştirilmiştir. Tohum bakterizasyonundan başlayarak örnekleme zamanlarında 1 g bitki örneği alınarak (kök/yeşil aksam), 100 ml steril su içinde 15 dk çalkalanmıştır. Yıkama suyundan seyreltme serisi hazırlanarak KB besiyerine (200 µg/ml Rifamicin katkılı) ekim yapılmış gelişen koloniler sayılarak 1 g bitki dokusundaki yararlı bakteri popülasyonu (cfu/g bitki) değerlendirilmiştir (Klopper, J. W., 1980). Deneme her örnekleme dönemi için 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 1 fide olacak şekilde tesadüf blokları deneme desenine uygun olarak planlanmıştır.

Tablo 3.5 Yararlı bakteri (YB) izolatlarının kolonizasyonunu takip etmek için gerçekleştirilen örnekleme dönemleri

No	Sadece YB uygulaması görmüş bitkiler için örnekleme dönemleri	YB ve patojen uygulaması (Xe) görmüş bitkiler için örnekleme dönemleri
1	Kotiledon periyodunda	Kotiledon periyodunda
2	1.gerçek yaprak döneminde	1.gerçek yaprak döneminde
3	2.gerçek yaprak döneminde	2.gerçek yaprak döneminde
4	Su inokulasyonundan 24 saat sonra	XE inokulasyonundan 24 saat sonra
5	Su inokulasyonundan 24 saat sonra	XE inokulasyonundan 48 saat sonra
6	Su inokulasyonundan 7 gün sonra	XE inokulasyonundan 7 gün sonra
7	Su inokulasyonundan 10 gün sonra	XE inokulasyonundan 10 gün sonra

### 3.11 Bitki Savunması ile İlişkili Gen İfade Profillerinin Belirlenmesi

*In vivo* biyokontrol testleri sonucunda *Xe*’e karşı en etkili bulunan yararlı bakteri izolatu seçilmiştir. En başarılı yararlı bakteri izolatu tohum kaplama yöntemi ile domates tohumlarına uygulanmıştır. Gen ekspresyon analizleri için, *X. euvesicatoria* inokulasyonundan itibaren 0., 3., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde yaprak örnekleri alınmış ve alınan örnekler sıvı azotta dondurulduktan sonra -80 °C’ ta bir sonraki aşamaya kadar saklanmıştır. Total RNA izolasyonu için, her bir yaprak örneği steril havanlarda, üzerlerine sıvı azot dökülerek havaneli yardımıyla toz haline getirilmiştir. Total RNA izolasyonu için Bray (1988)’in geliştirmiş olduğu

LiCl-phenol ekstraksiyon RNA izolasyon tekniği modifiye edilerek kullanılmış ve bu yöntem ile total RNA'lar ekstrakte edilmiştir (Tablo 3.6).

Tablo 3.6 LiCl-phenol ekstraksiyon RNA izolasyon protokolü

Aşamaları	
1	300 mg bitki örneği tartılmış 1,5 ml'lik eppendorf tüplerine alınmış ve üzerine 50 mM Tris pH: 9, 150 mM LiCl, 5 mM EDTA, %5 SDS karışımından oluşan ekstraksiyon solüsyonundan 500 µl mikropipet yardımıyla eklenmiştir.
2	Tüplerin kapakları iyice kapatıldıktan sonra 15 saniye vortekslenmiş ve santrifüjde +4 °C'de 5000 rpm devirde 5 dakika santrifüjlenmiştir.
3	Üst faz alınarak 1/1 oranında fenol kloroform izoamil alkol ilave edilmiş ve 15 saniye vortekslenmiştir.
4	Santrifüjde +4 °C'de 10600 rpm devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir.
5	Üst faz alınacak 1/1 oranında fenol kloroform izoamil alkol ilave edilecektir ve 15 saniye vortekslenmiştir.
6	Santrifüjde +4 °C'de 10600 rpm devirde 5 dakika santrifüj edilmiştir.
7	Üsteki supernatant kısmı alınmış ve alınanın yarısı kadar (supernatant 250 µl ise 125 µl) 10M LiCl konulmuş ve el ile alt üst edilmiştir.
8	10 M LiCl eklenen ve karıştırılan tüpler +4 °C'de 16 saat inkübe edilmiştir.
9	+4 °C'den çıkartılacak örnekler santrifüjde +4 °C'de 11000 rpm'de 40 dakika santrifüj edilmiş üst faz pellete zarar vermeden dikkatlice dökülmüştür.
10	Eppendorf tüplerine %70'lik etanolden 1000µl ilave edilecek ve +4°C'de 10600 rpm devirde 5 dakika santrifüj edilmiş ve üst faz dikkatlice dökülmüş ve işlem 2 defa tekrarlanmıştır.
11	Üst faz uzaklaştırılmış ve eppendorf tüpündeki pellet kurutulup 30 µl DePC'li su ile çözülmüştür.
12	Elde edilen RNA'lar -20 °C'de muhafaza edilmiştir..

Toplam 1 µg total RNA, 1 U RNaz içermeyen DNase I (DNaseI, RNase-free Thermo Scientific EN0525) enzimi ile 30 dakika süreyle 37 °C'de inkübe edilmiştir, daha sonra Thermo Scientific GeneJET RNA Cleanup and Concentration Micro Kiti ile üretici firmanın önerdiği protokole göre RNA'ların pürifikasyonu gerçekleştirilmiştir. RNA kalitesi, agaroz jel elektroforezi ve spektrofotometrik olarak kontrol edilmiştir.

Reverse Transcriptase PCR tekniği ile pürifiye RNA'lardan cDNA elde edilmiş böylece istenen gen veya gen parçacıklarının eldesi için kalıp DNA olarak

kullanılmıştır. Pürifiye edilmiş total RNA'dan cDNA sentezi RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermofischer, K1622) adlı ticari kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her örnek için cDNA, Oligo (dT)<sub>18</sub> primer (1 µl), 5X Reaksiyon buffer (4 µl), RiboLock Rnaz Inhibitörü (20 U/µl) (1 µl), 10 mM dNTP mix (2 µl), RevertAid M-MuLV Reverse transkriptaz enzimi (200 U/µl) (1 µl) ve Rnaz içermeyen H<sub>2</sub>O ile 20 µL toplam reaksiyon hacminde 1 µg toplam RNA kullanılarak sentezlenmiştir. Elde edilen cDNA'lar bir sonraki aşamaya kadar -20°C'de saklanmıştır.

Kantitatif Real Time PCR analizi, Rotor-Gene Q (Qiagen) içinde Real Time PCR cihazında RealQ Plus 2x Master Mix Green (Ampliqon, A323402) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR reaksiyonu, 1 µl forward primer (10 pM), 1 µl Reverse primer (10 pM), 12,5 µl RealQ Plus 2x Master Mix Green (Ampliqon), 1 µl seyreltilmiş cDNA ve ayrıca dH<sub>2</sub>O eklenmiş 25 µL toplam reaksiyon hacmine tamamlanarak gerçekleştirilmiştir. Amplifikasyon döngüsü; ilk adımda TEMPase hot start enzimin aktivasyonu için 95 °C'de 15 dakika inkübe edilmiştir, daha sonra 40 döngü 95 °C'de 15 saniye, 60 °C'de 30 saniye, 72 °C'de 30 saniye olacak şekilde gerçekleşmiştir. PCR reaksiyonunun saflık kontrolü erime eğrisi analiziyle yapılmıştır. Erime eğrisi analizi, Erime eğrisi protokolünü 95 °C'de 10 saniye ve ardından 62 °C ile 95 °C arasında 0.2 °C'de artışlarla 10 saniye izlenmiştir.

Kantitatif Real Time PCR analizlerinde kullanılan primerlerin listesi Tablo 3.7'de verilmiştir. Gen ekspresyon seviyeleri, domateste EF1 $\alpha$  ekspresyonuna göre normalize edilmiştir. Her bir primer çifti için amplifikasyon verimliliği, kontrol cDNA'lardan 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 oranlarında dilüsyonlar kullanılarak standart eğri grafiği çizilerek hesaplanmıştır. Her gen için üç teknik kopyanın ortalama CT değerlerine göre transkript değişimleri belirlenmiştir. Gen ifade seviyeleri  $2^{-\Delta \Delta C_t}$  yöntemi kullanılarak (Livak and Schmittgen, 2001) hesaplanmıştır.

Tablo 3.7 Gen ifade profili çalışmalarında kullanılan primerler

Gen	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Referans
<i>EFI</i>	GACAGGCGTTCAGGTAAGGA	GGGTATTCAGCAAAGGTCTC	Scalschi et al., 2018
ACO	AAGATGGCACTAGGATGTCAATAG	TCCTCTTCTGTCTTCTCAATCAAC	Takishita et al., 2018
ETR	GGTAATCCCAAATCCAGAAGGTTT	CAATTGATGGCCGCAGTTG	Constantin et al., 2019
PI-I	GTGTACCAACAAAGCTTGCTAAAGA	GTACAACAACACCCAAAATGTTGTC	Constantin et al., 2019
PR1	TGGTGGTTCATTCTTGCAACTAC	ATCAATCCGATCCACTTATCATTTTA	Constantin et al., 2019
PAL	CGTTATGCTCTCCGAACATC	GAAGTTGCCACCATGTAAGG	Constantin et al., 2019
ICS	TCCAGGCTGAAGATGATGAG	TTATTCCAACCGCAAATCA	Constantin et al., 2019
AOC	GCACGAAGAAGAGAAGAAAGGAGA	CGGTGACGGCTAGGTAAGTTT	Scalschi et al., 2018
ASR	ACACCACCACCACCTGT	GTGTTTGTGTGCATGTTGTGGA	Scalschi et al., 2018

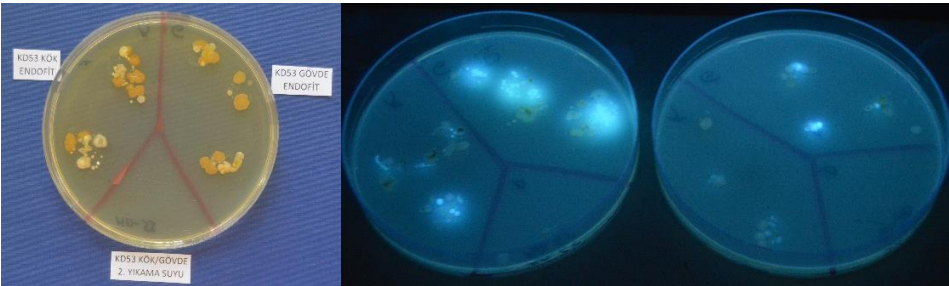
### 3.12 Verilerin Analizi

Tez çalışması kapsamında elde edilen tüm verilere, bilgisayarda SPSS (SPSS Inc. PASW Statistics versiyon 15) paket programı ile varyans analizi uygulanmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar %5 hata olasılığı ile yapılan DUNCAN testiyle belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1 Yararlı Bakterilerin İzolasyon Sonuçları

Domateste bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas euvesicatoria*'a karşı etkisi testlenecek yararlı bakteri izolatlarının elde edilmesi için, örtüaltı ve açık alanda domates yetiştiriciliği yapılan İzmir, Manisa ve Aydın ili çevresindeki 40 farklı lokasyondan (İZMİR- Bornova: E.Ü. Kampüs; Karaburun: Eğlenhoca, Mordoğan; Urla: Balıklıova, Nohutalan; Çeşme: Ildırı, Germiyan; Bayındır: Çırpı, Ödemiş: Balabanlı; Tire: Gökçen, Alacalı; Torbalı: Subaşı, Menemen: Yanıkköy, E.Ü.Z.F. Menemen Çifliği, UTAEM; Kınık: Yayakent, Poyracık, Kınık Ovası; Bergama: Bölcek; MANİSA- Kırkağaç: Musahoca, Karakum, Gelenbe; Akhisar: Pınarcık, Sarıcalı, Akselendi, Beyoba, Sazoba; Saruhanlı: Dereli, Çamlıyurt, Alibeyli, Lütfiye; AYDIN- Efeler: Tepeköy, Gölhisar, Şahnalı, Armutlu, Kozalaklı, Dalama, Yeniköy, Karahayıt, Baltaköy) alınan 127 farklı bitki örneğinin kök, gövde, yaprak ve çiçeklerinden toplam 313 adet endofit ve epifit özelliği gösteren antagonist adayı bakteri izolatu elde edilmiştir (Şekil 4.1). Örnekleme yapılan yerlere ve elde edilen bakteriyel izolatlara ilişkin bilgiler Tablo 4.1'de detaylı açıklanmıştır. Farklı lokasyonlardan toplanan 127 örnekten izole edilen 313 bakteri kolonisi (Tablo 4.1) saflaştırılarak, çalışmanın diğer aşamalarında gerçekleştirilecek olan *in vitro* ve *in vivo* testlerde kullanılmak üzere -80 °C'de ve %20 gliserol içeren nutrient broth içerisinde saklanmıştır.



Şekil 4.1 İzolasyon sonrası elde edilen bakteriyel koloniler

Tablo 4.1 Antagonist adayı bakteri izolatları ile ilgili bilgiler

İzolat no*	İzolat Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
1	KD 1/1	Yaprak	+		Bornova/ E.Ü. Kampüs
2	KD 1/2	Kök	+		Bornova/ E.Ü. Kampüs
3	KD 1/3	Çiçek		+	Bornova/ E.Ü. Kampüs
4	KD 1/4	Yaprak		+	Bornova/ E.Ü. Kampüs
5	KD 2/1	Kök	+		Bornova/ E.Ü. Kampüs
6	KD 2/2	Yaprak		+	Bornova/ E.Ü. Kampüs
7	KD 2/3	Yaprak	+		Bornova/ E.Ü. Kampüs
8	KD 3/1	Kök	+		Karaburun / Eğlenhoca
9	KD 3/2	Kök		+	Karaburun / Eğlenhoca
10	KD 4/1	Kök	+		Karaburun / Eğlenhoca
11	KD 4/2	Kök	+		Karaburun / Eğlenhoca
12	KD 4/3	Yaprak	+		Karaburun / Eğlenhoca
13	KD 4/4	Gövde		+	Karaburun / Eğlenhoca
14	KD 4/5	Yaprak		+	Karaburun / Eğlenhoca
15	KD 4/6	Yaprak		+	Karaburun / Eğlenhoca
16	KD 4/7	Yaprak		+	Karaburun / Eğlenhoca
17	KD 5/1	Yaprak	+		Karaburun / Eğlenhoca
18	KD 5/2	Kök	+		Karaburun / Eğlenhoca
19	KD 6/1	Yaprak	+		Karaburun / Eğlenhoca
20	KD 6/2	Kök	+		Karaburun / Eğlenhoca

Tablo 4.1 (devam)

İzolat no*	İzolat Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
21	KD 6/3	Yaprak		+	Karaburun / Eğlenhoca
22	KD 6/4	Gövde		+	Karaburun / Eğlenhoca
23	KD 7/1	Kök	+		Karaburun / Eğlenhoca
24	KD 7/2	Yaprak	+		Karaburun / Eğlenhoca
25	KD 7/3	Gövde			Karaburun / Eğlenhoca
26	KD 8/1	Kök		+	Karaburun / Eğlenhoca
27	KD 8/2	Gövde		+	Karaburun / Eğlenhoca
28	KD 9/1	Kök	+		Karaburun / Eğlenhoca
29	KD 9/2	Yaprak	+		Karaburun / Eğlenhoca
30	KD 9/3	Gövde		+	Karaburun / Eğlenhoca
31	KD 10/1	Yaprak	+		Karaburun / Mordoğan
32	KD 10/2	Kök	+		Karaburun / Mordoğan
33	KD 10/3	Kök		+	Karaburun / Mordoğan
34	KD 10/4	Gövde		+	Karaburun / Mordoğan
35	KD 10/5	Yaprak		+	Karaburun / Mordoğan
36	KD 11/1	Kök	+		Karaburun / Mordoğan
37	KD 11/2	Kök	+		Karaburun / Mordoğan
38	KD 11/3	Yaprak	+		Karaburun / Mordoğan
39	KD 11/4	Kök		+	Karaburun / Mordoğan
40	KD 11/5	Gövde		+	Karaburun / Mordoğan

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
41	KD 12/1	Kök	+		Karaburun / Mordoğan
42	KD 12/2	Kök		+	Karaburun / Mordoğan
43	KD 12/3	Gövde		+	Karaburun / Mordoğan
44	KD 13/1	Kök	+		Urla / Balıklıova
45	KD 13/2	Kök		+	Urla / Balıklıova
46	KD 14/1	Kök	+		Urla / Balıklıova
47	KD 14/2	Kök		+	Urla / Balıklıova
48	KD 14/3	Kök		+	Urla / Balıklıova
49	KD 15/1	Yaprak	+		Urla / Balıklıova
50	KD 15/2	Kök	+		Urla / Balıklıova
51	KD 15/3	Gövde		+	Urla / Balıklıova
52	KD 15/4	Kök		+	Urla / Balıklıova
53	KD 16/1	Kök	+		Çeşme / Ildırı
54	KD 16/2	Kök		+	Çeşme / Ildırı
55	KD 17/1	Kök	+		Çeşme / Ildırı
56	KD 17/2	Yaprak	+		Çeşme / Ildırı
57	KD 17/3	Yaprak	+		Çeşme / Ildırı
58	KD 17/4	Gövde		+	Çeşme / Ildırı
59	KD 18/1	Kök	+		Çeşme / Ildırı
60	KD 18/2	Kök		+	Çeşme / Ildırı

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
61	KD 19/1	Kök			Çeşme / Ildırı
62	KD 19/2	Kök	+		Çeşme / Ildırı
63	KD 19/3	Yaprak	+		Çeşme / Ildırı
64	KD 19/4	Gövde		+	Çeşme / Ildırı
65	KD 19/5	Kök		+	Çeşme / Ildırı
66	KD 20/1	Kök	+		Çeşme / Germiyan
67	KD 20/2	Kök	+		Çeşme / Germiyan
68	KD 21/1	Kök		+	Çeşme / Germiyan
69	KD 21/2	Kök	+		Çeşme / Germiyan
70	KD 22/1	Kök		+	Çeşme / Germiyan
71	KD 22/2	Kök		+	Çeşme / Germiyan
72	KD 22/3	Kök	+		Çeşme / Germiyan
73	KD 22/4	Yaprak	+		Çeşme / Germiyan
74	KD 24/1	Kök	+		Çeşme / Germiyan
75	KD 24/2	Yaprak	+		Çeşme / Germiyan
76	KD 24/3	Kök		+	Çeşme / Germiyan
77	KD 24/4	Kök		+	Çeşme / Germiyan
78	KD 24/5	Kök	+		Çeşme / Germiyan
79	KD 25/1	Yaprak		+	Urla / Nohutalan
80	KD 25/2	Kök	+		Urla / Nohutalan

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
81	KD 25/3	Yaprak	+		Urla / Nohutalan
82	KD 25/4	Kök		+	Urla / Nohutalan
83	KD 26/1	Kök	+		Urla / Nohutalan
84	KD 26/2	Kök		+	Urla / Nohutalan
85	KD 27/1	Kök	+		Urla / Nohutalan
86	KD 27/2	Yaprak	+		Urla / Nohutalan
87	KD 27/3	Gövde		+	Urla / Nohutalan
88	KD 27/4	Gövde		+	Urla / Nohutalan
89	KD 28/1	Kök		+	Bayındır / Çırpı
90	KD 28/2	Kök	+		Bayındır / Çırpı
91	KD 29/1	Kök	+		Bayındır / Çırpı
92	KD 29/2	Kök	+		Bayındır / Çırpı
93	KD 30/1	Kök	+		Bayındır / Çırpı
94	KD 30/2	Kök	+		Bayındır / Çırpı
95	KD 30/3	Yaprak	+		Bayındır / Çırpı
96	KD 31/1	Kök		+	Bayındır / Çırpı
97	KD 31/2	Gövde		+	Bayındır / Çırpı
98	KD 31/3	Kök	+		Bayındır / Çırpı
99	KD 31/4	Kök	+		Bayındır / Çırpı
100	KD 32/1	Kök		+	Bayındır / Çırpı

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
101	KD 32/2	Kök		+	Bayındır / Çırpı
102	KD 32/3	Kök		+	Bayındır / Çırpı
103	KD 32/4	Kök	+		Bayındır / Çırpı
104	KD 33/1	Gövde		+	Bayındır / Çırpı
105	KD 33/2	Gövde		+	Bayındır / Çırpı
106	KD 33/3	Kök	+		Bayındır / Çırpı
107	KD 34/1	Gövde		+	Bayındır / Çırpı
108	KD 34/2	Gövde		+	Bayındır / Çırpı
109	KD 34/3	Kök	+		Bayındır / Çırpı
110	KD 35/1	Kök	+		Ödemiş / Balabanlı
111	KD 35/2	Kök		+	Ödemiş / Balabanlı
112	KD 36/1	Kök	+		Ödemiş / Balabanlı
113	KD 36/2	Kök	+		Ödemiş / Balabanlı
114	KD 36/3	Gövde		+	Ödemiş / Balabanlı
115	KD 37/1	Yaprak		+	Ödemiş / Balabanlı
116	KD 37/2	Kök	+		Ödemiş / Balabanlı
117	KD 38	Kök		+	Tire / Gökçen
118	KD 39/1	Kök	+		Tire / Gökçen
119	KD 39/2	Kök	+		Tire / Gökçen
120	KD 40/1	Kök		+	Tire / Alacalı

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
---------------	----------------	--------------------------------	--------	---------	------------------

no*	Kodu	Bitki Materyali			
121	KD 40/2	Yaprak		+	Tire / Alacalı
122	KD 40/3	Yaprak	+		Tire / Alacalı
123	KD 40/4	Yaprak	+		Tire / Alacalı
124	KD 40/5	Kök	+		Tire / Alacalı
125	KD 41/1	Gövde		+	Tire / Alacalı
126	KD 41/2	Kök		+	Tire / Alacalı
127	KD 41/3	Kök	+		Tire / Alacalı
128	KD 41/4	Kök	+		Tire / Alacalı
129	KD 42/1	Kök		+	Tire / Alacalı
130	KD 42/2	Gövde		+	Tire / Alacalı
131	KD 42/3	Kök	+		Tire / Alacalı
132	KD 43	Gövde		+	Torbali / Subaşı
133	KD 44/1	Kök		+	Torbali / Subaşı
134	KD 44/2	Kök	+		Torbali / Subaşı
135	KD 44/3	Kök	+		Torbali / Subaşı
136	KD 45/1	Kök	+		Torbali / Subaşı
137	KD 45/2	Kök	+		Torbali / Subaşı
138	KD 46/1	Kök		+	Torbali / Subaşı
139	KD 46/2	Kök	+		Torbali / Subaşı
140	KD 47/1	Kök	+		Efeler / Tepeköy

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer

141	KD 47/2	Kök	+		Efeler / Tepeköy
142	KD 47/3	Yaprak	+		Efeler / Tepeköy
143	KD 48/1	Kök		+	Efeler / Tepeköy
144	KD 48/2	Gövde		+	Efeler / Tepeköy
145	KD 48/3	Kök	+		Efeler / Tepeköy
146	KD 49/1	Kök	+		Efeler / Gölhisar
147	KD 50/1	Gövde		+	Efeler / Gölhisar
148	KD 50/2	Kök		+	Efeler / Gölhisar
149	KD 50/3	Kök	+		Efeler / Gölhisar
150	KD 50/4	Gövde		+	Efeler / Gölhisar
151	KD 51/1	Kök	+		Efeler / Gölhisar
152	KD 51/2	Kök	+		Efeler / Gölhisar
153	KD 52/1	Kök	+		Efeler / Gölhisar
154	KD 53/1	Kök		+	Efeler / Gölhisar
155	KD 53/2	Kök	+		Efeler / Gölhisar
156	KD 53/3	Kök	+		Efeler / Gölhisar
157	KD 54/1	Kök		+	Efeler / Gölhisar
158	KD 54/2	Kök	+		Efeler / Gölhisar
159	KD 55/1	Kök	+		Efeler / Gölhisar
160	KD 56/1	Gövde		+	Efeler / Gölhisar

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
161	KD 56/2	Kök		+	Efeler / Gölhisar

162	KD 56/3	Kök	+		Efeler / Gölhisar
163	KD 57/1	Kök		+	Efeler / Şahnalı
164	KD 57/2	Kök	+		Efeler / Şahnalı
165	KD 58/1	Kök		+	Efeler / Şahnalı
166	KD 58/2	Kök		+	Efeler / Şahnalı
167	KD 58/3	Kök	+		Efeler / Şahnalı
168	KD 59/1	Kök	+		Efeler / Şahnalı
169	KD 59/2	Gövde		+	Efeler / Şahnalı
170	KD 60/1	Kök		+	Efeler / Şahnalı
171	KD 60/2	Kök	+		Efeler / Şahnalı
172	KD 60/3	Yaprak	+		Efeler / Şahnalı
173	KD 60/4	Yaprak	+		Efeler / Şahnalı
174	KD 60/5	Yaprak		+	Efeler / Şahnalı
175	KD 61/1	Kök		+	Efeler / Şahnalı
176	KD 62/1	Gövde		+	Efeler / Şahnalı
177	KD 63/1	Gövde		+	Efeler / Şahnalı
178	KD 63/2	Kök	+		Efeler / Şahnalı
179	KD 64/1	Kök		+	Efeler / Armutlu
180	KD 64/2	Yaprak	+		Efeler / Armutlu

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
181	KD 65/1	Gövde		+	Efeler / Kozalaklı
182	KD 65/2	Gövde		+	Efeler / Kozalaklı

183	KD 65/3	Kök	+		Efeler / Kozalaklı
184	KD 66/1	Yaprak	+		Efeler / Kozalaklı
185	KD 67/1	Gövde		+	Efeler / Dalama
186	KD 67/2	Kök	+		Efeler / Dalama
187	KD 68/1	Kök	+		Efeler / Dalama
188	KD 68/2	Kök		+	Efeler / Dalama
189	KD 68/3	Gövde		+	Efeler / Dalama
190	KD 69	Kök		+	Efeler / Yeniköy
191	KD 70/1	Kök	+		Efeler / Karahayıt
192	KD 70/2	Gövde		+	Efeler / Karahayıt
193	KD 70/3	Yaprak	+		Efeler / Karahayıt
194	KD 71	Yaprak	+		Efeler / Karahayıt
195	KD 72/1	Kök	+		Efeler / Karahayıt
196	KD 73/1	Gövde		+	Efeler / Gölhisar
197	KD 73/2	Kök		+	Efeler / Gölhisar
198	KD 73/3	Kök	+		Efeler / Gölhisar
199	KD 74/1	Kök	+		Efeler / Tepeköy
200	KD 74/2	Yaprak		+	Efeler / Tepeköy

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
201	KD 74/3	Yaprak	+		Efeler / Tepeköy
202	KD 75/1	Yaprak	+		Efeler / Baltaköy
203	KD 75/2	Kök		+	Efeler / Baltaköy

204	KD 76/1	Gövde		+	Menemen / E.Ü. Çiftliği
205	KD 76/2	Kök	+		Menemen / E.Ü. Çiftliği
206	KD 77/1	Kök		+	Kınık / Yayakent
207	KD 77/2	Gövde		+	Kınık / Yayakent
208	KD 77/3	Kök	+		Kınık / Yayakent
209	KD 78/1	Kök		+	Kınık / Yayakent
210	KD 78/2	Yaprak		+	Kınık / Yayakent
211	KD 79/1	Kök	+		Kınık / Yayakent
212	KD 80/1	Gövde		+	Kınık / Yayakent
213	KD 80/2	Yaprak		+	Kınık / Yayakent
214	KD 81/1	Kök		+	Kınık / Poyracık
215	KD 81/2	Gövde		+	Kınık / Poyracık
216	KD 81/3	Kök		+	Kınık / Poyracık
217	KD 82/1	Gövde		+	Kınık / Poyracık
218	KD 82/2	Kök		+	Kınık / Poyracık
219	KD 83/1	Kök		+	Kınık ovası
220	KD 83/2	Yaprak		+	Kınık ovası

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
221	KD 83/3	Kök	+		Kınık ovası
222	KD 84/1	Kök	+		Kınık ovası
223	KD 84/2	Gövde		+	Kınık ovası
224	KD 84/3	Yaprak		+	Kınık ovası

225	KD 85/1	Kök		+	Kınık ovası
226	KD 85/2	Yaprak		+	Kınık ovası
227	KD 85/3	Yaprak	+		Kınık ovası
228	KD 86/1	Gövde		+	Kınık ovası
229	KD 86/2	Kök	+		Kınık ovası
230	KD 87/1	Kök		+	Kınık ovası
231	KD 87/2	Yaprak		+	Kınık ovası
232	KD 87/3	Kök	+		Kınık ovası
233	KD 87/4	Yaprak	+		Kınık ovası
234	KD 88/1	Kök	+		Bergama / Bölcek
235	KD 88/2	Kök		+	Bergama / Bölcek
236	KD 89/1	Kök		+	Bergama / Bölcek
237	KD 89/2	Yaprak	+		Bergama / Bölcek
238	KD 89/3	Kök	+		Bergama / Bölcek
239	KD 90/1	Gövde		+	Bergama / Bölcek
240	KD 90/2	Kök	+		Bergama / Bölcek

Tablo 4.1 (devam)

İzolasyon no*	İzolasyon Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
241	KD 91/1	Kök		+	Bergama / Bölcek
242	KD 91/2	Kök		+	Bergama / Bölcek
243	KD 91/3	Yaprak	+		Bergama / Bölcek
244	KD 91/4	Kök	+		Bergama / Bölcek
245	KD 92	Kök		+	Bergama / Bölcek

246	KD 93/1	Gövde		+	Menemen /Yanikköy
247	KD 93/2	Kök	+		Menemen /Yanikköy
248	KD 94	Gövde		+	Menemen /Yanikköy
249	KD 95/1	Gövde		+	Menemen /Yanikköy
250	KD 95/2	Kök	+		Menemen /Yanikköy
251	KD 96	Kök		+	Menemen / UTAEM
252	KD 97/1	Gövde		+	Menemen / UTAEM
253	KD 98/1	Kök	+		Menemen / UTAEM
254	KD 98/2	Kök		+	Menemen / UTAEM
255	KD 99/1	Kök	+		Menemen / UTAEM
256	KD 100/1	Kök		+	Menemen
257	KD 101/1	Kök		+	Kırkağaç /Musahoca
258	KD 101/2	Gövde		+	Kırkağaç /Musahoca
259	KD 101/3	Kök	+		Kırkağaç /Musahoca
260	KD 102/1	Kök	+		Kırkağaç /Musahoca

Tablo 4.1 (devam)

İzolot no*	İzolot Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
261	KD 102/2	Yaprak	+		Kırkağaç /Musahoca
262	KD 102/3	Kök		+	Kırkağaç /Musahoca
263	KD 103/1	Yaprak		+	Kırkağaç /Musahoca
264	KD 103/2	Kök	+		Kırkağaç /Musahoca
265	KD 103/3	Yaprak	+		Kırkağaç /Musahoca
266	KD 104/1	Kök	+		Kırkağaç /Musahoca

267	KD 104/2	Kök		+	Kırkağaç /Musahoca
268	KD 104/3	Yaprak		+	Kırkağaç /Musahoca
269	KD 104/4	Yaprak	+		Kırkağaç /Musahoca
270	KD 105/1	Gövde		+	Kırkağaç /Karakum
271	KD 105/2	Gövde		+	Kırkağaç /Karakum
272	KD 105/3	Kök	+		Kırkağaç /Karakum
273	KD 106/1	Gövde		+	Kırkağaç /Karakum
274	KD 107/1	Kök		+	Kırkağaç / Gelenbe
275	KD 108/1	Kök	+		Kırkağaç / Gelenbe
276	KD 108/2	Gövde		+	Kırkağaç / Gelenbe
277	KD 108/3	Yaprak		+	Kırkağaç / Gelenbe
278	KD 108/4	Yaprak		+	Kırkağaç / Gelenbe
279	KD 108/5	Yaprak	+		Kırkağaç / Gelenbe
280	KD 109	Kök		+	Akhisar / Pınarcık

Tablo 4.1 (devam)

İzolot no*	İzolot Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
281	KD 110/1	Kök	+		Akhisar / Sarıçalı
282	KD 110/2	Kök		+	Akhisar / Sarıçalı
283	KD 111	Gövde		+	Akhisar / Sarıçalı
284	KD 112/1	Yaprak		+	Akhisar / Sarıçalı
285	KD 112/2	Kök		+	Akhisar / Sarıçalı
286	KD 112/3	Gövde		+	Akhisar / Sarıçalı
287	KD 112/4	Kök	+		Akhisar / Sarıçalı

288	KD 113/1	Kök	+		Akhisar / Sarıçalı
289	KD 113/2	Gövde		+	Akhisar / Sarıçalı
290	KD 114/1	Kök		+	Akhisar / Sarıçalı
291	KD 114/2	Gövde		+	Akhisar / Sarıçalı
292	KD 115	Kök	+		Akhisar / Akselendi
293	KD 116/1	Gövde		+	Akhisar / Akselendi
294	KD 116/2	Kök		+	Akhisar / Akselendi
295	KD 117/1	Kök		+	Akhisar / Beyoba
296	KD 117/2	Gövde		+	Akhisar / Beyoba
297	KD 118/1	Gövde		+	Akhisar / Sazoba
298	KD 118/2	Kök	+		Akhisar / Sazoba
299	KD 119/1	Kök		+	Saruhanlı / Dereli
300	KD 119/2	Gövde		+	Saruhanlı / Dereli

Tablo 4.1 (devam)

İzolot no*	İzolot Kodu	İzole Edildiği Bitki Materyali	Epifit	Endofit	Örnek Alınan Yer
301	KD 119/3	Kök	+		Saruhanlı / Dereli
302	KD 120/1	Gövde	+		Saruhanlı / Dereli
303	KD 120/2	Kök	+		Saruhanlı / Dereli
304	KD 121/1	Kök	+		Saruhanlı / Dereli
305	KD 121/2	Kök	+		Saruhanlı / Dereli
306	KD 122/1	Gövde		+	Saruhanlı / Çamlıyurt
307	KD 122/2	Gövde		+	Saruhanlı / Çamlıyurt
308	KD 123/1	Kök	+		Saruhanlı / Alibeyli

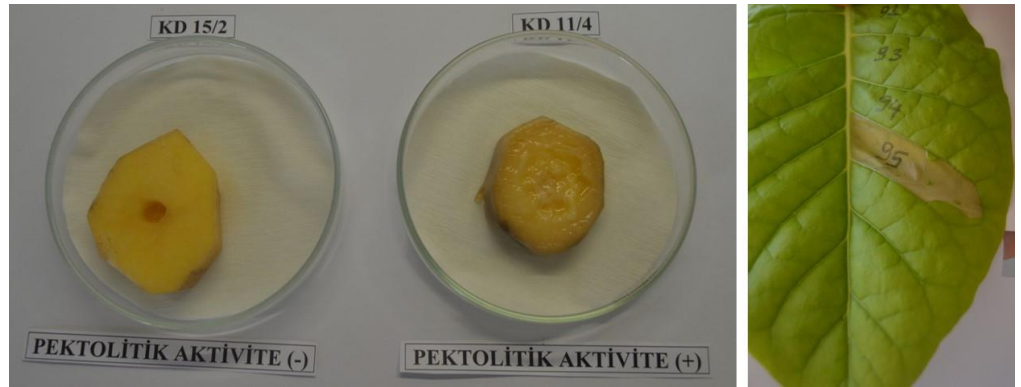
309	KD 123/2	Kök		+	Saruhanlı / Alibeyli
310	KD 124/1	Kök	+		Saruhanlı / Alibeyli
311	KD 125/1	Kök		+	Saruhanlı / Alibeyli
312	KD 126/1	Gövde		+	Saruhanlı / Lütfiye
313	KD 127/1	Yaprak		+	Saruhanlı / Lütfiye

\*İzolot no, -80'deki stok numarasını belirtmektedir.

## 4.2 Yararlı Bakterilerin Morfolojik ve Fizyolojik Karakterizasyonu

### Sonuçları

Sağlıklı domates bitkilerinden izole edilen epifit ve endofit yararlı bakterilerin koloni morfolojileri (şekil, boyut, yapı vb.) King B besiyerinde UV (366 nm) pigmentasyonu, gram reaksiyonları, levan oluşumu, oksidaz testi, tütünde hipersensitif reaksiyonu (HR), patatestte pektolitik aktivitesi ve 37°C’de gelişme durumları ön tanı yapmak üzere genel olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.2). Testlenen 313 bakteri arasından 58 tanesi gram (+) iken, 255 tanesi gram (-)’dir. KD 11/4, KD 27/1, KD 27/4, KD 35/2, KD 38, KD 41/2, KD 46/2, KD 48/2, KD 56/2, KD 58/3, KD 60/1, KD 60/5, KD 68/3, KD 71, KD 75/2, KD 77/2, KD 83/1, KD 84/2, KD 91/4, KD 92, KD 101/1, KD 105/2, KD 107/1, KD 111, KD 112/3 kodlu 25 bakteri izolatu patatestte pektolitik aktivite göstermiştir. KD 15/3, KD 16/2, KD 30/3, KD 40/4, KD 43, KD 48/1, KD 51/1, KD 59/2, KD 67/2, KD 69, KD 80/1, KD 83/2, KD 94, KD 109, KD 115, KD 127/1 kodlu 16 bakteri izolatu tütünde HR pozitif sonuç vermiştir. KD 78/2, KD 85/2, KD 96 ve KD 112 kodlu 4 bakteri izolatu hem tütünde HR hem de patatestte pektolitik aktivite pozitif sonuç göstermiştir. Tütünde HR pozitif veya patatestte pektolitik aktivite gösteren bakteri izolatları, bitki patojeni olma riski taşıdığından dolayı daha ileri çalışmalarda kullanılmamak üzere elenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Ön tanı testi sonucu patatestte pektolitik aktivite ve tütünde HR (Hypersensitive Reaction) pozitif reaksiyonlar

Tablo 4.2 İzole edilen epifit ve endofit aday yararlı bakterilerin morfolojik ve fizyolojik özelliklerine ait bilgiler

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
1	KD 1/1	kremimsi beyaz	-	+	-	+	-	-	-
2	KD 1/2	kremimsi sarı	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
3	KD 1/3	şeffaf krem	-	+	-	-	-	+	-
4	KD 1/4	şeffaf krem	-	+	-	-	-	+	-
5	KD 2/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
6	KD 2/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
7	KD 2/3	krem/mukoid	-	+	-	+	-	-	-
8	KD 3/1	krem	-	+	-	-	+	-	-
9	KD 3/2	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
10	KD 4/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
11	KD 4/2	kremimsi beyaz	-	+	-	+	-	-	-
12	KD 4/3	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
13	KD 4/4	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
14	KD 4/5	kremimsi sarı	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
15	KD 4/6	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
16	KD 4/7	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
17	KD 5/1	kremimsi sarı/mukoid	-	+	-	-	-	+	-
18	KD 5/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
19	KD 6/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
20	KD 6/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	+	-
21	KD 6/3	sarı	-	+	-	-	-	-	-
22	KD 6/4	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°'de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
23	KD 7/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
24	KD 7/2	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
25	KD 7/3	krem/mukoid	-	+	-	+	+	-	-
26	KD 8/1	kremimsi beyaz	-	+	-	+	-	-	-
27	KD 8/2	krem/mukoid	-	+	-	+	-	+	-
28	KD 9/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
29	KD 9/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
30	KD 9/3	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
31	KD 10/1	krem	-	+	-	-	-	-	-
32	KD 10/2	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
33	KD 10/3	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
34	KD 10/4	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
35	KD 10/5	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
36	KD 11/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
37	KD 11/2	krem	-	+	-	+	-	-	-
38	KD 11/3	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
39	KD 11/4	krem	-	+	-	-	-	-	+
40	KD 11/5	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
41	KD 12/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
42	KD 12/2	beyaz/pudraması	-	+	-	-	-	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°'de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
43	KD 12/3	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
44	KD 13/1	krem	-	+	-	-	-	-	-
45	KD 13/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
46	KD 14/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
47	KD 14/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
48	KD 14/3	beyaz/pudraması	-	+	-	+	-	-	-
49	KD 15/1	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
50	KD 15/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
51	KD 15/3	krem	+	+	+(yeşil)	-	-	+	-
52	KD 15/4	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
53	KD 16/1	krem/pudraması	-	+	-	+	-	-	-
54	KD 16/2	krem	+	+	-	-	-	-	-
55	KD 17/1	krem	-	+	-	-	+	-	-
56	KD 17/2	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
57	KD 17/3	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
58	KD 17/4	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
59	KD 18/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
60	KD 18/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
61	KD 19/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
62	KD 19/2	beyaz/pudraması	-	+	-	+	-	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°'de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
63	KD 19/3	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
64	KD 19/4	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
65	KD 19/5	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
66	KD 20/1	krem	-	+	-	+	-	-	-
67	KD 20/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
68	KD 21/1	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
69	KD 21/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
70	KD 22/1	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
71	KD 22/2	krem/mukoid	-	+	-	+	-	-	-
72	KD 22/3	krem/mukoid	-	+	-	+	+	-	-
73	KD 22/4	krem	-	+	-	+	-	-	-
74	KD 24/1	krem/mukoid	-	+	-	+	-	-	-
75	KD 24/2	krem/mukoid	-	+	-	+	+	-	-
76	KD 24/3	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
77	KD 24/4	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
78	KD 24/5	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
79	KD 25/1	krem	-	+	+	-	-	+	-
80	KD 25/2	krem	-	+	+	-	-	+	-
81	KD 25/3	krem/mukoid	-	+	-	+	-	-	-
82	KD 25/4	krem/mukoid	-	+	-	+	-	+	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
83	KD 26/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	+	+	-
84	KD 26/2	krem/mukoid	-	+	-	+	-	-	-
85	KD 27/1	krem	-	-	-	-	-	-	+
86	KD 27/2	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
87	KD 27/3	kremimsi beyaz	-	+	-	-	-	-	-
88	KD 27/4	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	+
89	KD 28/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
90	KD 28/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
91	KD 29/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
92	KD 29/2	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
93	KD 30/1	sarı	-	+	-	-	-	-	-
94	KD 30/2	krem/pudramsı	-	+	-	-	-	-	-
95	KD 30/3	açık sarı/mukoid	+	+	-	-	-	-	-
96	KD 31/1	krem	-	+	+(z.yeşil)	-	+	+	-
97	KD 31/2	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
98	KD 31/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
99	KD 31/4	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	+	-
100	KD 32/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
101	KD 32/2	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	+	-
102	KD 32/3	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
103	KD 32/4	krem	-	+	-	+	+	-	-
104	KD 33/1	krem/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
105	KD 33/2	krem	-	+	-	-	-	-	-
106	KD 33/3	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
107	KD 34/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	-	-
108	KD 34/2	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
109	KD 34/3	krem	-	+	-	-	-	-	-
110	KD 35/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
111	KD 35/2	krem	-	-	-	-	-	-	+
112	KD 36/1	krem	-	+	-	-	+	-	-
113	KD 36/2	krem	-	+	-	+	-	-	-
114	KD 36/3	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
115	KD 37/1	sarı	-	+	-	-	-	-	-
116	KD 37/2	krem	-	+	-	-	+	-	-
117	KD 38	krem	-	-	-	-	-	-	+
118	KD 39/1	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
119	KD 39/2	krem	-	+	-	+	-	-	-
120	KD 40/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
121	KD 40/2	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
122	KD 40/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
123	KD 40/4	açık sarı/mukoid	+	+	-	-	-	-	-
124	KD 40/5	krem	-	+	-	-	-	-	-
125	KD 41/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
126	KD 41/2	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	+
127	KD 41/3	krem/mukoid	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
128	KD 41/4	açık sarı	-	+	-	-	-	-	-
129	KD 42/1	krem	-	+	-	-	-	+	-
130	KD 42/2	krem	-	+	-	+	-	-	-
131	KD 42/3	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
132	KD 43	krem	+	-	-	-	-	-	-
133	KD 44/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
134	KD 44/2	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
135	KD 44/3	krem	-	+	-	+	-	-	-
136	KD 45/1	krem	-	+	-	+	-	-	-
137	KD 45/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
138	KD 46/1	krem	-	+	-	-	-	-	-
139	KD 46/2	krem	-	-	-	-	-	-	+
140	KD 47/1	krem/mukoid	-	+	-	-	-	+	-
141	KD 47/2	krem	-	+	-	+	-	+	-
142	KD 47/3	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolot No	İzolot Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
143	KD 48/1	krem/mukoid	+	+	+(yeşil)	-	-	+	-
144	KD 48/2	krem	-	-	-	-	-	-	+
145	KD 48/3	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
146	KD 49/1	krem	-	+	-	+	-	-	-
147	KD 50/1	krem	-	+	-	-	-	-	-
148	KD 50/2	beyaz/pudraması	-	+	-	+	+	-	-
149	KD 50/3	krem	-	+	-	-	-	-	-
150	KD 50/4	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
151	KD 51/1	krem	+	+	+(yeşil)	-	+	+	-
152	KD 51/2	sarı	-	+	-	-	-	+	-
153	KD 52/1	krem	-	+	-	-	-	+	-
154	KD 53/1	krem	-	+	-	-	-	-	-
155	KD 53/2	krem	-	+	-	+	-	-	-
156	KD 53/3	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
157	KD 54/1	beyaz/pudraması	-	+	-	+	-	+	-
158	KD 54/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
159	KD 55/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
160	KD 56/1	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
161	KD 56/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	+	+	+
162	KD 56/3	krem	-	+	+(mavi)	-	+	+	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolot No	İzolot Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
163	KD 57/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	+	+	-
164	KD 57/2	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
165	KD 58/1	krem	-	+	+(mavi)	-	+	+	-
166	KD 58/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
167	KD 58/3	krem	-	-	-	-	-	-	+
168	KD 59/1	sarı	-	-	-	-	-	-	-
169	KD 59/2	krem	+	-	-	-	-	-	-
170	KD 60/1	Krem/mukoid	-	-	-	-	-	-	+
171	KD 60/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
172	KD 60/3	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
173	KD 60/4	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
174	KD 60/5	krem	-	-	-	-	-	-	+
175	KD 61/1	krem	-	+	-	+	-	-	-
176	KD 62/1	açık sarı	-	+	-	+	-	-	-
177	KD 63/1	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
178	KD 63/2	sarı	-	+	-	-	-	+	-
179	KD 64/1	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
180	KD 64/2	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
181	KD 65/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
182	KD 65/2	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
183	KD 65/3	krem	-	+	-	-	-	+	-
184	KD 66/1	krem/mukoid	-	+	-	-	-	+	-
185	KD 67/1	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
186	KD 67/2	krem	+	-	-	-	-	-	-
187	KD 68/1	krem	-	+	-	-	-	+	-
188	KD 68/2	krem	-	+	-	-	-	+	-
189	KD 68/3	krem	-	-	-	-	-	-	+
190	KD 69	açık sarı	+	-	-	-	-	-	-
191	KD 70/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
192	KD 70/2	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
193	KD 70/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
194	KD 71	krem	-	-	-	-	-	-	+
195	KD 72/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
196	KD 73/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	+	+	-
197	KD 73/2	krem/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
198	KD 73/3	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
199	KD 74/1	krem/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
200	KD 74/2	krem/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
201	KD 74/3	sarı/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
202	KD 75/1	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
203	KD 75/2	Krem/mukoid	-	-	-	-	-	-	+
204	KD 76/1	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
205	KD 76/2	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
206	KD 77/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
207	KD 77/2	krem	-	+	-	+	-	-	+
208	KD 77/3	sarı	-	+	-	-	+	+	-
209	KD 78/1	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
210	KD 78/2	sarı	+	+	-	-	+	-	+
211	KD 79/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
212	KD 80/1	Krem/mukoid	+	-	-	-	-	-	-
213	KD 80/2	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
214	KD 81/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
215	KD 81/2	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
216	KD 81/3	krem	-	+	+(mavi)	-	+	+	-
217	KD 82/1	sarı	-	+	-	-	-	-	-
218	KD 82/2	krem	-	+	-	+	-	-	-
219	KD 83/1	krem	-	-	-	-	-	-	+
220	KD 83/2	Açık sarı	+	-	-	-	-	-	-
221	KD 83/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
222	KD 84/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
223	KD 84/2	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	+
224	KD 84/3	açık sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
225	KD 85/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
226	KD 85/2	sarı	+	+	-	-	+	-	+
227	KD 85/3	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
228	KD 86/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
229	KD 86/2	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	-	-
230	KD 87/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
231	KD 87/2	krem	-	+	-	-	+	-	-
232	KD 87/3	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
233	KD 87/4	krem	-	+	-	+	-	-	-
234	KD 88/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
235	KD 88/2	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
236	KD 89/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	+	+	-
237	KD 89/2	sarı/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
238	KD 89/3	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	-	-
239	KD 90/1	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
240	KD 90/2	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
241	KD 91/1	krem	-	+	+(mavi)	-	+	-	-
242	KD 91/2	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolot No	İzolot Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
243	KD 91/3	krem	-	+	-	+	-	-	-
244	KD 91/4	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	+
245	KD 92	krem	-	-	-	-	-	-	+
246	KD 93/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
247	KD 93/2	krem	-	+	+(mavi)	-	+	+	-
248	KD 94	Açık sarı	+	-	-	-	-	-	-
249	KD 95/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
250	KD 95/2	krem	-	+	-	-	-	-	-
250	KD 95/2	krem	-	+	-	-	-	-	-
251	KD 96	Açık sarı	+	-	-	-	-	-	+
252	KD 97/1	krem	-	+	-	-	+	-	-
253	KD 98/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	+	+	-
254	KD 98/2	krem	-	+	-	+	+	-	-
255	KD 99/1	beyaz/pudraması	-	+	-	+	-	-	-
256	KD 100/1	krem	-	+	-	-	+	-	-
257	KD 101/1	krem	-	+	+(mavi)	-	+	+	+
258	KD 101/2	beyaz/pudraması	-	+	-	+	-	-	-
259	KD 101/3	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
260	KD 102/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
261	KD 102/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolat No	İzolat Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
262	KD 102/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
263	KD 103/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
264	KD 103/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
265	KD 103/3	şeffaf krem	-	+	-	+	-	-	-
266	KD 104/1	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
267	KD 104/2	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
268	KD 104/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
269	KD 104/4	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	+	-	-
270	KD 105/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
271	KD 105/2	krem	-	+	-	-	-	-	+
272	KD 105/3	krem/mukoid	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
273	KD 106/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	+	+	-
274	KD 107/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	+
275	KD 108/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
276	KD 108/2	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
277	KD 108/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
278	KD 108/4	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
279	KD 108/5	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
280	KD 109	krem	+	+	-	-	-	-	-
281	KD 110/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolot No	İzolot Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
282	KD 110/2	krem	-	+	+(mavi)	-	+	-	-
283	KD 111	krem	-	+	-	-	-	-	+
284	KD 112/1	sarı	+	+	-	-	+	-	+
285	KD 112/2	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
286	KD 112/3	krem	-	+	-	-	-	-	+
287	KD 112/4	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
288	KD 113/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
289	KD 113/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
290	KD 114/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	+	+	-
291	KD 114/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
292	KD 115	sarı	+	+	-	-	-	-	-
293	KD 116/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
294	KD 116/2	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
295	KD 117/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
296	KD 117/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
297	KD 118/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
298	KD 118/2	açık sarı	-	+	-	+	-	-	-
299	KD 119/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
300	KD 119/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
301	KD 119/3	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-

Tablo 4.2 (devam)

İzolot No	İzolot Kodu	Koloni Morfolojileri	Tütünde HR	37 C°de gelişme	FL*	Gram Testi	Levan Oluşumu	Oksidaz Testi	Patateste Pek. Aktivite
302	KD 120/1	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
303	KD 120/2	krem	-	+	+(mavi)	-	-	+	-
304	KD 121/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
305	KD 121/2	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
306	KD 122/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
307	KD 122/2	krem/mukoid	-	+	-	-	-	-	-
308	KD 123/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
309	KD 123/2	beyaz/pudramsı	-	+	-	+	-	-	-
310	KD 124/1	krem	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
311	KD 125/1	krem/mukoid	-	+	+(yeşil)	-	-	+	-
312	KD 126/1	krem/mukoid	-	+	-	-	+	-	-
313	KD 127/1	Sarı	+	+	-	-	+	-	-

\*FL: Bakteriye kolonilerin King B besiyerinde (366 nm) UV lamba ile floresan ışına gösterme özelliğidir.

### 4.3 Yararlı bakterilerin *In Vitro* Bitki Gelişimini Arttırma ve Biyokontrol Potansiyellerininin Belirlenmesine Yönelik Parametrelerin Sonuçları

İzole edilen toplam 313 bakteri izolatından, yapılan ön tanı testleri sonucu 45 tanesinin tütünde HR(+) ve patatesten pektolitik aktivite göstermeleri nedeniyle bitki patojeni olma riski taşımamasından dolayı çalışmadan çıkarılmıştır. Geriye kalan epifit ve endofit 268 bakteri izolatınının *in vitro* bitki gelişimini arttırma potansiyelleri belirlenmesi amacıyla, siderofor üretme aktivitesi, fosfatı çözme aktivitesi, IAA üretme aktivitesi, HCN üretme aktivitesi, ACC-deaminase enzimi aktivitesi ve biyokontrol etki testleri bölüm 3.5’de belirtilen protokoller ile gerçekleştirilmiştir.

#### 4.3.1 Siderofor Üretme Aktivitesi Sonuçları

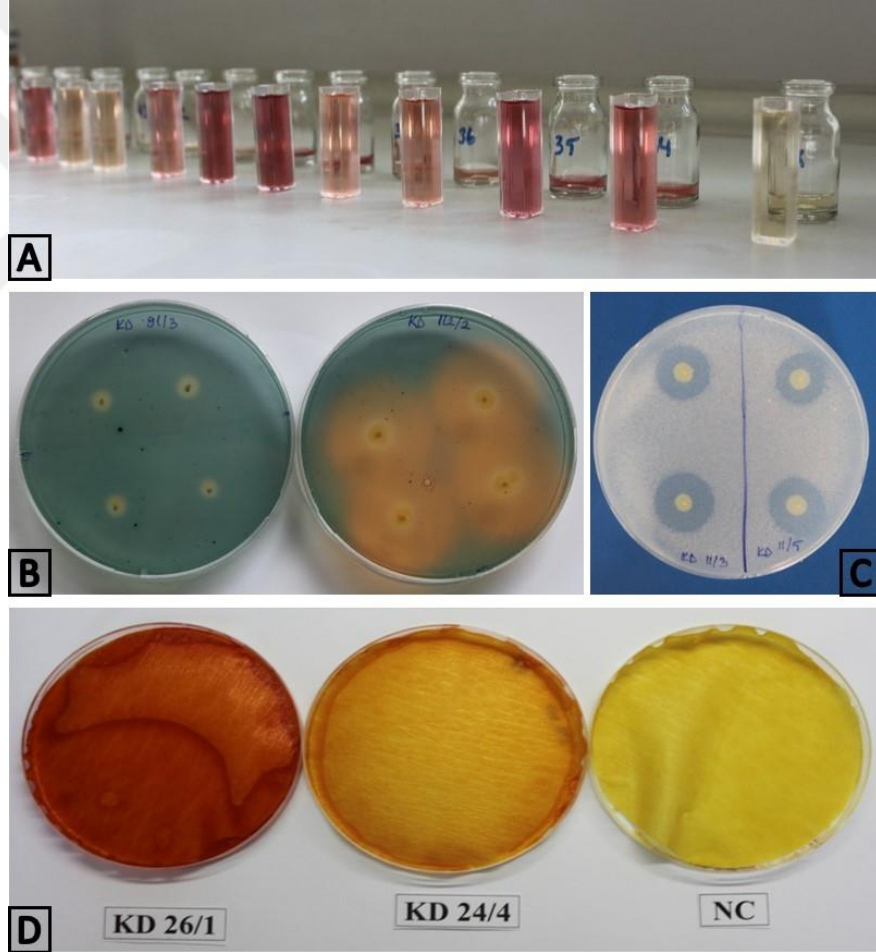
Siderofor üretimi Chromazurol S (CAS) blue agarda gelişen bakteri kolonilerinin çevresinde oluşan sarı-turuncu zonun yarıçaplarınının mm olarak ölçülmesiyle belirlenmiştir. Yararlı bakteri izolatlarından sadece KD 30/2 ve KD 40/3’ün inokulasyonunun gerçekleştiği noktanın etrafında hiç sarı-turuncu zon oluşmamış ve negatif sonuç vermiştir. Çalışmada bulunan diğer yararlı bakteri izolatları 0,425-15 mm arasında değişen yarıçaplarda sarı-turuncu zon oluşturmuştur (Şekil 4.3). KD 80/2, KD 68/1, KD 40/2 izolatları sırasıyla 15 mm, 12,25 mm ve 12,25 mm yarıçaplarında zon oluşturarak siderofor üretme aktivitesi açısından en başarılı üç izolat olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3).

#### 4.3.2 İndol Asetik Asit (IAA) Üretiminin Belirlenmesi Sonuçları

Bakterilerin IAA üretimi tryptophane (L-TRP)’in varlığında spektrofotometre de 535 nm’de absorban değeri okunarak kolorometrik olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.3). Çalışmada bulunan yararlı bakteri izolatları 5 ile 529 ppm arasında değişen miktarda IAA üretimi sağlamıştır. KD 58/2, KD 20/2 ve KD80/2 480 ppm’den yüksek IAA üreterek, en başarılı üç izolat olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3).

### 4.3.3 Fosfatı Çözme Aktivitesinin Belirlenmesi Sonuçları

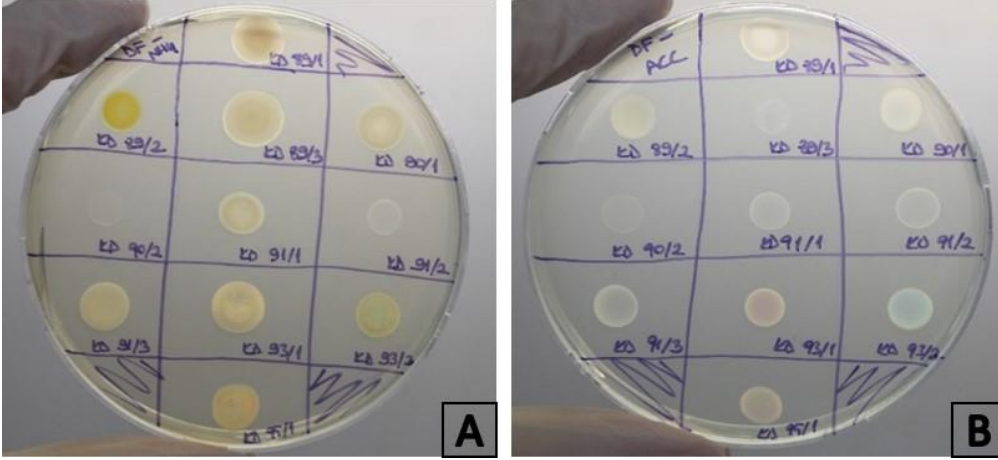
Yararlı bakterilerin fosfataz aktivitesi, NBRIP Agar besiyerine nokta inokulasyonu yapılan bakteriyel kolonilerin çevresinde oluşan saydam zonların yarıçap genişliği mm olarak ölçülerek değerlendirilmiştir (Şekil 4.3). Yararlı bakteri izolatlarından 77 tanesi bakteriyel ortamda zon oluşturmamış ve negatif sonuç vermiştir. Çalışmada bulunan diğer yararlı bakteri izolatları 0,5-22 mm arasında değişen yarıçaplarda şeffaf zon oluşturmuştur. KD 9/3 ve KD 41/4 izolatları 0,5 mm yarıçapında zon oluşturarak en az, KD 20/2 izolatu 22 mm yarıçapında zon oluşturarak en çok fosfataz aktivitesi gösteren izolatlar olmuştur (Tablo 4.3).



Şekil 4.3 Yararlı bakterilerin *in vitro* koşullarda PGPR parametreleri yönünden testlenmesi. A: IAA üretimi (pembe renk yoğunluğu IAA düzeyinin yüksek oluşunun göstergesidir), B: CAS agarda siderofor üretme aktivitesi (Kolonilerin çevresinde oluşan sarı-turuncu zon siderofor üretme aktivitesinin göstergesidir), C: Fosfatı çözme ve D: HCN üretiminin testlenmesi (turuncu renk HCN+, sarı renk HCN- olduğunu göstermektedir)

#### 4.3.4 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase Aktivitesinin Belirlenmesi Sonuçları

Yararlı bakteri izolatlarının *in vitro*'da ACC-deaminaz aktivitesi; ACC'yi tek bir azot kaynağı olarak kullanma yeteneği prensibine dayanmaktadır ve ACC katkılı DF minimal tuz ortamında koloni gelişimine bakılarak değerlendirilmiştir. Bakteri izolatlarının gelişimini kontrol etmek amacıyla pozitif kontrol olarak, azot kaynağı olarak  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  içeren DF minimal tuz ortamı kullanılmıştır. İzolatların gelişim yoğunluğu dikkate alınarak (-, gelişim yok; +, düşük gelişim; ++, gelişim var; +++, iyi gelişim; ++++ kuvvetli gelişim;) ACC-deaminase aktiviteleri belirlenmiştir (Şekil 4.4). Yapılan testlerin sonuçlarına göre, ACC-deaminaz aktivitesi açısından 19 tane izolat ACC katkılı DF minimal tuz ortamında gelişim göstermeyerek negatif (-) sonuç vermiştir. KD17/3 ve KD 34/2 izolatları ise; ACC katkılı DF minimal tuz ortamında kuvvetli gelişim göstererek, en başarılı izolatlar olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3).



Şekil 4.4 Yararlı bakteri izolatlarının *in vitro*'da ACC-deaminaz aktivitesinin belirlenmesi (A: Pozitif kontrol olarak, azot kaynağı olarak  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  içeren DF minimal tuz ortamındaki kolonilerinin gelişimi, B: Azot kaynağı olarak ACC katkılı DF minimal tuz ortamındaki kolonilerin gelişimi)

#### 4.3.5 Hidrojen siyanür (HCN) Üretiminin Belirlenmesi Sonuçları

Yararlı bakteri izolatlarının HCN üretiminin belirlenmesi amacıyla, 3.4.5'de belirtilen protokol gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan 29 bakteri

izolatı (KD 5/1, KD 5/2, KD 6/2, KD 17/2, KD 17/3, KD 19/4, KD 24/4, KD 25/1, KD 25/2, KD 26/1, KD 28/1, KD 30/1, KD 31/1, KD 34/1, KD 47/1, KD 56/3, KD 60/3, KD 73/1, KD 77/3, KD 81/1, KD 86/1, KD 86/2, KD 89/3, KD 98/1, KD 101/3, KD 120/2, KD 121/2, KD 122/1, KD 125/1) HCN üretmiştir (Tablo 4.3, Şekil 4.3).

#### 4.3.6 Yararlı Bakterilerin *Xanthomonas euvesicatoria*'a karşı *In Vitro* Antagonistik Etkisinin Belirlenmesi Sonuçları

Bakterilerin *Xe*'e karşı *in vitro* antagonistik etkisinin belirlenmesi amacıyla, 3.5.6'da belirtilen protokol gerçekleştirilmiştir. Testlenen 268 yararlı bakteri izolatından 110 tanesi *in vitro*'da patojene karşı engelleme zonu oluşturmamış ve negatif sonuç vermiştir. Çalışmada bulunan diğer yararlı bakteri izolatları 0,25-10 mm arasında değişen yarıçaplarda *Xe*'ye karşı engelleme zonu oluşturmuştur ve engelleme zonlarının (mm) varlığı pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir. KD 4/5, KD 7/2 ve KD17/2 kodlu izolatlar *Xe*'e karşı sırasıyla 10, 10 ve 9 mm engelleme zonları oluşturarak en başarılı izolatlar olarak belirlenmiştir (Tablo 4.3, Şekil 4.5).



Şekil 4. 5 Bakterilerin *Xe*'e karşı *in vitro* antagonistik etkisi sonucu patojene karşı oluşan engelleme zonu

Tablo 4.3 Bakteri izolatlarının *in vitro* bitki gelişimini artırma ve biyokontrol özellikleri ile ilgili bilgiler

İzolat Kodu	<i>Xe in vitro</i> engelleme zonu (mm)				Ortalama Engelleme zonu (mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	1	2	3	4		1	2	3	4				1	2	3	4			
KD 1/1	4	3	3	3	3,25	0,8	0,8	0,7	0,8	0,775	0,097	31	3	2	3	2	2,5	-	-
KD 1/2	7	7	7	6	6,75	4	4	4	4	4	0,237	124	10	9	8	8	8,75	-	-
KD 1/3	1	1	1	1	1	2	3	2	2	2,25	0,068	11	6	7	5	6	6	-	-
KD 1/4	1	1	1	1	1	5	5	4	4	4,5	0,037	6	9	8	5	5	6,75	-	-
KD 2/1	3	4	3	5	3,75	3	4	3	3	3,25	0,244	129	0	0	0	0	0	-	-
KD 2/2	3	2	3	2	2,5	3	3	2	2	2,5	0,284	155	0	0	0	0	0	-	-
KD 2/3	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,209	105	0	0	0	0	0	-	-
KD 3/1	5	4	4	4	4,25	3	3	4	4	3,5	0,357	204	8	7	5	4	6	-	-
KD 3/2	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	0,254	135	2	1	1	2	1,5	++	-
KD 4/1	3	4	4	4	3,75	4	3	4	4	3,75	0,297	164	0	0	0	0	0	-	-
KD 4/2	2	2	1	2	1,75	2	2	2	2	2	0,049	8	0	0	0	0	0	-	-
KD 4/3	1	1	1	1	1	3	2	3	2	2,5	0,404	235	5	5	5	4	4,75	-	-
KD 4/4	0	0	0	0	0	2	2	1	2	1,75	0,244	129	0	0	0	0	0	-	-
KD 4/5	10	10	10	10	10	4	4	5	4	4,25	0,238	125	1	1	1	1	1	+	-
KD 4/6	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1,5	0,326	183	5	5	6	6	5,5	-	-
KD 4/7	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,07	13	4	2	3	3	3	++	-
KD 5/1	2	2	2	2	2	4	3	3	3	3,25	0,278	151	1	1	0	0	0,5	-	+
KD 5/2	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	0,386	223	3	2	1	1	1,75	-	+
KD 6/1	4	4	3	4	3,75	3	3	3	3	3	0,259	139	0	0	0	0	0	-	-
KD 6/2	1	1	2	1	1,25	3	4	3	3	3,25	0,321	180	5	4	4	5	4,5	-	+
KD 6/3	0	0	0	0	0	4	4	3	4	3,75	0,373	215	20	20	20	18	19,5	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	Xe in vitro engelleme zonu(mm)				Ortalama Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	0	0	0	0		1	2	1	1				1	1	0	0			
KD 6/4	0	0	0	0	0	1	2	1	1	1,25	0,254	135	4	4	4	4	4	-	-
KD 7/1	6	7	8	8	7,25	3	4	3	3	3,25	0,256	137	11	11	10	9	10,25	+++	-
KD 7/2	11	10	9	10	10	3	3	4	3	3,25	0,222	114	5	4	5	5	4,75	+++	-
KD 7/3	0	0	0	0	0	2	3	1	1	1,75	0,246	130	0	0	0	0	0	-	-
KD 8/1	2	3	3	2	2,5	3	3	4	3	3,25	0,032	5	0	0	0	0	0	-	-
KD 8/2	0	0	0	1	0,25	1	1	2	1	1,25	0,044	7	0	0	0	0	0	-	-
KD 9/1	2	3	3	2	2,5	3	3	4	3	3,25	0,344	195	2	2	2	2	2	-	-
KD 9/2	1	1	1	1	1	3	2	3	2	2,5	0,412	241	3	2	3	2	2,5	+++	-
KD 9/3	1	1	1	2	1,25	1	1	1	1	1	0,228	118	1	1	0	0	0,5	-	-
KD 10/1	1	1	1	2	1,25	2	1	2	2	1,75	0,514	309	2	1	0	0	0,75	-	-
KD 10/2	7	6	5	5	5,75	4	4	4	4	4	0,251	133	1	1	0	1	0,75	++	-
KD 10/3	8	9	9	7	8,25	5	5	5	5	5	0,249	132	4	3	3	4	3,5	+++	-
KD 10/4	0	0	0	0	0	3	2	2	2	2,25	0,391	227	1	1	1	1	1	-	-
KD 10/5	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,428	251	4	3	4	5	4	++	-
KD 11/1	3	2	2	2	2,25	3	3	4	4	3,5	0,224	115	2	2	1	1	1,5	-	-
KD 11/2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0,151	67	0	0	0	0	0	-	-
KD 11/3	0	0	0	0	0	2	3	3	2	2,5	0,558	338	6	7	6	7	6,5	-	-
KD 11/5	0	0	0	0	0	3	3	2	2	2,5	0,558	338	5	4	6	5	5	++	-
KD 12/1	4	4	3	2	3,25	3	3	3	3	3	0,232	121	3	3	5	3	3,5	-	-
KD 12/2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,098	31	0	0	0	0	0	-	-
KD 12/3	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,099	32	2	2	2	2	2	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	<i>Xe in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. <i>Xe</i> Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	1	2	3	4		5	6	7	8				9	10	11	12			
KD 13/1	1	1	1	1	1	5	5	7	6	5,75	0,356	203	18	25	20	21	21	++	-
KD 13/2	5	2	3	4	3,5	4	4	5	4	4,25	0,243	128	0	0	0	0	0	-	-
KD 15/4	1	0	0	0	0,25	1	2	2	1	1,5	0,298	165	0	0	0	0	0	-	-
KD 16/1	0	0	0	0	0	5	5	6	5	5,25	0,051	9	0	0	0	0	0	-	-
KD 17/1	0	0	0	0	0	4	3	4	5	4	0,314	175	2	2	3	3	2,5	-	-
KD 17/2	8	9	9	10	9	14	13	11	11	12,25	0,163	75	1	1	2	2	1,5	+	+
KD 17/3	3	3	3	3	3	4	3	3	3	3,25	0,264	142	2	3	2	2	2,25	++++	+
KD 17/4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,251	133	0	0	0	0	0	-	-
KD 18/1	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	0,234	122	2	2	3	3	2,5	-	-
KD 18/2	4	3	3	3	3,25	2	3	4	3	3	0,24	126	1	1	1	1	1	-	-
KD 19/1	3	2	2	2	2,25	11	10	10	11	10,5	0,37	213	7	6	9	8	7,5	-	-
KD 19/2	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	0,121	47	1	1	1	1	1	-	-
KD 19/3	5	6	4	4	4,75	3	2	3	2	2,5	0,461	273	1	1	2	2	1,5	++	-
KD 19/4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,289	159	0	0	0	0	0	-	+
KD 19/5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,318	178	5	5	6	4	5	-	-
KD 20/1	4	4	4	4	4	3	4	3	3	3,25	0,25	133	21	19	20	21	20,25	++	-
KD 20/2	1	1	0	0	0,5	3	3	3	3	3	0,773	481	18	21	24	25	22	++	-
KD 21/1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,355	203	3	5	6	6	5	-	-
KD 21/2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,434	255	3	4	5	3	3,75	-	-
KD 22/1	0	0	0	0	0	2	2	3	2	2,25	0,56	339	15	16	10	13	13,5	-	-
KD 22/2	2	2	1	1	1,5	3	3	4	4	3,5	0,456	270	0	0	0	0	0	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	<i>Xe in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. <i>Xe</i> Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	0	0	0	0		2	2	2	2				2	0	0	0			
KD 22/3	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,36	206	0	0	0	0	0	-	-
KD 22/4	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,105	36	0	0	0	0	0	-	-
KD 24/1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,305	169	0	0	0	0	0	-	-
KD 24/2	0	0	0	0	0	1	1	1	2	1,25	0,42	246	1	1	2	2	1,5	-	-
KD 24/3	0	0	0	0	0	2	1	2	2	1,75	0,452	267	2	2	2	2	2	-	-
KD 24/4	10	9	9	10	9,5	5	4	5	5	4,75	0,153	68	10	11	12	11	11	-	+
KD 24/5	7	8	8	7	7,5	4	3	4	3	3,5	0,248	131	6	6	7	7	6,5	-	-
KD 25/1	7	7	7	7	7	6	6	5	5	5,5	0,251	133	6	5	5	4	5	-	+
KD 25/2	6	6	6	6	6	4	4	5	5	4,5	0,376	217	3	4	4	3	3,5	++	+
KD 25/3	1	0	0	0	0,25	2	2	1	2	1,75	0,51	306	0	0	0	0	0	-	-
KD 25/4	6	5	5	5	5,25	2	2	2	2	2	0,568	345	0	0	0	0	0	-	-
KD 26/1	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	0,118	45	2	3	2	2	2,25	-	+
KD 26/2	0	0	0	0	0	2	2	3	2	2,25	0,286	157	2	2	1	1	1,5	-	-
KD 27/2	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	0,507	304	19	18	18	19	18,5	-	-
KD 27/3	7	7	7	7	7	4	5	4	5	4,5	0,074	15	19	20	20	19	19,5	-	-
KD 28/1	3	3	3	3	3	4	4	3	3	3,5	0,377	217	19	20	20	19	19,5	++	+
KD 28/2	5	4	4	6	4,75	3	4	5	5	4,25	0,287	157	4	4	4	4	4	-	-
KD 29/1	3	4	3	4	3,5	2	2	3	4	2,75	0,361	207	4	4	4	4	4	-	-
KD 29/2	0	0	0	0	0	4	3	3	4	3,5	0,593	361	0	0	0	0	0	-	-
KD 30/1	1	2	2	2	1,75	2	3	2	3	2,5	0,187	91	1	1	1	1	1	-	+
KD 30/2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,07	14	0	0	0	0	0	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	Xe <i>in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. Xe Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	1	1	1	1		2	2	2	2				2	2	2	2			
KD 31/1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	0,096	30	5	5	5	4	4,75	-	+
KD 31/2	0	0	0	0	0	4	3	4	4	3,75	0,207	104	0	0	0	0	0	-	-
KD 31/3	5	4	2	4	3,75	4	4	4	4	4	0,32	179	0	0	0	0	0	-	-
KD 31/4	0	0	0	0	0	3	4	4	4	3,75	0,074	15	0	0	0	0	0	-	-
KD 32/1	0	0	0	0	0	4	4	5	4	4,25	0,24	126	4	4	4	4	4	-	-
KD 32/2	0	0	0	0	0	3	3	2	2	2,5	0,051	9	0	0	0	0	0	-	-
KD 32/3	2	1	2	1	1,5	3	2	3	3	2,75	0,386	223	4	3	5	4	4	-	-
KD 32/4	0	0	0	0	0	2	2	2	1	1,75	0,38	219	0	0	0	0	0	-	-
KD 33/1	2	2	4	3	2,75	2	2	2	2	2	0,086	23	0	0	0	0	0	-	-
KD 33/2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,031	5	0	0	0	0	0	-	-
KD 33/3	7	6	6	7	6,5	1	1	1	1	1	0,403	235	2	2	3	2	2,25	-	-
KD 34/1	5	4	3	2	3,5	1	1	1	1	1	0,331	187	7	4	5	4	5	-	+
KD 34/2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,552	334	3	2	2	2	2,25	++++	-
KD 34/3	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,503	301	1	1	1	1	1	-	-
KD 35/1	3	4	3	5	3,75	5	5	6	5	5,25	0,252	134	3	2	2	2	2,25	-	-
KD 36/1	0	0	0	0	0	5	4	5	4	4,5	0,303	168	2	1	1	1	1,25	++	-
KD 36/2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,425	249	2	2	2	1	1,75	-	-
KD 36/3	0	0	0	0	0	3	4	3	4	3,5	0,572	347	3	2	3	2	2,5	-	-
KD 37/1	0	0	0	0	0	2	1	1	1	1,25	0,202	101	0	0	0	0	0	-	-
KD 37/2	1	1	1	1	1	4	4	4	4	4	0,267	144	1	1	1	1	1	-	-
KD 39/1	1	1	1	1	1	3	4	4	4	3,75	0,494	295	0	0	0	0	0	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	<i>Xe in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. <i>Xe</i> Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
KD 39/2	0	0	0	0	0	2	4	2	4	3	0,323	181	0	0	0	0	0	-	-
KD 40/1	0	0	0	0	0	8	9	8	8	8,25	0,252	134	2	2	1	1	1,5	-	-
KD 40/2	0	0	0	0	0	12	12	13	12	12,25	0,711	440	2	1	1	2	1,5	-	-
KD 40/3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,26	139	2	2	2	2	2	-	-
KD 40/5	4	3	3	2	3	3	3	3	3	3	0,392	227	5	4	5	4	4,5	-	-
KD 41/1	5	3	1	2	2,75	3	4	4	3	3,5	0,309	172	1	2	3	1	1,75	-	-
KD 41/3	0	0	0	0	0	3	3	4	4	3,5	0,497	297	4	3	4	3	3,5	-	-
KD 41/4	0	0	0	0	0	9	8	9	9	8,75	0,647	397	1	1	0	0	0,5	-	-
KD 42/1	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,349	199	0	0	0	0	0	-	-
KD 42/2	0	0	0	0	0	2	3	2	3	2,5	0,39	226	2	2	1	1	1,5	-	-
KD 42/3	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	0,544	329	2	2	2	2	2	-	-
KD 44/1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	0,258	138	4	3	1	1	2,25	-	-
KD 44/2	3	3	3	3	3	3	3	4	3	3,25	0,272	147	1	1	1	1	1	-	-
KD 44/3	0	0	0	0	0	3	3	4	3	3,25	0,391	227	1	1	1	1	1	-	-
KD 45/1	0	0	0	0	0	0,4	0,4	0,5	0,4	0,425	0,343	195	0	0	0	0	0	-	-
KD 45/2	1	1	1	1	1	1	1	0,6	0,5	0,775	0,184	89	3	2	3	2	2,5	-	-
KD 46/1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,362	207	5	4	1	1	2,75	-	-
KD 47/1	2	1	2	3	2	5	5	5	5	5	0,157	71	5	5	6	5	5,25	-	+
KD 47/2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,001	2	0	0	0	0	0	-	-
KD 47/3	0	0	0	0	0	4	3	3	4	3,5	0,553	335	0	0	0	0	0	-	-
KD 48/3	8	8	5	5	6,5	6	5	6	5	5,5	0,277	151	2	2	1	1	1,5	+	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	Xe in vitro engelleme zonu(mm)				Ort. Xe Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	2	1	2	1		2	1	2	1				3	4	3	4			
KD 49/1	2	1	2	1	1,5	2	1	2	1	1,5	0,06	11	3	4	3	4	3,5	-	-
KD 50/1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0,444	262	1	1	1	1	1	-	-
KD 50/2	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1,25	0,384	222	0	0	0	0	0	-	-
KD 50/3	1	2	1	2	1,5	3	2	3	2	2,5	0,312	174	2	1	2	1	1,5	++	-
KD 50/4	3	3	3	3	3	4	3	4	3	3,5	0,294	162	2	2	2	2	2	+	-
KD 51/2	0	0	0	0	0	0,5	0,8	0,7	0,7	0,675	0,718	445	0	0	0	0	0	-	-
KD 52/1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,02	3	0	0	0	0	0	-	-
KD 53/1	3	3	3	3	3	2	2	2	3	2,25	0,311	173	9	9	8	8	8,5	++	-
KD 53/2	0	0	0	0	0	1	2	3	3	2,25	0,301	167	5	4	5	4	4,5	-	-
KD 53/3	0	0	0	0	0	5	5	5	4	4,75	0,246	130	3	3	3	3	3	-	-
KD 54/1	0	0	0	0	0	1	1	2	2	1,5	0,055	9	0	0	0	0	0	-	-
KD 54/2	7	6	5	5	5,75	3	3	4	4	3,5	0,261	140	1	1	1	1	1	+	-
KD 55/1	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	0,224	115	4	2	2	1	2,25	-	-
KD 56/1	1	1	1	1	1	3	2	2	2	2,25	0,541	327	3	3	3	3	3	++	-
KD 56/3	0	0	0	0	0	3	3	4	4	3,5	0,264	142	7	7	7	7	7	-	+
KD 57/1	0	0	0	0	0	4	3	3	3	3,25	0,242	127	4	4	4	3	3,75	-	-
KD 57/2	0	0	0	0	0	4	4	3	3	3,5	0,237	124	3	3	3	2	2,75	-	-
KD 58/1	3	3	3	2	2,75	6	6	5	6	5,75	0,151	67	4	2	3	2	2,75	-	-
KD 58/2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	0,845	529	0	0	0	0	0	-	-
KD 59/1	0	0	0	0	0	2	1	1	1	1,25	0,236	123	0	0	0	0	0	-	-
KD 60/2	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	0,232	121	3	3	3	3	3	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	<i>Xe in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. <i>Xe</i> Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	1	1	1	1		5	4	5	5				4	3	4	3			
KD 60/3	1	1	1	1	1	5	4	5	5	4,75	0,112	41	4	3	4	3	3,5	+	+
KD 60/4	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	0,566	343	3	3	2	1	2,25	+++	-
KD 61/1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0,041	7	0	0	0	0	0	-	-
KD 62/1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	1,75	0,529	319	0	0	0	0	0	-	-
KD 63/1	1	1	1	1	1	4	4	5	4	4,25	0,183	88	0	0	0	0	0	-	-
KD 63/2	7	6	5	6	6	9	8	9	8	8,5	0,435	256	0	0	0	0	0	+++	-
KD 64/1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0,068	11	1	1	1	1	1	-	-
KD 64/2	3	2	2	1	2	8	8	7	6	7,25	0,179	85	5	5	5	5	5	-	-
KD 65/1	5	4	5	4	4,5	5	5	4	5	4,75	0,122	47	4	4	4	4	4	-	-
KD 65/2	3	3	3	2	2,75	2	2	3	3	2,5	0,057	9	0	0	0	0	0	-	-
KD 65/3	3	3	2	2	2,5	6	5	6	5	5,5	0,178	85	0	0	0	0	0	-	-
KD 66/1	3	2	3	2	2,5	3	2	3	2	2,5	0,205	103	1	1	2	2	1,5	-	-
KD 67/1	2	2	2	2	2	2	3	2	2	2,25	0,471	280	0	0	0	0	0	-	-
KD 68/1	4	3	4	3	3,5	12	11	13	13	12,25	0,194	95	5	5	5	5	5	-	-
KD 68/2	3	3	3	3	3	4	4	4	4	4	0,214	109	0	0	0	0	0	-	-
KD 70/1	1	1	1	1	1	4	3	4	3	3,5	0,162	74	0	0	0	0	0	-	-
KD 70/2	2	2	2	2	2	5	5	5	4	4,75	0,321	180	3	5	4	5	4,25	+	-
KD 70/3	2	2	2	2	2	5	5	4	5	4,75	0,298	165	4	4	2	2	3	-	-
KD 72/1	3	3	3	3	3	6	5	5	5	5,25	0,191	93	1	1	1	1	1	-	-
KD 73/1	1	1	1	1	1	6	7	7	7	6,75	0,311	173	1	1	1	1	1	-	+
KD 73/2	5	5	5	5	5	6	7	7	7	6,75	0,188	91	2	2	2	1	1,75	+	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	Xe <i>in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. Xe Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
KD 73/3	3	3	3	3	3	2	2	2	1	1,75	0,206	103	1	1	1	1	1	-	-
KD 74/1	4	4	4	4	4	2	2	3	3	2,5	0,228	118	0	0	0	0	0	-	-
KD 74/2	1	1	1	1	1	2	3	3	3	2,75	0,313	175	0	0	0	0	0	-	-
KD 74/3	3	3	3	2	2,75	3	3	3	3	3	0,419	245	0	0	0	0	0	-	-
KD 75/1	3	3	3	3	3	1	2	1	2	1,5	0,142	61	2	1	2	1	1,5	-	-
KD 76/1	4	4	2	1	2,75	2	2	2	2	2	0,336	190	1	1	1	1	1	-	-
KD 76/2	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	0,156	70	2	2	2	2	2	-	-
KD 77/1	0	0	0	0	0	6	5	5	4	5	0,158	71	4	3	2	2	2,75	-	-
KD 77/3	3	2	1	1	1,75	3	3	3	2	2,75	0,101	33	8	7	8	7	7,5	-	+
KD 78/1	0	0	0	0	0	3	3	3	3	3	0,357	204	2	2	2	2	2	-	-
KD 79/1	3	3	3	4	3,25	9	8	9	8	8,5	0,334	189	5	6	5	6	5,5	-	-
KD 80/2	3	3	3	2	2,75	14	15	16	15	15	0,777	484	8	7	8	8	7,75	+	-
KD 81/1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3	0,263	141	0	0	0	0	0	+	+
KD 81/2	3	3	4	3	3,25	6	5	5	5	5,25	0,519	312	0	0	0	0	0	+	-
KD 81/3	1	1	1	1	1	5	4	4	4	4,25	0,251	133	8	8	8	8	8	-	-
KD 82/1	0	0	0	0	0	5	6	6	7	6	0,724	449	10	9	10	9	9,5	++	-
KD 82/2	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1,25	0,035	6	0	0	0	0	0	-	-
KD 83/3	4	3	2	2	2,75	6	5	5	5	5,25	0,251	133	3	3	3	3	3	-	-
KD 84/1	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	0,299	165	7	6	7	6	6,5	+	-
KD 84/3	4	4	4	4	4	10	10	11	11	10,5	0,566	343	6	5	6	5	5,5	+	-
KD 85/1	1	1	1	1	1	3	3	4	2	3	0,312	174	2	3	3	2	2,5	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	<i>Xe in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. <i>Xe</i> Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	0	0	0	0		5	5	5	5				5	5	5	5			
KD 85/3	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	0,252	134	5	6	5	6	5,5	+	-
KD 86/1	0	0	0	0	0	5	5	6	5	5,25	0,268	145	1	1	1	1	1	+	+
KD 86/2	0	0	0	0	0	3	3	4	3	3,25	0,246	130	1	1	1	1	1	-	+
KD 87/1	0	0	0	0	0	7	6	7	7	6,75	0,264	142	0	0	0	0	0	-	-
KD 87/2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,424	249	0	0	0	0	0	-	-
KD 87/3	0	0	0	0	0	3	3	4	4	3,5	0,201	100	0	0	0	0	0	-	-
KD 87/4	0	0	0	0	0	3	2	2	2	2,25	0,062	11	0	0	0	0	0	-	-
KD 88/1	9	9	8	8	8,5	7	6	6	6	6,25	0,301	167	2	2	2	2	2	+	-
KD 88/2	5	5	1	1	3	4	4	4	4	4	0,518	311	1	1	1	1	1	+++	-
KD 89/1	1	1	1	1	1	5	4	4	5	4,5	0,424	249	3	3	3	3	3	+++	-
KD 89/2	0	0	0	0	0	5	7	6	6	6	0,453	268	0	0	0	0	0	-	-
KD 89/3	8	7	7	6	7	4	4	4	4	4	0,231	120	5	6	5	6	5,5	+	+
KD 90/1	2	1	1	1	1,25	2	1	2	1	1,5	0,355	203	1	1	1	1	1	+	-
KD 90/2	3	3	3	3	3	1	1	1	2	1,25	0,061	11	0	0	0	0	0	-	-
KD 91/1	8	8	8	9	8,25	9	8	9	9	8,75	0,337	191	4	4	4	4	4	+	-
KD 91/2	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	0,082	21	0	0	0	0	0	-	-
KD 91/3	2	2	2	2	2	2	1	2	1	1,5	0,336	190	1	1	1	1	1	-	-
KD 93/1	4	3	3	3	3,25	6	6	5	4	5,25	0,198	98	4	3	4	3	3,5	+	-
KD 93/2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,331	187	4	3	4	3	3,5	-	-
KD 95/1	6	6	6	6	6	8	8	8	9	8,25	0,131	53	5	6	5	5	5,25	+	-
KD 95/2	6	4	6	4	5	5	5	5	5	5	0,205	103	7	6	6	6	6,25	+	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	Xe <i>in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. Xe Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	9	8	8	8		4	4	4	4				4	5	5	5			
KD 97/1	9	8	8	8	8,25	4	4	4	4	4	0,468	278	5	5	5	5	5	++	-
KD 98/1	8	7	7	7	7,25	3	3	4	4	3,5	0,255	136	7	6	7	6	6,5	-	+
KD 98/2	3	2	3	2	2,5	4	4	4	4	4	0,278	151	5	6	5	6	5,5	-	-
KD 99/1	1	1	1	1	1	4	4	5	4	4,25	0,074	15	0	0	0	0	0	-	-
KD 100/1	3	2	2	2	2,25	5	6	4	4	4,75	0,163	75	7	7	7	7	7	-	-
KD 101/2	0	0	0	0	0	2	2	2	2	2	0,064	11	0	0	0	0	0	-	-
KD 101/3	8	7	8	7	7,5	5	5	5	4	4,75	0,294	162	8	7	8	7	7,5	-	+
KD 102/1	6	4	5	4	4,75	8	7	7	6	7	0,332	187	8	7	4	4	5,75	-	-
KD 102/2	0	0	0	0	0	5	5	5	4	4,75	0,279	152	4	9	7	4	6	-	-
KD 102/3	0	0	0	0	0	6	6	5	5	5,5	0,269	145	2	1	2	1	1,5	-	-
KD 103/1	13	11	7	5	9	4	4	4	4	4	0,081	20	7	7	7	7	7	-	-
KD 103/2	0	0	0	0	0	7	7	7	7	7	0,163	75	1	1	2	1	1,25	-	-
KD 103/3	2	2	2	2	2	9	6	6	6	6,75	0,338	191	2	2	2	2	2	-	-
KD 104/1	2	2	2	2	2	6	5	6	6	5,75	0,233	121	9	8	7	6	7,5	-	-
KD 104/2	3	2	3	2	2,5	6	4	4	4	4,5	0,171	80	5	5	5	5	5	+	-
KD 104/3	1	1	1	1	1	5	5	6	5	5,25	0,242	127	5	4	5	4	4,5	-	-
KD 104/4	0	0	0	0	0	6	6	5	5	5,5	0,249	132	2	2	2	2	2	-	-
KD 105/1	0	0	0	0	0	8	8	8	7	7,75	0,169	79	2	2	2	2	2	-	-
KD 105/3	1	1	1	1	1	7	6	6	5	6	0,222	114	9	5	6	5	6,25	+	-
KD 106/1	2	3	3	2	2,5	5	6	5	5	5,25	0,156	70	0	0	0	0	0	-	-
KD 108/1	3	2	3	2	2,5	3	4	3	4	3,5	0,113	41	1	1	1	1	1	+++	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	Xe <i>in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. Xe Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	0	0	0	0		2	3	2	2				0	0	0	0			
KD 108/2	0	0	0	0	0	2	3	2	2	2,25	0,19	93	0	0	0	0	0	++	-
KD 108/3	0	0	0	0	0	7	8	10	10	8,75	0,271	147	1	1	1	1	1	-	-
KD 108/4	0	0	0	0	0	6	5	5	5	5,25	0,601	367	0	0	0	0	0	+++	-
KD 108/5	0	0	0	0	0	7	6	6	5	6	0,476	283	1	1	1	1	1	-	-
KD 110/1	0	0	0	0	0	5	5	5	4	4,75	0,189	92	2	2	2	1	1,75	-	-
KD 110/2	2	2	2	2	2	6	6	6	6	6	0,351	200	2	1	2	1	1,5	-	-
KD 112/2	2	2	2	2	2	12	11	13	11	11,75	0,065	11	2	2	2	1	1,75	+	-
KD 112/4	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	0,198	98	0	0	0	0	0	-	-
KD 113/1	5	6	5	6	5,5	4	3	2	4	3,25	0,257	137	1	1	1	1	1	+	-
KD 113/2	0	0	0	0	0	4	3	4	4	3,75	0,634	389	2	2	2	2	2	-	-
KD 114/1	0	0	0	0	0	10	9	4	5	7	0,551	333	4	3	4	3	3,5	-	-
KD 114/2	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	0,651	400	2	2	2	2	2	-	-
KD 116/1	0	0	0	0	0	3	3	2	3	2,75	0,229	119	1	1	1	1	1	-	-
KD 116/2	0	0	0	0	0	7	7	7	6	6,75	0,034	5	6	5	5	4	5	-	-
KD 117/1	0	0	0	0	0	8	8	8	8	8	0,066	10	2	1	2	1	1,5	-	-
KD 117/2	1	1	1	1	1	5	5	5	5	5	0,664	409	0	0	0	0	0	++	-
KD 118/1	0	0	0	0	0	3	3	4	4	3,5	0,171	80	2	2	2	2	2	-	-
KD 118/2	1	1	1	1	1	4	4	4	5	4,25	0,474	282	8	9	8	9	8,5	-	-
KD 119/1	0	0	0	0	0	6	5	6	5	5,5	0,051	9	5	5	5	5	5	-	-
KD 119/2	0	0	0	0	0	5	5	5	4	4,75	0,669	412	1	1	1	1	1	+++	-
KD 119/3	0	0	0	0	0	6	5	6	5	5,5	0,182	87	1	1	1	1	1	-	-

Tablo 4.3 (devam)

İzolat Kodu	Xe <i>in vitro</i> engelleme zonu(mm)				Ort. Xe Engelleme zonu(mm)*	Siderofor salgılama (mm)				SİD salgılama ort.(mm)*	IAA Üretimi (OD <sub>535</sub> )	IAA <sup>ppm</sup>	Fosfataz Aktivitesi (mm)				FOS ort.(mm)*	ACC deaminaz	HCN üretimi
	0	0	0	0		4	4	4	3				2	2	1	1			
KD 120/1	0	0	0	0	0	4	4	4	3	3,75	0,681	420	2	2	1	1	1,5	+++	-
KD 120/2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	0,229	119	4	4	4	4	4	+	+
KD 121/1	2	2	2	2	2	8	8	8	8	8	0,243	128	0	0	0	0	0	-	-
KD 121/2	0	0	0	0	0	4	4	5	5	4,5	0,152	67	1	1	1	1	1	-	+
KD 122/1	0	0	0	0	0	5	5	5	4	4,75	0,171	80	1	1	1	1	1	++	+
KD 122/2	0	0	0	0	0	3	3	3	4	3,25	0,691	427	5	5	5	5	5	+	-
KD 123/1	6	6	6	5	5,75	6	5	3	3	4,25	0,224	115	4	4	4	4	4	-	-
KD 123/2	0	0	0	0	0	6	5	6	6	5,75	0,076	17	0	0	0	0	0	-	-
KD 124/1	6	6	5	6	5,75	7	7	7	6	6,75	0,196	97	0	0	0	0	0	+	-
KD 125/1	0	0	0	0	0	4	5	4	4	4,25	0,192	94	5	5	4	5	4,75	-	+
KD 126/1	3	2	3	2	2,5	2	2	3	3	2,5	0,235	123	18	17	18	18	17,75	++	-

\* Değerler 4 tekerrür ortalamasıdır.

#### 4.4 *In vivo* Testler İçin Yararlı Bakteri İzolatlarının Seçilmesi

Yararlı bakteri izolatlarının *in vivo* testlere seçilmesi 3.6'da belirtilen protokol ile gerçekleştirilmiştir. Tartılı derecelendirme yöntemi ile puanlama yapılarak oluşturulan değerlendirme sonucu 100 üzerinden 45 ve üzerinde puan alan 15 tane (KD 4/5, KD 7/1, KD 7/2, KD 10/3, KD15/1, KD15/2, KD 17/2, KD 25/2, KD 63/2, KD 80/2, KD84/3, KD 88/1, KD 88/2, KD 91/1, KD 97/1) yararlı bakteri izolatları seçilmiş ve bu izolatlar ile *in vivo* testler gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.4 İzolatların tartılı derecelendirme yöntemi ile aldıkları puanlar

İzolat kodu	XE (mm)*	XE*	SİD*	SİD*	IAA	IAA*	FOS*	FOS*	AC C	ACC*	HC N	Topl. tart. Değer.
KD 4/5	10	30	4,25	10	0,238	3	1	1	+	5	-	49
KD 7/1	7,25	18	3,25	10	0,256	3	10,25	6	++ +	15	-	52
KD 7/2	10	30	3,25	10	0,222	3	4,75	2	+++	15	-	60
KD 10/3	8,25	24	5	10	0,249	3	3,5	2	+++	15	-	54
KD 15/1	8,25	24	2,75	5	0,581	15	4	2	+	5	-	51
KD 15/2	8,25	24	2,5	5	0,463	12	3,5	2	+	5	-	48
KD 17/2	9	24	12,25	25	0,163	1	1,5	1	+	5	+	56
KD 25/2	6	18	4,5	10	0,376	9	3,5	2	++	10	+	49
KD 63/2	6	18	8,5	15	0,435	9	0	0	+++	15	-	57
KD 80/2	2,75	6	15	25	0,777	15	7,75	4	+	5	-	55
KD 84/3	4	12	10,5	20	0,566	15	5,5	2	+	5	-	54
KD 88/1	8,5	24	6,25	15	0,301	6	2	1	+	5	-	51
KD 88/2	3	6	4	10	0,518	15	1	1	+++	15	-	47
KD 91/1	8,25	24	8,75	15	0,337	6	4	2	+	5	-	52
KD 97/1	8,25	24	4	10	0,468	12	5	2	++	10	-	58

\* Değerler 4 tekerrür ortalamasıdır.

\*\* Tartılı derecelendirme yöntemine ile biyokontrol ve bitki gelişimi parametlerine göre yapılan puanlamalar

#### 4.5 *In vivo* Koşullarda *Xanthomonas euvesicatoria*'a karşı Biyokontrol Çalışmaları Sonuçları

Domateste *X. euvesicatoria*'a karşı seçilen potansiyel 15 antagonist adayı patosisteme tohuma bioprimer ve yeşil aksama püskürtme olarak 2 şekilde uygulanmıştır. Hastalık etmeni *Xe* inokulasyonundan 10 gün sonra hastalık

şiddetini belirlemek için değerlendirme yapılmıştır. Deneme sonuçlarına göre KD 84/3, KD 15/2 ve KD 4/5 izolatları ile yapılan püskürtme uygulamalarında %30-37 aralığında hastalık şiddeti oluşturmuştur ve pozitif kontrol ile kıyaslandığında püskürtme uygulamalarında en başarılı yararlı bakteri izolatları olarak belirlenmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5 Yeşil aksama püskürtme uygulaması yapılmış yararlı bakteri izolatlarının *Xanthomonas euvesicatoria*'ya etkileri

İzolat kodu	Hastalık Şiddeti (%)		Ortalama hastalık şiddeti (%)**	Etki (%)***
	1.deneme*	2. deneme*		
KD 4/5	35,62 <sup>ab****</sup>	30,62 <sup>ab****</sup>	33,12	43,91
KD 7/1	56,95 <sup>d</sup>	34,16 <sup>abcd</sup>	45,55	22,86
KD 7/2	35,12 <sup>ab</sup>	30,83 <sup>abc</sup>	32,97	44,16
KD 10/3	43,25 <sup>bc</sup>	35,83 <sup>abcd</sup>	39,54	33,03
KD 15/1	34,87 <sup>ab</sup>	34,87 <sup>abcd</sup>	34,87	40,94
KD 15/2	31,62 <sup>a</sup>	37,12 <sup>bcd</sup>	34,37	41,79
KD 17/2	51,0 <sup>cd</sup>	39,78 <sup>d</sup>	45,39	23,13
KD 25/2	36,12 <sup>ab</sup>	38,75 <sup>d</sup>	37,43	36,61
KD 63/2	58,12 <sup>d</sup>	53,33 <sup>e</sup>	55,72	5,63
KD 80/2	53,12 <sup>cd</sup>	36,45 <sup>abcd</sup>	44,78	24,16
KD 84/3	30,50 <sup>a</sup>	30,0 <sup>a</sup>	30,25	48,77
KD 88/1	44,79 <sup>bc</sup>	36,25 <sup>abcd</sup>	40,52	31,38
KD 88/2	53,75 <sup>cd</sup>	37,87 <sup>cd</sup>	45,81	22,42
KD 91/1	51,25 <sup>cd</sup>	31,25 <sup>abc</sup>	41,25	30,16
KD 97/1	37,50 <sup>ab</sup>	39,79 <sup>d</sup>	38,64	34,56
Pozitif Kontrol	61,66 <sup>d</sup>	56,45 <sup>e</sup>	59,05	

\* Değerler her saksıda 1 bitki olmak üzere 10 tekerrür ortalamasıdır.

\*\* Değerler farklı dönemde yapılan iki denemenin ortalamasıdır.

\*\*\* Duncan çoklu testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $P < 0,05$ 'e göre önemsizdir.

\*\*\*\* Değerler Abbott'a göre uygulamaların Pozitif kontrolden farkını (%) göstermektedir.

KD 15/2 izolatı ise, tohuma bioprining uygulamalarında en başarılı yararlı bakteri olarak belirlenmiştir. (Tablo 4.6) Pozitif kontrol; birinci denemede %61.66 oranında, ikinci denemede %56.45 oranında yüksek hastalık şiddeti oluşmuştur (Şekil 4.6). Hem tohuma bioprining hem de püskürtme uygulamalarında; KD 15/2, KD 84/3 ve KD 91/1 en başarılı izolatlar olarak belirlenmiştir. KD 63/2 izolatı ile yapılan biyokontrol uygulamalarında hastalık şiddeti oldukça yüksektir ve istatistiksel olarak pozitif kontrol ile aynı grup içinde yer almıştır. Sadece su uygulaması yapılan domates bitkileri negatif kontrol olarak değerlendirilmiş ve herhangi bir hastalık belirtisi göstermemiştir.

Tablo 4.6 Tohum kaplama biçiminde uygulanan yararlı bakteri izolatlarının *X. euvesicatoria*'ya etkileri

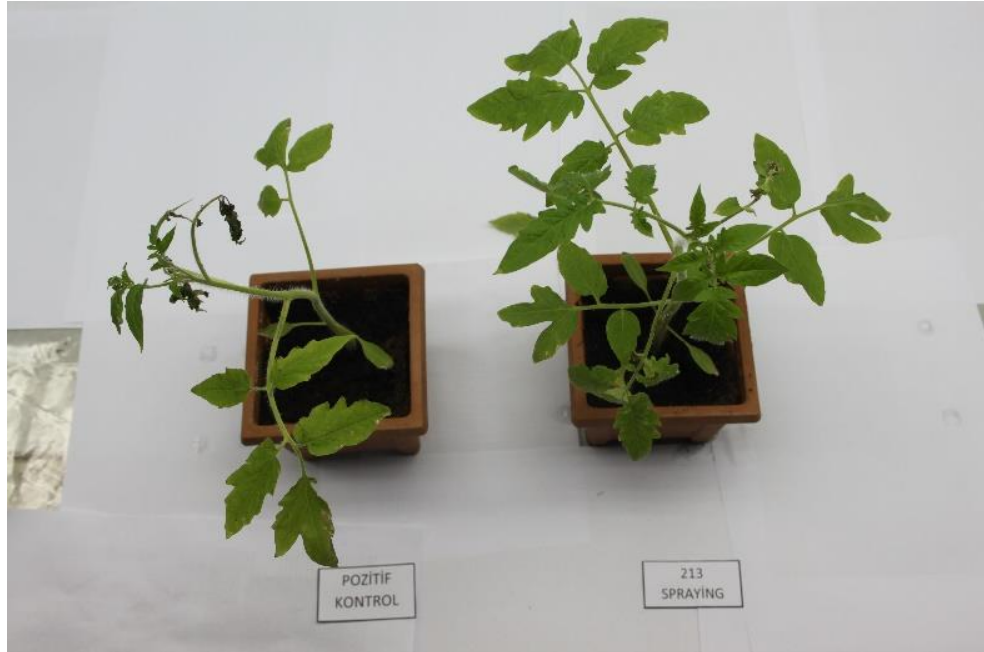
İzolat kodu	Hastalık Şiddeti (%)		Ortalama hastalık şiddeti (%) **	Etki (%) ****
	1.deneme*	2. deneme*		
KD 4/5	46,37 <sup>bcd***</sup>	50,0 <sup>bcd***</sup>	48,18	18,4
KD 7/1	53,12 <sup>def</sup>	58,12 <sup>f</sup>	55,62	5,8
KD 7/2	52,29 <sup>def</sup>	51,70 <sup>def</sup>	51,99	11,95
KD 10/3	52,41 <sup>def</sup>	53,12 <sup>def</sup>	52,76	10,65
KD 15/1	49,83 <sup>cde</sup>	44,37 <sup>b</sup>	47,1	20,23
KD 15/2	30,62 <sup>a</sup>	34,16 <sup>a</sup>	32,39	45,14
KD 17/2	46,04 <sup>bcd</sup>	49,58 <sup>bcd</sup>	47,81	19,03
KD 25/2	50,20 <sup>cdef</sup>	55,50 <sup>ef</sup>	52,85	10,49
KD 63/2	60,62 <sup>ef</sup>	56,12 <sup>ef</sup>	58,37	1,15
KD 80/2	51,25 <sup>cdef</sup>	44,75 <sup>bc</sup>	48	18,71
KD 84/3	40,20 <sup>abc</sup>	46,25 <sup>bcd</sup>	43,22	26,8
KD 88/1	54,29 <sup>def</sup>	37,50 <sup>a</sup>	45,89	22,28
KD 88/2	59,04 <sup>ef</sup>	53,62 <sup>ef</sup>	56,33	4,6
KD 91/1	36,50 <sup>ab</sup>	34,25 <sup>a</sup>	35,37	40,1
KD 97/1	44,37 <sup>bcd</sup>	52,08 <sup>def</sup>	48,22	18,34
Pozitif Kontrol	61,66 <sup>f</sup>	56,45 <sup>ef</sup>	59,05	

\* Değerler her saksıda 1 bitki olmak üzere 10 tekerrür ortalamasıdır.

\*\* Değerler farklı dönemde yapılan iki denemenin ortalamasıdır.

\*\*\* Duncan çoklu testine göre aynı sütunda aynı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark  $P < 0,05$ 'e göre önemsizdir.

\*\*\*\* Değerler Abbott'a göre uygulamaların Pozitif kontrolden farkını (%) göstermektedir.



Şekil 4.6 Yararlı bakteri izolatları ile püskürtme uygulaması görmüş bitkide *X. euvesicatoria*'nın belirti gelişiminin uygulama görmemiş pozitif kontrol ile karşılaştırılması

## 4.6 Yararlı Bakterilerin Bitki Büyüme Parametreleri Üzerine Etkisi

### 4.6.1 Vigorite indeksi sonuçları

Yukarıda belirtilen *in vitro* PGPR ve *Xe*'e karşı biyokontrol testlerindeki performansları doğrultusunda 4.4 bölümünde açıklanan tartılı derecelendirme yöntemi ile seçilen 15 yararlı bakteri izolatu vigorite testine seçilmiştir. Ortalama vigor indeksinin hiç uygulama görmemiş negatif kontrolde 8574 olduğu saptanmıştır. KD 17/2 ve KD 80/2 izolatları kontrole kıyasla daha düşük Vigor indeksi oluşmuştur. KD 97/1 izolatu 12342,3 vigor indeksi göstererek diğer tüm uygulamalardan farklı grupta yer almıştır. Vigorite İndeksi testinin karşılaştırmalı sonuçları Tablo 4.7'de görülmektedir.

Tablo 4.7 Yararlı bakteri izolatlarının vigorite indeksi sonuçları

İzolat kodu	Çimlenme (%)*	Vigorite indeksi
KD 4/5	%98	10774,5 <sup>abc*</sup>
KD 7/1	%94	10322,9 <sup>abcd</sup>
KD 7/2	%98	10646 <sup>abcd</sup>
KD 10/3	%90	8579,4 <sup>de</sup>
KD 15/1	%94	9915,3 <sup>bcd</sup>
KD 15/2	%94	11658,5 <sup>ab</sup>
KD 17/2	%92	7716,2 <sup>e</sup>
KD 25/2	%100	9407,2 <sup>cde</sup>
KD 63/2	%96	10545,7 <sup>abcd</sup>
KD 80/2	%96	7705,8 <sup>e</sup>
KD 84/3	%92	10451 <sup>abcd</sup>
KD 88/1	%100	10736,8 <sup>abc</sup>
KD 88/2	%100	11176,6 <sup>abc</sup>
KD 91/1	%100	11108,5 <sup>abc</sup>
KD 97/1	%98	12342,3 <sup>a</sup>
Negatif Kontrol	%100	8574 <sup>de</sup>

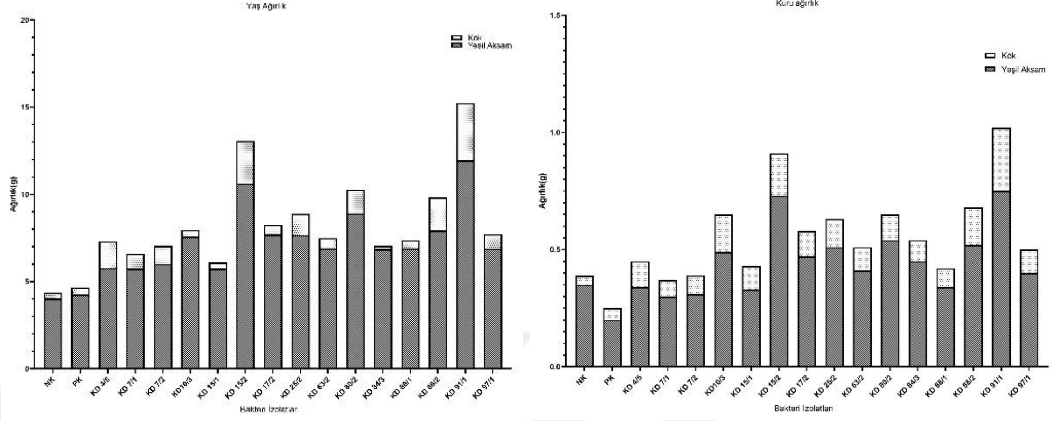
\*Değerler her tekrerde 50 tohum içeren 3 tekrerr ortalamasıdır.

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

### 4.6.2 Kuru Ağırlık/Yaş Ağırlık üzerine etkileri sonuçları

Yararlı bakteriler ile tohuma bioprining yapılan bitkiler arasında, KD 91/1 izolatu ile uygulama yapılan bitkiler, hem yaş ağırlık hem de kuru ağırlık ölçümleri için diğer izolat uygulamalarının hepsinden önemli ölçüde daha iyi performans göstermiştir. KD 15/2 izolatu ile bioprining yapılan bitkilerde, KD 91/1 ile uygulama görmüş bitkilere kıyasla daha az ölçüde gelişmiş bitki büyümesi de gözlenmiştir (Şekil 4.7). *X. euvesicatoria* enfeksiyonu

gerçekleştirilen pozitif kontrol bitkilerinin kök ve sürgün kuru/yaş ağırlığı önemli derecede azalmıştır. En yüksek yeşil aksam ağırlığı,  $11,96 \pm 1,32$  g ve  $3,26 \pm 0,66$  g kök ağırlığı ile KD 91/1 ile biopriming yapılan bitkilerde belirlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.7 Yararlı bakteri izolatları ile tohum kaplaması yapılan bitkilerin yaş/kuru ağırlık değerleri

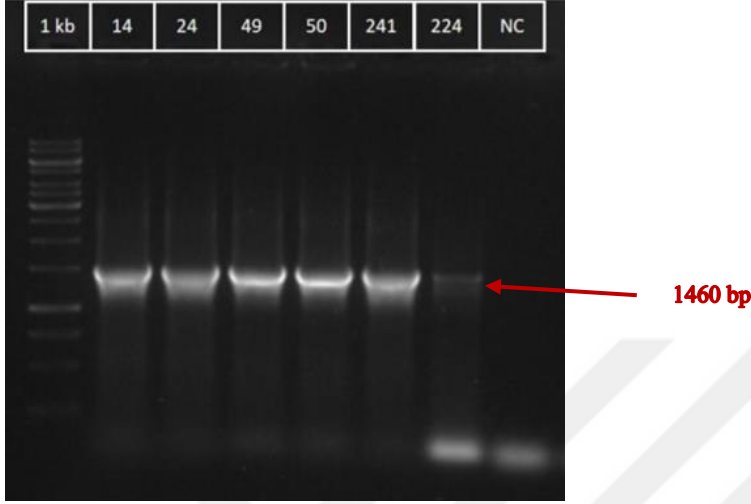


Şekil 4.8 KD 91/1 izolatının kök ve yeşil aksam gelişimine etkisinin uygulama görmemiş kontrol ile karşılaştırılması

#### 4.7 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Moleküler Tanısı

*In vivo* testlerde *Xe*'ye karşı en başarılı bulunan 6 adet yararlı bakterinin moleküler tanısı gerçekleştirilmiştir. Yararlı bakterilerin moleküler tanısında 16S rRNA hedef bölgesine göre dizayn edilmiş, 27F/1492R universal primer çiftleri

kullanılmış ve protokolde belirtildiği şekilde amplifikasyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri %1,5'luk Agaroz jelde koşturulmuş ve sonuçlar UV transilluminator görüntüleme cihazında 1460 bp'de bantların varlığıyla değerlendirilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. 27F/1492R primer çiftleri ile yapılan amplifikasyon sonucu 1460 bp'deki jel görüntüsü (14 nolu izolat, KD4/5; 24 nolu izolat, KD7/2; 49 nolu izolat KD15/1; 50 nolu izolat, KD15/2; 241 nolu izolat, KD91/1; 224 nolu izolat KD84/3)

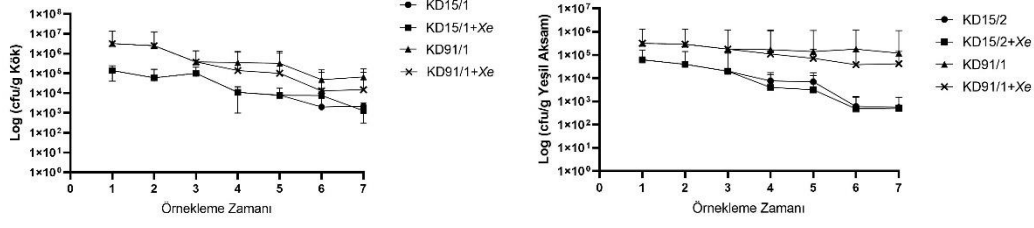
Elde edilen PCR ürünleri sekans analizine gönderilmiştir (Medsantek, Türkiye) ve sekans sonuçları NCBI veri tabandaki gerçekleştirilen BLAST analizlerine göre; bakteri izolatlarının tanısı yapılmıştır (Tablo 4.8). Sekans sonuçlarına göre, 3 izolatın *Pseudomonas putida* (KD 4/5, KD 7/2, KD 91/1), 1 izolatın *Enterobacter aerogenes* (KD 15/1), 1 izolatın *Enterobacter cloacae* (KD 15/2) ve 1 izolatın *Pantoea spp.* (KD 84/3) olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.8 Başarılı bulunan yararlı bakteri izolatlarının tanı ve NCBI referans numaraları

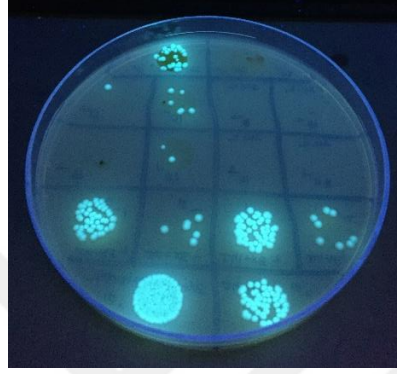
İzolat kodu	Bakteri Türü	Referans Benzerlik Oranı	Referans Erişim No	NCBI Erişim No
KD4/5	<i>Pseudomonas putida</i> strain SS4	99.14	MH488985.1	OM218731
KD7/2	<i>Pseudomonas putida</i> strain TDR9	93	KF478210.1	OM219206
KD15/1	<i>Enterobacter aerogenes</i> strain 217	96.7	LN623608.1	OM219003
KD15/2	<i>Enterobacter cloacae</i> strain ALD4.5	95.4	MG274270.1	OM219024
KD84/3	<i>Pantoea ananatis</i> strain NN08200	90	CP035034.1	
KD91/1	<i>Pseudomonas putida</i> strain INB3	99	MF683391.1	OM219060

#### 4.8 Etkili Bulunan Yararlı Bakterilerin Bitkide Kolonizasyonunun İzlenmesi Sonuçları

Çalışmada Rifampicine (200 ppm) ile etiketlenen *Enterobacter cloacae* KD 15/2 ve *Pseudomonas putida* KD 91/1 izolatları domates tohumlarına kaplanmış, zamana bağlı olarak bitkinin farklı dönemlerinde sistemik olarak taşınması ve kolonizasyonundaki değişim araştırılmıştır. Yararlı bakterileri izolatlarının domates bitkilerinde kolonizasyonu için kök ve yeşil aksamdan ayrı ayrı izolasyon yapılmıştır. Domates bitkilerinin bir bölümü *Xe* ile inokule edilirken diğer bölümü *Xe* ile inokule edilmeksizin yararlı bakterilerin popülasyon yoğunluğu ve kolonizasyonu izlenmiştir. Elde edilen verilere göre, *E. cloacae* KD 15/2 ve *P. putida* KD 91/1 bakteri izolatlarının tohumlara uygulanmasından 24 h sonra domates tohumlarına yüzey dezenfeksiyonu işlemi uygulanmış ve sırasıyla;  $7 \times 10^9$  ve  $8,6 \times 10^8$  cfu/gtohum düzeyinde bir bakteri popülasyonu ile yararlı bakterilerin tohum içine girdiği saptanmıştır. *E. cloacae* KD 15/2, *P. putida* KD 91/1, *E. cloacae* KD 15/2+*Xe* ve *P. putida* KD 91/1+*Xe* ile uygulama görmüş bitkilerin, köklerdeki ve yeşil aksamındaki yararlı bakteri popülasyon yoğunluğunun zamana bağlı olarak değişimi Şekil 4.10'de belirtilmiştir. Kotiledon döneminde de bitkinin yeşil aksam ve köklerin içsel dokularında sırasıyla ortalama  $6,2 \times 10^{4-5}$ - $3,2 \times 10^{5-6}$  cfu/gbitki düzeyinde bakteri popülasyonunun saptanması, *E. cloacae* KD 15/2 ve *P. putida* KD 91/1 izolatlarının tohumdan yeni gelişen bitkiye doğru kolonize olduğunu göstermiştir. İkinci gerçek yaprak aşamasında yararlı bakteri izolatları domates bitkisinin yeşil aksamında ve kök dokusunda popülasyonu  $2,9 \times 10^{4-5}$  –  $2,5 \times 10^{4-6}$  cfu/g bitki düzeyini korumuştur. Patojen inokulasyonu sonrası 24. saatte *E. cloacae* KD 15/2 izolatı yeşil aksamda  $4 \times 10^3$  cfu/g bitki, kökte ise;  $1,1 \times 10^4$  cfu/g kök düzeyinde belirlenmiştir. Patojen inokulasyonu sonrası 72. saatte *P. putida* KD 91/1 izolatı yeşil aksamda  $7,2 \times 10^4$  cfu/g bitki, kökte ise;  $1 \times 10^5$  cfu/g kök düzeyinde popülasyon düzeyini korumuştur (Şekil 4. 11). Genel anlamda yararlı bakteri izolatları patojen varlığı ve yokluğunda, domates köklerinde ve yeşil aksamında başarıyla kolonize olmuştur.



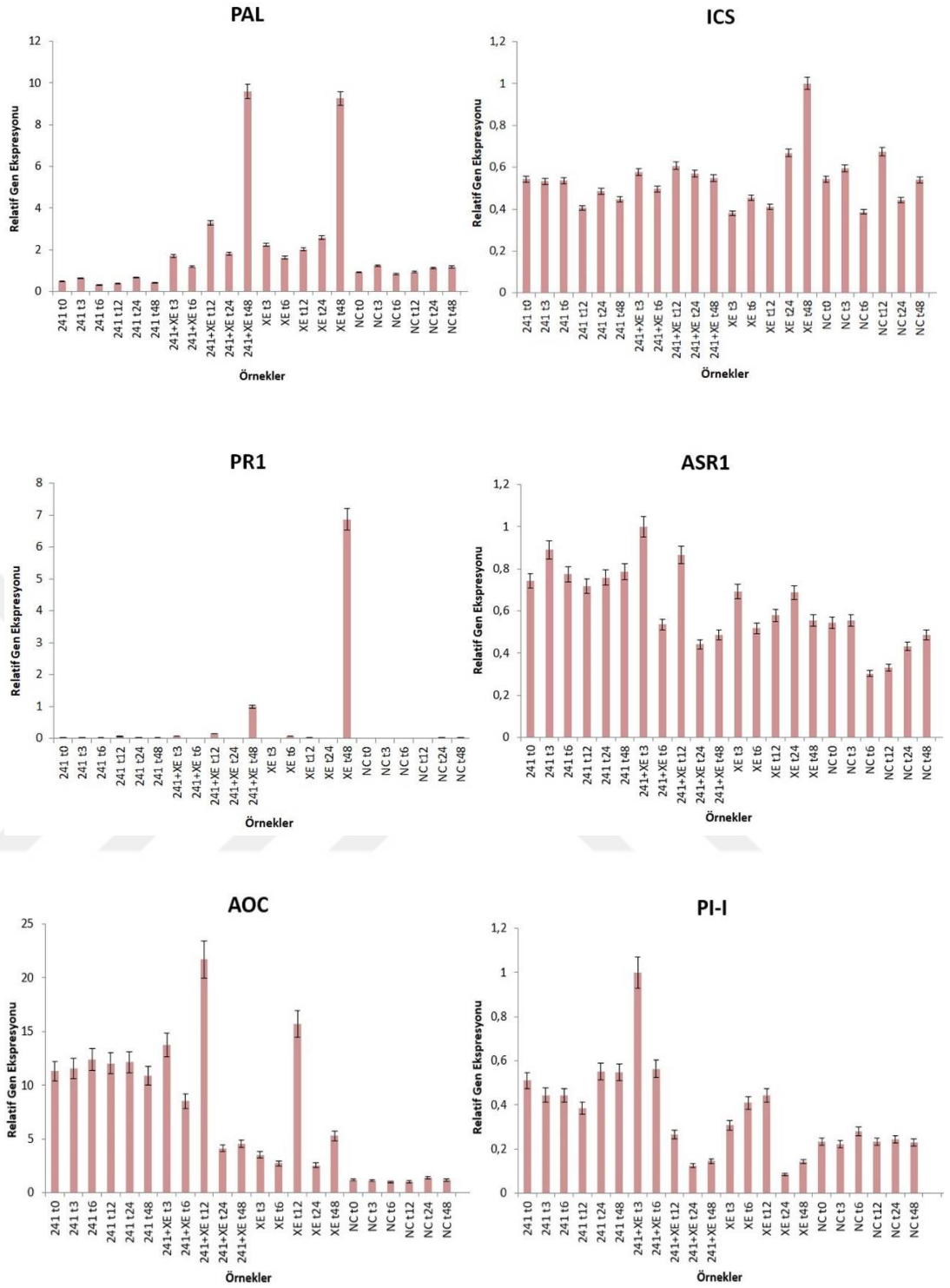
Şekil 4.10 Yararlı bakteri popülasyon yoğunluğunun zamana bağlı olarak değişimi

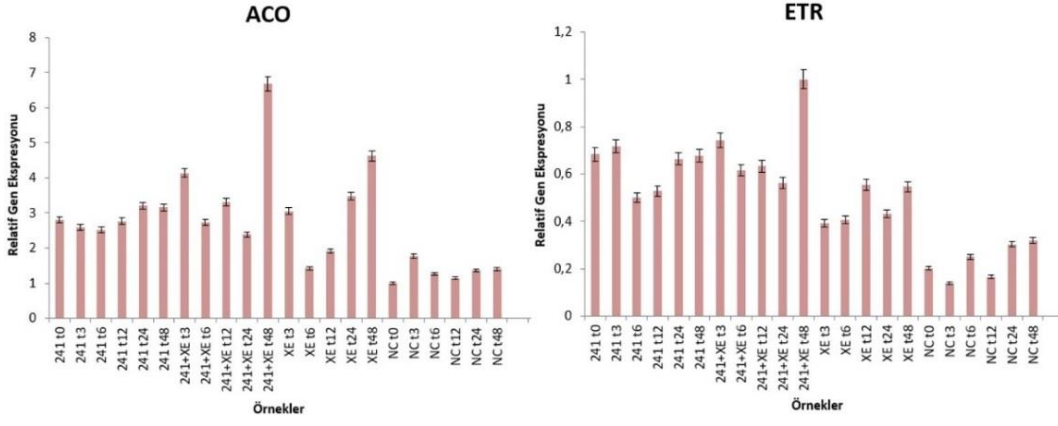


Şekil 4.11 *Pseudomonas putida* KD 91/1 izolatının patojen inokulasyonu sonrası bitki içsel dokularında kolonizasyonu

#### 4.9 Bitki Savunması ile İlişkili Gen İfade Profillerinin Belirlenmesi

*In vivo* biyokontrol testleri sonucunda *Xe*'e karşı en etkili bulunan yararlı bakteri izolatı seçilmiştir. Hem biyokontrol hem de bitki gelişimi açısından en başarılı olan *P. putida* KD 91/1 yararlı bakteri izolatı tohumla bioprimum yöntemi ile domates tohumlarına uygulanmıştır. Gen ekspresyon analizleri için, *X. euvesicatoria* inokulasyonundan itibaren 0., 3., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde yaprak örnekleri alınmıştır. PAL, ICS, PR1, ACO, PI-I, ETR, AOC ve ASR genlerinin ekspresyonları qPCR ile ölçülmüştür. *P. putida* KD 91/1 bakteri izolatı ile tohumla bioprimum uygulamasının hem SA ilişkili hem de JA ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerinde değişimleri tespit edilmiştir (Şekil 4.12).





Şekil 4.12 *P. putida* KD 91/1 (241 kodlu) izolatu ile tohuma priming yapılan bitkilerde gen ifade düzeyleri

KD 91/1 kodlu *Pseudomonas putida* bakteri izolatu ile tohum priming uygulamasının tek başına ilgili genlerin ifadesinde önemli bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir.

Yararlı bakteri ile tohum priming yapılmış bitkilerde *X. euvesicatoria* enfeksiyonundan 12 saat sonra PAL gen ekspresyon düzeylerinde artış gözlenmiştir. Özellikle patojen inokulasyonu sonrası 48. saatte PAL gen ifadesinde önemli farklılıklar gözlenmiştir ve bu artışın diğer zaman aralıklarındaki gen ifadesine göre daha anlamlı olduğu görülmüştür. Salisilik asit oluşumundan sorumlu iki yoldan biri olan ICS geninin ifadesinde önemli değişimler saptanmamıştır. *P. putida* KD 91/1 izolatu'nun ICS yolağını uyardığı söylenebilir. PR1'in transkript seviyesi, patojen inokulasyonu sonrası 48. saatte önemli artış göstermiştir. *P. putida* KD 91/1 ile priming yapılan bitkide patojen inokulasyonu sonrası transkript seviyesi artmıştır. ACO gen ifadesi için kontrol bitkileri transkript seviyeleri en düşüktür. Priming yapılmış bitkilerde patojen inokulasyonu sonrası 3. saatte transkript seviyeleri biraz artmış, 6., 12. ve 24. saatte biraz azalmıştır. 48. saatte tekrardan önemli düzeyde yükselmiştir. ET biyosentezi ile ilişkili ETR geni ve JA ile ilişkili PI-I geninin transkript seviyelerinde uygulamalar sonrası önemli farklar saptanmamıştır. Jasmonik asit oluşumundan sorumlu AOC işaretleyici geninin priming yapılmış bitkilerde patojen inokulasyonu sonrası 12. saatte negatif kontrole kıyasla 20 kat daha fazla ifade gösterdiği belirlenmiştir. ABA yolu ile ilgili olarak, priming

yapılan/yapılmayan bitkiler arasında ASR1'in ekspresyon seviyelerinde önemli fark gözlenmemiştir.



## 5. TARTIŞMA

*Xanthomonas euvesicatoria*, dünya genelinde domates yetiştirilen bölgelerde önemli verim kayıplarına neden olan bakteriyel bir hastalıktır (Potnis et al., 2015). Hastalığın primer inokulum kaynağının bulaşık tohum olduğu bilinmektedir. Tohum uygulamaları; bulaşık tohumlardan patojenin tamamen elimine edilmesi için yeterli olmamakta ve tohum canlılığını etkileyebilmektedir (Sahin and Miller, 1998; Giovanardi et al., 2018). Bu nedenle; genellikle hastalığın yönetiminde streptomisin gibi antibiyotikler ve bakırlı preparatlar üzerine yoğunlaşmıştır (Potnis et al., 2015). Streptomisin ve bakır bazlı bakterisitlerin yaygın kullanımı, streptomisin ve bakıra dirençli izolatların gelişmesine yol açabilmektedir (Ritchie and Dittapongpitch, 1991; Abrahamian et al., 2021b). Birçok bitki patojeni, uzun süredir kullanılan kimyasal kontrol önlemlerine karşı direnç geliştirmiştir (Lucas, 2011) ve ekonomik öneme sahip bazı bitki hastalıklarının kontrolü; özellikle etkili bileşiklerin olmaması nedeniyle daha zor hale gelmiştir (Bailey, 2010). Ayrıca kimyasal pestisitlerin tarımsal üretim yapılan topraklarda, yüzey ve yeraltı sularında biriktiği ve çevre biyotası üzerinde istenmeyen etkiler veya meyvede kimyasal kalıntı oluşturma potansiyeli nedeniyle, sağlık riskleri oluşturabileceği rapor edilmiştir (Sahin and Miller, 1998; Dao et al., 2021; Manjarres-López et al., 2021). Bu nedenle, gıda zinciri ve ekosistemlerin kimyasal kontaminasyon riskine karşı, kimyasala alternatif olarak mikrobiyal antagonistlerin kullanıldığı biyolojik kontrol yöntemi olumlu bir alternatif olarak önerilmiştir. Biyolojik kontrol, zararlılara karşı dayanıklılık gelişimine geleneksel kimyasallara göre daha dirençlidir ve minimum veya sıfır kalıntı toksisite ve çevre kirliliği gibi avantajlara sahiptir (Lazarovits et al., 2014). Ekolojik ve ekonomik yönden birçok engelleyici faktör göz önüne alındığında, bu çalışma, domateste *X. euvesicatoria*'ya karşı güçlü biyokontrol etmenlerini belirlemek ve hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda bitki büyümesini teşvik edici aktiviteleri ile birlikte bu hastalığa karşı entegre bir yaklaşımla kontrol etkinliğini araştırmak için yapılmıştır.

Biyokontrol çalışmaları, genellikle çeşitli bitki patojenlerine karşı yararlı mikrobiyal türlerin izolasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu ve

bunların antimikrobiyal ve biyokontrol etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik gerçekleştirilmektedir (Kavitha and Umesha, 2007). Bu çalışma, bu sürece göre kurgulanmıştır. Çalışmamızda, 40 farklı lokasyondan 127 farklı domates bitki örneğinden, 313 endofit ve epifit karakterli bakteri izole edilmiştir. Son yıllarda bitki patojenlerine karşı PGPR'lar, mikrobiyal endofit antagonistler gibi potansiyel biyokontrol etmenlerinin belirlenmesi ve karakterize edilmesine yönelik araştırmalar oldukça artmıştır. Genellikle, rizosfer bakterilerinin yaklaşık %2-5'i bitki büyümesini teşvik etmektedir. PGPR'ların çoğunluğu *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Arthobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Frankia*, *Serratia*, *Thiobacillus*, *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsine bağlıdır (Goswami et al., 2016). En yaygın bulunan bakteriyel endofitler ise *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Microbacterium* genuslarına bağlıdır (Santoyo et al., 2016). Bu tez çalışmasında elde edilen 313 bakteri izolatından *in vivo* çalışmalar sonucunda patojene karşı en etkili olduğu belirlenen altı adet bakteri izolatının üçünün *Pseudomonas*, ikisinin *Enterobacter*, birinin *Pantoea* genusuna bağlı olduğu ve sonuçların literatürle örtüştüğü belirlenmiştir.

İzole edilen 313 bakteri izolatının *in vitro* biyokontrol ve bitki gelişimini teşvik edici parametre testlerinden tartılı derecelendirme yöntemi ile değerlendirme yapılarak en başarılı 15 endofit ve epifit bakteri izolatı hastalık insidansı açısından *in vivo* koşullarda değerlendirilmiştir. 15 bakteri izolatı patosisteme tohuma bioprimer ve yeşil aksama spreyleme şeklinde verilmiştir. Bunların içinde KD 91/1 ve KD 15/2 nolu izolatlar her iki uygulama şeklinde de domates bitkilerinde *X. euvesicatoria*'nın neden olduğu bakteriyel leke şiddetini etkili bir şekilde azaltma yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur. *In vitro* koşullar altında KD 91/1 ve KD 15/2 izolatları *X. euvesicatoria*'a karşı 8,25 mm gibi geniş bir inhibasyon bölgesi oluşturduğu belirlenmiştir. İnhibasyon bölgesi oluşumu, antimikrobiyal uçucu bileşiklerin veya antibiyotiklerin üretimi yoluyla gerçekleşir (Raza et al., 2016) ve birincil antagonistik mekanizmalardan biridir (Talibi et al., 2014). Seçilen potansiyel 15 biyokontrol etmeni; biyokontrol aktivitenin yanı sıra, IAA üretimi, siderofor ve fosfat çözünürlüğü gibi bitki büyümesini teşvik edici özellikler de sergilemiştir. IAA, bitki büyümesinin desteklenmesine yardımcı olurken, siderofor ve fosfat çözünürlüğü, konukçu bitkide besin birikimine

yardımcı olarak, topraktaki patojen için besin kıtlığına neden olur. Bakteriyel endofitlerin bu özellikleri, konukçu bitkinin büyümesini teşvik ederken dolaylı olarak patojen büyümesini engellemeye yardımcı olur (Kashyap et al., 2019). Bu iki izolat arasında KD 91/1 CAS blue agarda gelişen kolonilerinin çevresinde 8,25 mm yarıçap boyutunda sarı-turuncu zon oluşturarak özellikle siderofor üretme aktivitesi açısından *in vitro*'da daha başarılı bulunmuştur. Bakterilerin, azot fiksasyonu (Bhattacharjee et al., 2008) ve sitokinin, indol asetik asit gibi (Arkhipova et al., 2005; Sandhya, 2017) bitki büyümesini arttırıcı maddelerin üretimi ile bitki gelişimi ve biomassında artışı teşvik edilir. Bakteriyel endofitler, etilen öncüsü ACC'den nitrojen kaynakları amonyak ve a-ketobütirat üreten bir 1-aminosiklopropan-1-karboksilat deaminaz (ACC deaminaz) enzimi üretme yeteneğinde olabilir. Bu nedenle, sınırlı azot durumu altında bitki büyümesini teşvik edebilir (Sun et al., 2009). Ayrıca, KD 91/1 izolatının ACC deaminaz üretme ve 191 ppm gibi yüksek oranda IAA üretme yeteneğine sahip olmasının, geri kalan 14 bakteri izolatı ve hiç uygulama görmemiş negatif kontrol bitkilerine kıyasla daha yüksek biyokütle oluşturmasında aktif rolü olduğu düşünülmüştür.

*In vivo* çalışmalara seçilen potansiyel 15 biyokontrol elemanı hem biyokontrol hem de bitki gelişimi açısından değerlendirildiğinde en başarılı izolat KD 91/1 izolatı seçilmiştir. Biyokontrol açısından yaprak spreyleme ve tohuma primig uygulamasında sırasıyla % 30,16 ve % 40,1 oranlarında etki göstermiştir. KD 91/1 izolatının 16S rRNA hedef bölgesine göre dizayn edilmiş, 27F/1492R universal primer çiftleri ile gerçekleştirilen moleküler tanıda *Pseudomonas* genusuna ait olduğu belirlenmiştir. 50 potansiyel biyokontrol ajanının bakteriyel leke hastalığına karşı biyokontrol etkisinin araştırıldığı çalışmada. *Cellulomonas turbata* BT1 ve *Pseudomonas syringae* Cit7 izolatlarının sırasıyla hastalık şiddetini %45,2 ve %36,4 oranlarında düşürdüğü belirlenmiştir (Byrne et al., 2005). *Pseudomonas fluorescens* 89B-61 ve *Bacillus pumilis* SE34'in domateste bakteriyel leke hastalığına karşı önemli bir biyokontrol etkinliği göstermiştir (Ji et al., 2006). Diğer çalışmalarda; biber üzerindeki bakteriyel yaprak lekesinin hastalık şiddetine karşı üç *Bacillus* izolatının tek başına ve onların kombinasyonlarıyla inokule edilen biber bitkilerinde sırasıyla sera koşulları ve tarla denemelerinde hastalık gelişimini %11-62 ve %38-67 oranlarında azalttığını belirlenmiştir (Mirik et al., 2008). Benzer şekilde; Laktik asit bakterilerinin

biberde bakteriyel leke hastalık şiddeti sera koşullarında %57-73, arazi koşullarında %70-94 oranında azaltığı ve önemli biyokontrol etkisi gösterdiği saptanmıştır (Shrestha et al., 2014). Bulgularımıza benzer şekilde, doğadan izole edilen birçok potansiyel biyokontrol etmenleri hem domates hem de biber de bakteriyel leke gelişimini önemli düzeyde azaltmaktadır.

Filosferde; hücrelerden apoplasta su sızdırmak için efektörleri kullanma (Xin et al., 2016) ve yaprak yüzeylerinde su mevcudiyetini artırmak için biyosürfaktan sentezleme (Hernandez and Lindow, 2019) gibi yetenekleri nedeniyle *Pseudomonas* genusuna bağlı koloniler ağırlıklı olarak bulunur (Delmotte et al., 2009; Maignien et al., 2014). Biyokontrol elemanı *Pseudomonas* izolatlarının laboratuvarında ve arazi denemelerinde *X. campestris* pv. *vesicatoria*, *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* gibi çeşitli patojenlerin çoğalmasını doğrudan engellediği gözlemlenmiştir (Völksch and May, 2001; Abo-Elyousr and El-Hendawy, 2008). Çalışmamızda KD 4/5 ve KD 7/2 nolu bakteri izolatlarının tohumla bioprimering yapılarak uygulanması durumunda *X. euvsicatoria*'nın hastalık şiddetinde önemli bir azalış saptanamazken, yaprağa püskürtme yoluyla uygulandıklarında hastalık şiddetini ortalama %43 oranında azalttıkları değerlendirilmiştir. KD 4/5 ve KD 7/2 nolu izolatların moleküler tanısı sonucunda *Pseudomonas* genusuna ait olduğu bulunmuştur. *Pseudomonas* spp'nin biyokontrol aktivitesinin genellikle fenazinlerin üretimine bağlı olduğu düşünülmektedir (Chin-A-Woeng et al., 2003), bu varsayım KD 4/5 ve KD 7/2 nolu izolatların, *in vitro* biyokontrol ve siderofor üretme kapasitesine bakıldığında, yüksek değerler alması nedeniyle, yeşil aksam uygulamasındaki başarısından antibiyotik üretiminin sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Fenazinlerin yanı sıra sideroforlar (Michavila et al., 2007), uçucu organik bileşikler (Bailly and Weisskopf, 2017) gibi birçok başka potansiyel biyokontrol metabolitinde etkisi olabileceği bilinmektedir.

*Pseudomonas putida* KD 91/1 izolatı domates bitkisinin kök kısmında izole edilen endofit karakterli bir bakteridir. Endofitik olmayan bakterilerle karşılaştırıldığında, endofit olarak izole edilen mikroorganizmalar konukçusunun savunma mekanizmalarını uyarmaksızın konukçu ile simbiyotik bir yaşama adapte olduklarından, orijinal konukçularına girmeleri ve kolonize etmeleri daha

kolay olabilir. Ayrıca endofitler, bitki dokularında hayatta kalmak için bitkiyi enfekte edebilecek patojenler ile sürekli bir mücadele içindedir. Bu nedenle, bitki dokusunun endofitler tarafından kolonizasyonunun, patojenik organizmaların bitki dokularını kolonize etmesini engellediği savunulmaktadır (Martinez-Klimova et al. 2017). Genel olarak rizoplan içindeki bakteri popülasyon yoğunlukları  $10^5$ - $10^7$  cfu/g taze ağırlık aralığındadır (Compant et al., 2010). Bakteri türlerine, bitki genotiplerine, bitki dokusuna ve çevresel koşullara bağlı olarak endofitlerin popülasyon yoğunluğu değişebilir (Rosenblueth and Martínez-Romero, 2006). Çalışmamızda *P. putida* KD 91/1 bakteri izolatlarının tohuma kaplanmasından sonra  $8,6 \times 10^8$  cfu/g tohum düzeyinde bakteri yoğunluğu belirlenmiştir. Kotiledon ve ikinci gerçek yaprak dönemlerinde yeşil aksam ve köklerin içsel dokularında ortalama  $3 \times 10^{4-5}$  –  $2,5 \times 10^{4-6}$  cfu/g bitki düzeyinde bir bakteri popülasyonu belirlenmiştir. Patojen inokulasyonu sonrası 72. saatte KD 91/1 izolatu yeşil aksamda  $7,2 \times 10^4$  cfu/g bitki, kökte ise;  $1 \times 10^5$  cfu/g kök düzeyinde popülasyon düzeyini korumuştur. Genel anlamda *P. putida* KD 91/1 patojen varlığı ve yokluğunda, domates köklerinde ve yeşil aksamında başarıyla kolonize olmuştur. Kök kolonizasyon yeteneğinin, biyokontrol ajanı aktivitesi ve verimliliği için bir ön koşul ve belirleyici olarak kabul edildiği bildirilmiştir (Cavaglieri et al., 2005; Mendis et al., 2018). Çalışmamıza benzer şekilde; kök kolonize etme yeteneğine sahip rizobakterilerin tohuma priming yapılmış domates bitkilerinde kontrole kıyasla %40'tan daha düşük *P. syringae* pv. *tomato* hastalık insidansı gösterdiği belirlenmiştir (Silva et al., 2003). *P. putida* KD 91/1 izolatının kolonizasyon yeteneğinin yüksek olması biyokontrol başarısını önemli ölçüde arttırmış olabilir. Biber gövdesinde  $10^6$ - $10^7$  cfu/g seviyelerindeki tutarlı kolonizasyona sahip olmaları nedeniyle seçilmiş *Pseudomonas rhodesia* ve *Pantoea ananitis*'in *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın hastalık şiddetini düşürdüğü ve uyarılmış sistemik dayanıklılığı tetiklediği belirtilmiştir (Kang et al., 2007). Ayrıca *Bacillus amyloliquefaciens*'in *Botrytis cinerea*'a karşı biyokontrol yeteneğinin artmasının, biyofilm oluşturma ve yeşil aksamı kolonize etme yeteneği ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Salvatierra-Martinez et al., 2018).

Bitkiler, çevrelerinden gelen uyarı veya sinyalleri (patojen, PGPR, kimyasallar, abiyotik stres vb.) algıladıktan sonra immün sistemlerini uyararak doğuştan gelen direnç mekanizmalarını aktive ederler. Priming olarak tanımlanan

bu yanıt mekanizması; birincil bir indükleyici uygulandığında bitkinin ikincil streslere karşı direncini artıran ve indüklenmiş, tetiklenmiş veya aktive edilmiş durum olarak tanımlanabilen süreci ifade eder (Bukhat et al., 2020). Tohum biyoprimingi, tohum çimlenmesini, stres yönetimini, bitki büyümesinin düzenlenmesini ve savunma kapasitesinin artmasını sağlayarak bir biyokontrol elemanı olarak hareket eden tekniktir (Sarkar et al., 2021). Literatürde, *Pseudomonas* spp. (Kavitha and Umesha, 2007; Naue et al., 2014), *Methylobacterium* spp. (Yim et al. 2014), *Rahnella aquatilis*. (El-Hendawy et al., 2005), *Bacillus* spp. (Naue et al., 2014) gibi yararlı bakterilerin tohuma kaplanması ile tohum kalitesi ve çimlenmesi artmış; ayrıca bakteriyel leke hastalığı insidansında azalmalar saptanmıştır. Bulgularımızda belirttiğimiz şekilde tohuma priming yapılmış, *Enterobacter* spp. KD15/2 ve *P. putida* KD 91/1 izolatlarının hastalık gelişimini %40-45 oranlarında azaltmanın yanı sıra, tohum çimlenmesi üzerinde negatif bir etkisinin saptanmaması ve yüksek vigorite indeksi göstermesi biyoprimingin başarısı olarak değerlendirilebilir.

Tohum biyopriminginde kullanılan en yaygın biyopolimer, karboksimetilselülozdur (CMC) (Singh et al., 2016). Bu çalışmada, biopriming uygulamasında CMC kullanılmıştır. Çalışmada kaplama materyali olarak karboksimetilselüloz kullanımı ile biyokontrol etkinliği açısından *P. putida* KD 91/1 izolatu özelinde bir sorun oluşturmamış ve bu durum karboksimetilselülozun uygun bir biyopolimer olduğuna işaret etmiştir.

Mikrobiyal biyolojik kontrol elemanları, konukçu bitkide geniş patojen spektrumuna karşı direnci indükleme yeteğindedirler (Köhl et al., 2019). İndüklenmiş direnç; bitkilerde biyolojik veya kimyasal indükleyiciler tarafından tetiklenen ve henüz herhangi bir patojenin ya da böceğin saldırısına maruz kalmamış bitki dokularını gelecekteki saldırılara karşı koruyacak olan direncin uyarılması durumunu tanımlayan genel bir terimdir (Pieterse et al., 2014). İndüklenen direnç ile, savunma yanıtları doğrudan aktive olmaz, ancak, patojen saldırısı üzerine hızlanır ve patojene karşı direnç artar (Van Wees, et al., 2008). Yararlı ve patojenik mikroorganizmalar tarafından tetiklenen lokal ve sistemik savunma yanıtları, bitki hormonları olan salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA) ve etilenin (ET) önemli roller oynadığı bir sinyal ağı tarafından kontrol edilir (Van

Wees, et al., 2008). SA, JA ve ET'in yanı sıra, absisik asit, oksinler, gibberellinler, brassinosteroidler ve sitokininleri içeren diğer bitki hormonları da bitkide gerçekleşen sinyalizasyonda doğrudan veya dolaylı rolleriyle katkıda bulunurlar (Pieterse et al., 2012). Rizobakterilerin aracılık ettiği sistemik uyarılmış dayanıklılık genellikle JA/ET'ye yanıt veren genlerin ekspresyonunun artması ile ifade edilirken (Cartieaux et al., 2008), bazı durumlarda yararlı bakteriler ile SA ile ilişkili genlerde ifade artışı (Takishita et al., 2018) veya hem SA hem de JA/ET yolağının (Ahn et al., 2007; Niu et al., 2012) kullanıldığı ortaya konmuştur.

Çalışmada, *P. putida* KD 91/1 ile priming yapılan bitkilerin *X. euvesicatoria*'a karşı biyokontrol mekanizmasının belirlenmesi açısından sistemik uyarılmış dayanıklılığının etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla uyarılmış dayanıklılığının aktivasyonunda sinyal molekülü olarak önemli olan SA, JA ve ET biyosentez genlerinin ekspresyon seviyelerindeki değişimler belirlenmiştir. Çalışmada, SA biyosentezinden sorumlu iki yolağa ait ICS ve PAL genlerinin (Li et al., 2019) ve SA'ya bağlı immün sinyalleme için bir raportör bir gen olan PR1'in (Niu et al., 2012) ifadesi belirlenmiştir. PAL gen ekspresyon düzeylerinde artış özellikle patojen inokulasyonu sonrası 48. saatte artış göstermiştir. Salisilik asit oluşumundan sorumlu iki yoldan biri olan ICS geninin ifadesinde önemli değişimler saptanmamıştır. PR1'in transkript seviyesi, patojen inokulasyonu sonrası 48. saatte önemli artış göstermiştir. *P. putida* KD 91/1 ile priming yapılan bitkide patojen inokulasyonu sonrası PAL ve PR1 transkript seviyesi artmıştır ancak, bu artış önemli seviyede değildir. *P. putida* KD 91/1'in SA ile ilişkili işaretleyici genlerin aktivasyonunu içermemektedir. Jasmonik asit oluşumundan sorumlu AOC işaretleyici geninin priming yapılmış bitkilerde patojen inokulasyonu sonrası 12. saatte negatif kontrole kıyasla 20 kat daha fazla ifade gösterdiği belirlenmiştir. *P. putida* KD 91/1'in, hastalık kontrolünde uyarılmış dayanıklılık mekanizması olarak JA/ET ilişkili yolağı kullandığı söylenebilir. *P. putida* KD 91/1 ile priming yapılmış bitkilerde etilen biyosentezinden sorumlu ACO gen ifadesi patojen inokulasyonu sonrası kontrole kıyasla yukarı yönlü regüle olmuştur. Çalışmamızda olduğu gibi birçok PGPR izolatının bitkide JA/ET yolağını kullanarak sistemik uyarılmış dayanıklılığı aktive ettiği bilinmektedir. *Burkholderia phytofirmans* PsJN'nin *Arabidopsis* köklerinde etilen biyosentezinde sorumlu ACS, ACO1 ve ACO2 genlerini yukarı yönlü regüle

ettiği bildirilmiştir (Poupin et al., 2016). ABA'nın patojen aracılı stoma kapanmasının kilit dzenleyicisi olduğu bulunmuştur (Melotto et al., 2008) ve JA sinyal yolağında, ortak transkripsiyon faktörlerinin kullanımı yoluyla ABA ile çapraz iletişim kurabilmektedir (Kazan and Manners, 2008). ABA yolu ile ilgili olarak, priming yapılan/yapılmayan bitkiler arasında ASR1'in ekspresyon seviyelerinde önemli fark gözlenmemiştir. ABA yolağının *P. putida* KD 91/1 kaynaklı dirençte bir rol oynadığı düşünölmektedir.



## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tüm dünyada tarımsal ürün verimliliğini etkileyen abiyotik ve biyotik stresler giderek artmaktadır. Uzun süreli kuraklıklar, yoğun yağışlar, sıcak hava dalgaları ve don hasarı gibi doğa olaylarının iklim değişikliği nedeniyle gelecekte daha da artması beklenmektedir. Bu tür etkileri azaltmak için çeşitli stratejiler gereklidir. Genetik mühendisliği ve bitki ıslahı yoluyla strese dayanıklı çeşitlerinin geliştirilmesi, streslerin bir dereceye kadar üstesinden gelinmesine yardımcı olabilir. Ancak, bu tür stratejiler zaman alıcı ve yoğun maliyetli olduğundan, streslerin yönetimi için kısa vadede kullanılacak basit ve düşük maliyetli biyolojik yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Yararlı bakteriler ile yeni formülasyonlar tasarlamak, tarımsal ürünlerin verimliliğine, iyileştirilmesine ve bitki sağlığına katkıda bulunacaktır.

Bakteriler, biyokimya ve ilaç endüstrileri için biyomolekül kaynaklarıdır. Bitki büyüme destekleyicileri, antimikrobiyal uçucu bileşikler, antioksidanlar ve antibiyotikler gibi tarımsal açıdan büyük potansiyele sahip biyolojik olarak aktif metabolitler üretirler. Hem biyokontrol elemanının kendisi hem de metabolitleri; biyogübre ve biyokontrol etmeni olarak tarım pazarlarına hakim olma kapasiteleri yıllar içinde giderek artarak, modern tarım uygulamalarının temel bir bileşeni olma konusunda büyük bir potansiyele sahiptir. Bununla birlikte, kontrollü laboratuvar ortamından elde edilen sonuçları büyük ölçekli saha denemelerine ve ticari pazarlamaya dönüştürmek için bazı çözülmemiş sorunların ele alınması gerekmektedir.

Biyokontrol elemanlarının başarısı, özellikle, çevresel koşullara bağlıdır. Biyokontrol elemanının konukçu yüzeyinde veya kök rizosferinde yerleşmek için zamana, bölgesel iklim koşullarının elverişliliğine, bitki fizyolojisi ve genetiğinin uygunluğuna ihtiyacı vardır. Ayrıca biyokontrol elemanının uygulama zamanı ve sıklığının, bitki hastalıklarının kontrolünü ve bitkideki kolonizasyonunu doğrudan etkilemektedir. Bir biyokontrol elemanının etkinliğini artırmak için; entegre yaklaşımlar ile birçok biyota ve çevresel koşullarda uygun uygulama şekli ve sıklığı ile optimum koşullar oluşturulmaya çalışılmalıdır. Biyokontrol

elemanlarının yeşil floresan protein (GFP) etiketleme ile gerçekleştirilecek metagenomik ve moleküler biyoloji çalışmaları, bitkilerdeki mikrobiyal dağılımlarını ve kolonizasyon modellerini anlamak için gerekli olacaktır.

Başarılı bir biyokontrol elemanının; antimikrobiyal metabolitlerin tanımlanması, optimum fermantasyon ve üretim süreçlerinin geliştirilmesi, farklı katkı maddeleri, taşıyıcılar kullanılarak bir veya daha fazla mikrobiyal etmenle etkili formülasyonlar üretebilen endüstriyel proseslerin oluşturulması, toksisitenin değerlendirilmesi ve çeşitli arazi koşulları altında hastalık kontrol etkinliğinin değerlendirilmesi konusunda hala çok daha fazla odaklanmaya ihtiyaç vardır. Ayrıca biyokontrol etmenlerinin raf ömrünü artırabilecek, böylece uzun vadeli canlılıklarını, ve mikrobiyal bazlı zirai kimyasallar olarak etkinliklerini sağlayabilecek yeni formülasyonlar geliştirme çalışmalarına odaklanılmalıdır.

Hastalık etmeni ve yararlı mikrobiyom ile metabolomik ve transkriptomik yanıtlar birleştirilerek, konukçu-patojen veya diğer ekolojik etkileşimlerde önemli yollardaki moleküllerin çeşitliliği hakkında ek bilgiler sağlanabilir.

Çalışmada bitki gelişimini artırma ve bakteriyel lekenin baskılanması konusunda potansiyel birçok yararlı bakteri izole edilmiştir. *In vivo* koşullarda en başarılı bulunan KD 91/1 ve KD 50/2 kodlu yararlı bakteri izolatları domateste'te bakteriyel leke hastalığının kontrolünde yaprağa püskürtme ve tohuma primig uygulamasında sırasıyla %40-45, %30-41 oranlarında etki göstermiştir. KD 91/1 ve KD 50/2 kodlu iki izolatın sırasıyla *Pseudomonas* ve *Enterobacter* genusuna bağlı olduğu belirlenmiştir. KD 91/1 ve KD 50/2 kodlu iki izolatın patojen varlığı ve yokluğunda, domates köklerinde ve yeşil aksamında başarıyla kolonize olduğu belirlenmiştir. Elde edilen izolatlar arasında *P. putida* KD 91/1 izolatu kontrollü koşullar altındaki iklim odasındaki başarısı çalışmada açıkça gösterilmiştir. Gen ifadesi çalışmaları ile olumlu etkileri de ortaya konmuştur.

Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler ışığında sonuçların bilime katkısının yanısıra yararlı bakteri izolatlarının sanayiye kazandırılması konusundaki öneriler aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

1. Çalışmamızda en başarılı bulunan; *P. putida* KD 91/1 izolatının daha detaylı olarak antimikrobiyal metabolitlerin tanımlanması,
2. *P. putida* KD 91/1 izolatının optimum fermantasyon süreçlerinin belirlenmesi ve formülasyon proseslerinin oluşturulması
3. *P. putida* KD 91/1 izolatının hedef dışı organizmalara toksisitenin değerlendirilmesi
4. *P. putida* KD 91/1 izolatından elde edilecek formülasyonun üretici koşullarında hastalık kontrol etkinliğinin ve pazarlanabilir ürün verimine etkisinin değerlendirilmesi ile

*P. putida* KD 91/1 izolatının endüstriye kazandırılma ve ticarileşme potansiyeli araştırılmalıdır.



**KAYNAKLAR DİZİNİ**

- Abbasi, P. A., Soltani, N., Cuppels, D. A. and Lazarovits, G.,** 2002, Reduction of bacterial spot disease severity on tomato and pepper plants with foliar applications of ammonium lignosulfonate and potassium phosphate, *Plant Dis*, 86:1232-1236.
- Abbasi, P. A., Khabbaz, S. E., Weselowski, B. and Zhang, L.,** 2015, Occurance of copper-resistant strains and a shift in *Xanthomonas* spp. causing tomato bacterial spot in Ontario, *Canadian Journal of Microbiology*, 61(10):753-761.
- Abd El-Rahman, A. F., Shaheen, H. A., Abd El-Aziz, R. M. and Ibrahim, D. S. S.,** 2019, Influence of hydrogen cyanide-producing rhizobacteria in controlling the crown gall and root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, *Egypt J Biol Pest Control*, 29:41.
- Abo-Elyousr, K. A. M. and El-Hendawy, H. H.,** 2008, Integration of *Pseudomonas fluorescens* and acibenzolar-S-methyl to control bacterial spot disease of tomato, *Crop Prot.*, 27:1118-1124.
- Abrahamian, P., Jones, J. B. and Vallad, G. E.,** 2019, Efficacy of copper and copper alternatives for management of bacterial spot on tomato under transplant and field production, *Crop Prot*, 126:104919.
- Abrahamian P., Sharma A., Jones J.B. and Vallad, G. E.,** 2021a, Dynamics and spread of bacterial spot epidemics in tomato transplants grown for field production, *Plant Dis*, 105:566-575.
- Abrahamian, P., Klein-Gordon, J. M., Jones, J. B. and Vallad, G. E.,** 2021b, Epidemiology, diversity, and management of bacterial spot of tomato caused by *Xanthomonas perforans*, *Appl Microbiol Biotechnol*, 105:6143–6158.
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S. and Shahzad, S.,** 2019, Plant beneficial

endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants, *Microbiol Res.*, 221:36-49.

**Agrios, G. N.**, 2005, Preface. In G. N. Agrios (Ed.), *Plant Pathology* (Fifth Edition) (pp. xix-xx). San Diego: Academic Press.

**Ahn, I. P., Lee, S. W. and Suh, S. C.**, 2007, Rhizobacteria-induced priming in *Arabidopsis* is dependent on ethylene, jasmonic acid, and NPR1., *Mol Plant Microbe Interact.*, 20(7):759-68.

**Al-Dahmani, J. H., Abbasi, P. A., Miller, S. A. and Hoitink, H. A. J.**, 2003, Suppression of bacterial spot of tomato with foliar sprays of compost extracts under greenhouse and field conditions, *Plant Dis.*, 87:913-919.

**Almeida, N. F., Yan, S., Cai, R., Clarke, C. R., Morris, C. E., Schaad, N. W., Schuenzel, E. L., Lacy, G. H., Sun, X., Jones, J. B., Castillo, J. A., Bull, C. T., Leman, S., Guttman, D. S., Setubal, J. C., and Vinatzer, B.A.** 2010, PAMDB, a multilocus sequence typing and analysis database and website for plant-associated microbes, *Phytopathology*, 100(3):208-15.

**Andolfo, G. and Ercolano, M. R.**, 2015, Plant Innate Immunity Multicomponent Model, *Frontiers in Plant Science*, 6:987.

**Aneja, K. R.**, 2003, *Experiments in microbiology, plant pathology and biotechnology.*, 4th edition, New Age International (P) Ltd., New Delhi, 607 p.

**Aranega-Bou, P., de la O Leyva, M., Finiti, I., García-Agustín, P. and González-Bosch, C.**, 2014, Priming of plant resistance by natural compounds. Hexanoic acid as a model, *Frontiers in Plant Science*, 5:488.

**Arkhipova T., Veselov S., Melentiev A., Martynenko E. and Kudoyarova G.**, 2005, Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants, *Plant Soil.*, 272:201–209.

- Audenaert, K., Pattery, T., Cornelis, P. and Höfte, M.,** 2002, Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: Role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin, *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 15:1147-1156.
- Bailey, K. L.,** 2010, Canadian innovations in microbial biopesticides, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 32(2):113-121.
- Bailly, A. and Weisskopf, L.,** 2017, Mining the volatiles of plant-associated microbiota for new biocontrol solutions, *Front. Microbiol.*, 8:1638.
- Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S. and Vivanco, J. M.,** 2006, The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 233-266.
- Bakker, A. W. and Schippers, B.,** 1987, Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp mediated plant growth-stimulation, *Soil Biology and Biochemistry*, 19(4): 451–457.
- Bakker, P.A., Pieterse, C. M. and van Loon, L. C.,** 2007, Induced Systemic Resistance by Fluorescent *Pseudomonas* spp., *Phytopathology*; 97(2):239-43.
- Balmer, A., Pastor, V., Gamir, J., Flors, V. and Mauch-Mani, B.,** 2015, The ‘prime-ome’: towards a holistic approach to priming, *Trends in Plant Science*, 20(7):443-452.
- Balogh, B., Jones, J.B., Momol, M.T., Olson, S.M., Obradovic, A., King, P. and Jackson, L.E.,** 2003, Improved efficacy of newly formulated bacteriophages for management of bacterial spot on tomato, *Plant Diseases*, 87:949-954pp.
- Balogh, B., Nga, N. T. T. and Jones, J. B.,** 2018, Relative Level of Bacteriophage Multiplication *in vitro* or in Phyllosphere May Not Predict *in planta* Efficacy for Controlling Bacterial Leaf Spot on Tomato Caused by

*Xanthomonas perforans*, *Front Microbiol.*, 18;9:2176.

**Barak, J. D., Vancheva, T., Lefeuvre, P., Jones, J. B., Timilsina, S., Minsavage, G. V., Vallad, G. E. and Koebnik, R.**, 2016, Whole-Genome Sequences of *Xanthomonas euvesicatoria* Strains Clarify Taxonomy and Reveal a Stepwise Erosion of Type 3 Effectors, *Frontiers in plant science*, 7,1805.

**Berg, G., Krechel, A., Ditz, M., Faupel, A., Ulrich, A. and Hallmann, J.**, 2005, Comparison of endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities and their antagonistic activity against plant pathogenic fungi. *FEMS Microb Ecol* 51: 215– 229.

**Bhattacharjee R.B., Singh A. and Mukhopadhyay S.**, 2008, Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: Prospects and challenges. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 80:199–209.

**Blainski, J. M. L., da Rocha Neto, A. C., Schmidt, E. C., Voltolini, J. A., Rossi, M. J. and Di Piero, R. M.**, 2018, Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* induce biochemical and physiological alterations in tomato plant against bacterial spot, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 102, 4741–4753.

**Bloemberg, G. V. and Lugtenberg, B. J.**, 2001, Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr Opin Plant Biol.*, 4:343-50.

**Borges, A. A., Jiménez-Arias, D., Expósito-Rodríguez, M., Sandalio, L. M. and Pérez, J. A.**, 2014, Priming crops against biotic and abiotic stresses: MSB as a tool for studying mechanisms, *Frontiers in Plant Science*, 5:642.

**Bukhat, S., Imran, A., Javaid, S., Shahid, M., Majeed, A. and Naqqash, T.**, 2020, Communication of plants with microbial world: Exploring the regulatory networks for PGPR mediated defense signaling, *Microbiological Research*, 238:126486.

- Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Ver Loren van Themaat, E. and Schulze-Lefert, P.**, 2013, Structure and functions of the bacterial microbiota of plants, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 64:807-838.
- Bürger, M. and Chory, J.**, 2019, Stressed Out About Hormones: How Plants Orchestrate Immunity. *Cell Host Microbe.*, 26(2):163-172.
- Bray E.A.**, 1988, Drought- and ABA-induced changes in polypeptide and mRNA accumulation in tomato leaves. *Plant Physiol.*, 88: 1210-1214.
- Bric, M. J., Bostock, R. M. and Silverstone S. E.**, 1991, Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane, *Appl Environ Microbiol*, 57, 555-538.
- Byrne, J. M., Dianese, A. C., Ji, P., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Louws, F. J., Miller, S. A., Jones, J. B. and Wilson, M.**, 2005, Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America, *Biological Control*, 32:408-418pp.
- Camerini, S., Senatore, B., Lonardo, E., Imperlini, E., Bianco, C., Moschetti, G., Rotino, G. L., Campion, B. and Defez, R.**, 2008, Introduction of a novel pathway for IAA biosynthesis to rhizobia alters vetch root nodule development, *Arch Microbiol.*, 190:67–77.
- Cartieaux, F., Contesto, C., Gallou, A., Desbrosses, G., Kopka, J., Taconnat, L., Renou, J. P. and Touraine, B.**, 2008, Simultaneous interaction of *Arabidopsis thaliana* with *Bradyrhizobium* sp. strain ORS278 and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 leads to complex transcriptome changes. *Mol Plant Microbe Interact.*, 21(2):244-59.
- Carvalhais, L.C., Dennis, P.G., Badri, D.V., Kidd, B.N., Vivanco, J.M. and Schenk, P.M.**, 2015, Linking Jasmonic Acid Signaling, Root Exudates, and Rhizosphere Microbiomes, *Mol Plant Microbe Interact.*, 28(9):1049-58.
- Cassán, F., Vanderleyden, J. and Spaepen S.**, 2014, Physiological and

agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*, *J. Plant Growth Regul.*, 33(2):440-459.

**Cavaglieri, L., Orlando, J., Rodríguez, M. I., Chulze, S. and Etcheverry, M.,** 2005, Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level, *Res Microbiol.*, 156(5-6):748-54.

**Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V. and Lugtenberg, B. J. J.,** 2003, Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria, *New Phytol.*, 157, 503–523.

**Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C. and Barka, E. A.,** 2005., Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects, *Applied and environmental microbiology*, 71(9), 4951-4959.

**Compant, S., Clément, C. and Sessitsch, A.,** 2010, Plant growth promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization, *Soil Biol. Biochem.*, 42, 669-678.

**Conn, V. M., Walker, A. R. and Franco, C.M.,** 2008, Endophytic action bacteria induce defense pathways in *Arabidopsis thaliana*, *Mol. Plant Microbe Interact.*, 21:208-218.

**Conrath U.,** 2011, Molecular aspects of defence priming. *Trends Plant Sci.*, 10:524-31.

**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, 792–806.

- Constantin, M.E., de Lamo, F. J., Vlieger, B. V., Rep, M. and Takken, F. L. W.,** 2019, Endophyte-Mediated Resistance in Tomato to *Fusarium oxysporum* Is Independent of ET, JA, and SA., *Front Plant Sci.*, 10:979.
- Crowley, D. E.,** 2006, Microbial Siderophores in the Plant Rhizosphere. In: Barton, L.L., Abadia, J. (eds), Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. Springer, Dordrecht.
- Dakora F.D. and Phillips D.A.,** 2002, Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments, *Plant Soil*, 245:35-47.
- Dao, T. T., Tran, T. T. T., Nguyen, A. M., Nguyen, L. N., Pham, P. T .M., Tsubota, T. and Nguyen, M. N.,** 2021, Fungicide application can intensify clay aggregation and exacerbate copper accumulation in citrus soils, *Environmental Pollution*, 288, 117703.
- da Silva, A. P. S., Olivares, F. L., Sudré, C. P., Peres, L. E. P., Canellas, N. A., da Silva, R. M., Cozzolino, V. and Canellas, L. P.,** 2021, Attenuations of bacterial spot disease *Xanthomonas euvesicatoria* on tomato plants treated with biostimulants, *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 8,42.
- Debode J., De Maeyer, K., Perneel, M., Pannecoucq, J., De Backer, G. and Hofte, M.,** 2007, Biosurfactants are involved in the biological control of *Verticillium microsclerotia* by *Pseudomonas* spp., *J Appl Microbiol*, 103:1184–1196.
- de Vega, C. and Herrera, C.M.,** 2013, Microorganisms transported by ants induce changes in floral nectar composition of an ant-pollinated plant, *Am J Bot.*, 100:792–800.
- De Vleeschauwer, D., Djavaheri, M., Bakker, P.A. and Höfte, M.,** 2008, *Pseudomonas fluorescens* WCS374r-induced systemic resistance in rice against *Magnaporthe oryzae* is based on pseudobactin-mediated priming for a salicylic acid-repressible multifaceted defense response, *Plant Physiol.*,

148(4):1996-2012.

**Delmotte, N., Kniefa, C., Chaffronb, S., Innerebnera, G., Roschitzkic, B., Schlapbachc, R., von Meringb, C. and Vorholta, J. A.,** 2009, Community proteogenomics reveals insights into the physiology of phyllosphere bacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106:16428-16433.

**Dong, H., Xiong, R., Liang, Y., Tang, G., Yang, J., Tang, J. Niu, J., Gao, Y., Zhou, Z. and Cao, Y.,** 2020, Development of glycine-copper(ii) hydroxide nanoparticles with improved biosafety for sustainable plant disease management. *RSC Adv.*, 10, 21222-21227.

**Donley, N.,** 2019, The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides, *Environ Health*, 18:44.

**Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D. and Glick, B. R.,** 2014, Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106:85-125.

**Dworkin M. and Foster J.,** 1958, Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen, *J Bacteriol.*, 75: 592-601.

**El-Hendawy, H., Osman, M. E. and Sorour, N. M.,** 2005. Biological control of bacterial spot of tomato caused by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* by *Rahnella aquatilis*, *Microbiological Research*, 160: 343-352.

**Enebe, M. C. and Babalola, O. O.,** 2018, The influence of plant growth-promoting rhizobacteria in plant tolerance to abiotic stress: a survival strategy, *Appl Microbiol Biotechnol*, 102,7821-7835.

**Enebe, M. C. and Babalola, O. O.,** 2019, The impact of microbes in the orchestration of plants' resistance to biotic stress: a disease management approach, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 103,9-25.

**Eryiğit,** 2016, Domates ve Biberde Bakteriyel Leke Hastalığına Neden Olan

*Xanthomonas* Türlerinin Klasik ve Moleküler Yöntemlerle Tanısı, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 71s, (Yayımlanmamış).

**FAO, 2009**, Global agriculture towards 2050, Rome, Erişim Tarihi:10.12.20

**Figueras, M.J., Beaz-Hidalgo R., Hossain, M.J. and Liles, M.R., 2014**, Taxonomic affiliation of new genomes should be verified using average nucleotide identity and multilocus phylogenetic analysis, *Genome Announc.*, 2(6):e00927-14.

**Fiss, M., Kucheryava, N., Schönherr, J., Kollar, A., Arnold, G., and Auling, G., 2000**, Isolation and characterization of epiphytic fungi from the phyllosphere of apple as potential biocontrol agents against apple scab (*Venturia inaequalis*), *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 107(1):1-11.

**Flaherty, J. E., Jones, J. B., Harbaugh, B. K., Somodi, G. C. and Jackson, L. E., 2000**, Control of bacterial spot on tomato in the greenhouse and field with H-mutant bacteriophages, *Horticultural Science*, 35(5):882-884pp.

**Flues, S., Blokker, M., Dumack, K. and Bonkowski, M., 2018**, Diversity of cercoconad species in the phyllosphere and rhizosphere of different plant species with a description of *Neocercomonas epiphylla* (Cercozoa, Rhizaria), a leaf-associated protist, *J Eukaryot Microbiol.*, 65:587-599.

**Foley, J., Ramankutty, N., Brauman, K., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K., West, P. C., Balzer, C., Bennett, E. M., Carpenter, S. R., Hill, J., Monfreda, C., Polasky, S., Rockström, J., Sheehan, J., Siebert, S., Tilman, D. and Zaks, D. P. M., 2011**, Solutions for a cultivated planet, *Nature*, 478,337–342.

**Frank, A., Saldierna Guzmán, J. and Shay, J., 2017**, Transmission of bacterial endophytes, *Microorganisms*, 5:70.

- Frankenberger, W. T. J. and Arshad, M.**, 1995, *Photohormones in soil: microbial production and function*, New York: Dekker.
- Glick, B. R.**, 2014, Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol Res.*, 20;169(1):30-9.
- Giovanardi, D., Biondi, E., Ignjatov, M., Gašić, K., Ferrari, M., Perez, S., Jevtić, R. and Stefani, E.**, 2015, Seed Transmission Of *Xanthomonas vesicatoria* And *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* In Tomato and *Xanthomonas euvesicatoria* in Pepper and Implementation Of Seed Disinfection Methods In: D. Marčić, M. Glavendekić, P. Nicot (Eds.) Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection. Plant Protection Society of Serbia, IOBC-EPRS, IOBC-WPRS, Belgrade, pp. 65–70.
- Giovanardi, D., Biondi, E., Ignjatov, M., Jevtic, R. and Stefani, E.**, 2018, Impact of bacterial spot outbreaks on the phytosanitary quality of tomato and pepper seeds. *Plant Pathology*, 67(5):1168–1176.
- Goode, M.J. and Sasser, M.**, 1980, Prevention-the key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato, *Plant Disease*, 64:831-834pp.
- Gopalakrishnan, S., Sathya, A., Vijayabharathi, R., Varshney, R. K., Gowda, C. L. and Krishnamurthy, L.**, 2015, Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech*, 5(4),355–377.
- Goswami, D., Thakker, J.N. and Dhandhukia, P.C.**, 2016, Manuel Tejada Moral (Reviewing Editor), Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review, *Cogent Food & Agriculture*, 2:1.
- Grady, E. N., MacDonald, J., Ho, M. T., Weselowski, B., McDowell, T., Solomon, O., Renaud, J. and Yuan, Z. C.**, 2019, Characterization and complete genome analysis of the surfactin-producing, plant-protecting bacterium *Bacillus velezensis* 9D-6, *BMC Microbiol.*, 19,5.
- Griffin, K., Gambley, C., Brown, P. and Li, Y.**, 2017, Copper-tolerance in

*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas* spp. and the control of diseases associated with these pathogens in tomato and pepper. A systematic literature review, *Crop Protection*, 96,144-150.

**Großkinsky, D. K., Tafner, R., Moreno, M. V., Stenglein, S. A., García de Salamone, I. E., Nelson, L. M., Novák, O., Strnad, M., van der Graaff, E. and Roitsch, T.**, 2016, Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*, *Sci. Rep.*, 6, 23310.

**Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F. and Kloeppel, J. W.**, 1997, Bacterial endophytes in agricultural crops, *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 895-914.

**Hallmann, J., Berg, G. and Schulz, B.**, 2006, Isolation Procedures for Endophytic Microorganisms. In: Soil Biology, Microbial Root Endophytes. Schulz B, Boyle C, Sieber TN. (Eds.), 9:299-310.

**Haney, C., Samuel, B., Bush, J. and Ausubel, F. M.**, 2015, Associations with rhizosphere bacteria can confer an adaptive advantage to plants, *Nature Plants*, 1,15051.

**Hernandez, M. N. and Lindow, S. E.**, 2019, *Pseudomonas syringae* Increases Water Availability in Leaf Microenvironments via Production of Hygroscopic Syringafactin, *Appl Environ Microbiol.*, 85(18):e01014-19.

**Huang, C. H., Vallad, G. E., Zhang, S., Wen, A., Balogh, B., Figueiredo, J. F. L., Behlau, F., Jones, J. B., Momol, M. T. and Olson, S. M.**, 2012. Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato, *Plant Dis.*, 96:221-227.

**Huang, M., Jiang, Y., Qin, R., Jiang, D., Chang, D., Tian, Z., Li, C. and Wang, C.**, 2022, Full-Length Transcriptional Analysis of the Same Soybean

Genotype With Compatible and Incompatible Reactions to *Heterodera glycines* Reveals Nematode Infection Activating Plant Defense Response. *Front Plant Sci.*, 18;13:866322.

**Innerebner, G., Knief, C. and Vorholt, J. A.**, 2011, Protection of *Arabidopsis thaliana* against leaf-pathogenic *Pseudomonas syringae* by *Sphingomonas* strains in a controlled model system, *Applied and environmental microbiology*, 77(10), 3202–3210.

**Itako, A. T., Tolentino Júnior, J. B., Silva Júnior, T. A., Soman, J. M. and Maringoni, A. C.**, 2015, Chemical products induce resistance to *Xanthomonas perforans* in tomato, *Brazilian journal of microbiology*, 46(3),701–706.

**Jambhulkar, P. P., Sharma, M., Lakshman, D. and Sharma, P.**, 2015, Natural mechanisms of soil suppressiveness against diseases caused by *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*, and *phytophthora*, Springer International Publishing, 95-23p.

**Jensen, D.F., Karlsson, M., Sarrocco, S. and Vannacci, G.**, 2016, Biological control using microorganisms as an alternative to disease resistance. In: Collinge DB (ed) Plant pathogen resistance biotechnology. Wiley, New York, pp 341–363.

**Ji, P. and Wilson, M.**, 2002, Assessment of the importance of similarity in carbon source utilization profiles between the biological control agent and the pathogen in biological control of bacterial speck of tomato, *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 4383–4389.

**Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T. V. and Wilson, M.**, 2006, Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria, *Biological Control*, 36:358-367pp.

- Jiang, H., Dong, H., Zhang, G., Yu, B., Chapman, L. R. and Fields, M. W.,** 2006, Microbial diversity in water and sediment of Lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China, *Appl Environ Microbiol.*, 72(6):3832-45.
- Jones, J. B., Pohronezny, K. L., Stall, R. E. and Jones, J. P.,** 1986, Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residue, weeds, seeds, and volunteer tomato plants, *Phytopathology*. 76:430-434pp.
- Jones, J. B., Stall, R. E. and Bouzar, H.,** 1998, Diversity among Xanthomonads pathogenic on pepper and tomato, *Annual Review of Phytopathology*, 36:41-58pp.
- Jones, J. B., Lacy, G. H., Bouzar, H., Stall, R. E. and Schaad, N. W.,** 2004a, Reclassification of the Xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper, *Systematic and Applied Microbiology*, 27(6):755-762.
- Jones, J. B., Lacy, G.H., Bouzar H., Minsavage G.V., Stall, R. and Schaad, N. W.,** 2004b, Bacterial spot—worldwide distribution, importance and review. 1st International Symposium on Tomato Diseases. *Acta Hortic.*, 695:27–33.
- Jones, J. and Dangl, J.,** 2006, The plant immune system. *Nature*, 444,323–329.
- Ju, C. and Chang, C.,** 2015, Mechanistic Insights in Ethylene Perception and Signal Transduction, *Plant Physiol.*, 169(1):85-95.
- Kang, S. H., Cho, H-S., Cheong, H., Ryu, C-M., Kim, J. F. and Park, S-H.,** 2007, Two Bacterial Entophytes Eliciting Both Plant Growth Promotion and Plant Defense on Pepper (*Capsicum annuum* L.), *J. Microbiol. Biotechnol.*, 17(1), 96–103.
- Kashyap, B. K., Solanki, M. K., Pandey, A. K., Prabha, S., Kumar, P., and Kumari, B.,** 2019, *Bacillus* as Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): A Promising Green Agriculture Technology. In: Ansari, R.,

Mahmood, I. (eds) Plant Health Under Biotic Stress. Springer, Singapore.

**Kavitha, R. and Umesha, S.**, 2007, Prevalence of bacterial spot in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence, *Crop Protection*, 26(7):991-997.

**Kazan, K. and Manners, J. M.**, 2008, Jasmonate signaling: toward an integrated view, *Plant Physiol.*, 146:1459–1468.

**Khan, A., Sirajuddin, X. Q. Z., Javed, M. T., Khan, K. S., Bano, A., Shen, R. F. and Masood, S.**, 2016, *Bacillus pumilus* enhances tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) to combined stresses of NaCl and high boron due to limited uptake of Na<sup>+</sup>, *Environmental and Experimental Botany*, 124, 120-129.

**Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.C.**, 1990, Methods in Phytobacteriology, Akademiai Kiado, Budapest, XIV:568p

**Kloepper, J. W.**, 1980, Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopathology*, 70:1078–1082.

**Knief, C., Delmotte, N., Chaffron, S., Stark, M., Innerebner, G., Wassmann, R., von Mering C. and Vorholt, J.A.**, 2012, Metaproteogenomic analysis of microbial communities in the phyllosphere and rhizosphere of rice, *ISME J.*, 6,1378–1390.

**Kojic, M., Degrassi, G. and Venturi. V.**, 1999, Cloning and characterization of the *rpoS* gene from the plant growth-promoting *Pseudomonas putida* WCS358: RpoS is not involved in siderophore and homoserine lactone production, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1489:413-420.

**Kotan, R., Dadasoglu, F., Kordali, S., Cakir, A., Dikbas, N., and Cakmakci, R.** 2007, Antibacterial activity of essential oils extracted from some medicinal plants, carvacrol and thymol on *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye causes bacterial spot disease on pepper and tomato,

*J. Agr. Technol.*, 3:299-306.

- Kotasthane, A. S., Agrawal, T., Waris Zaidi, N. and Singh, U.S.**, 2017, Identification of siderophore producing and cynogenic fluorescent *Pseudomonas* and a simple confrontation assay to identify potential bio-control agent for collar rot of chickpea, *3 Biotech.*, 7(2):137.
- Köhl, J., Kolnaar, R. and Ravensberg, W. J.**, 2019, Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy, *Frontiers in Plant Science*, 10,845.
- Kramer, J., Özkaya, Ö. and Kümmerli R.**, 2020, Bacterial siderophores in community and host interactions. *Nat Rev Microbiol.*, 18(3):152-163.
- Kudoyarova, G., Arkhipova, T., Korshunova, T., Bakaeva, M., Loginov, O. and Dodd, I. C.**, 2019, Phytohormone Mediation of Interactions Between Plants and Non-Symbiotic Growth Promoting Bacteria Under Edaphic Stresses. *Front Plant Sci.*, 29(10):1368.
- Kumar, A., Patel, J. S., Meena, V. S. and Srivastava, R.**, 2019, Recent advances of PGPR based approaches for stress tolerance in plants for sustainable agriculture, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 20:101271.
- Kumar, V., Jain, P., Venkadesan, S., Karkute, S. G., Bhati, J., Abdin, M. Z., Sevanthi, A. M., Mishra, D. C., Chaturvedi, K. K., Rai, A., Sharma, T. R. and Solanke, A. U.**, 2021, Understanding Rice-Magnaporthe *Oryzae* Interaction in Resistant and Susceptible Cultivars of Rice under Panicle Blast Infection Using a Time-Course Transcriptome Analysis, *Genes*, 12,2:301.
- Lazarovits, G.; Turnbull, A. and Johnston-Monje, D.**, 2014, *Plant Health Management: Biological Control of Plant Pathogens*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, pp. 388–399.
- Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Lundberg, D. S., Breakfield, N., Gehring, J.**

- McDonald, M., Malfatti, S., Glavina del Rio, T., Jones, C. D., Tringe, S. G. and Dangl, J. L.**, 2015, Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa, *Science*, 349:860-864.
- Leeman, M., Den Ouden, F. M., Van Pelt, J. A., Dirkx, F. P. M., Steijl, H., Bakker, P. A. H. M. and Schippers, B.**, 1996, Iron availability affects induction of systemic resistance to *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas fluorescens*, *Phytopathology*, 86, 149–155.
- Legein, M., Smets, W., Vandenheuvel, D., Eilers, T., Muyshondt, B., Prinsen, E., Samson, R. and Lebeer, S.**, 2020, Modes of Action of Microbial Biocontrol in the Phyllosphere, *Frontiers in microbiology*, 11, 1619.
- Leveau, J. H. J.**, 2006, Microbial communities in the phyllosphere. In Marcus Riederer and Caroline Müller (Eds.), *Biology of the Plant Cuticle*, p. 334-367.
- Li, N., Han, X., Feng, D., Yuan, D. and Huang, L. J.**, 2019, Signaling Crosstalk between Salicylic Acid and Ethylene/Jasmonate in Plant Defense: Do We Understand What They Are Whispering?, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3):671.
- Liao, Y. Y., Strayer-Scherer, A.L., White, J., Mukherjee, A., De La Torre-Roche, R., Ritchie, L., Colee, J., Vallad, G. E., Freeman, J. H., Jones, J. B. and Paret, M.L.**, 2019, Nano-magnesium oxide: a novel bactericide against copper-tolerant *Xanthomonas perforans* causing tomato bacterial spot, *Phytopathology*, 109:52-62.
- Lindow, S. E.**, 1988, Lack of correlation of *in vitro* antibiosis with antagonism of ice nucleation active bacteria on leaf surfaces by non-ice nucleation active bacteria, *Phytopathology*, 78:444-450.
- Lindow, S.E. and Brandl, M.T.**, 2003, Microbiology of the Phyllosphere, *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4)1875-1883.

- Liu, L., Kloepper, J. W. and Tuzun, S.**, 1995, Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria, *Phytopathology*, 85:695–698.
- Livak, K. J. and Schmittgen, T. D.**, 2001, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method, *Methods*, 25(4), 402-408.
- Louws, F. J., Wilson, M., Campbell, H. L., Cuppels, D. A., Jones, J. B., Shoemaker, P. B., Sahin, F. and Miller, S. A.**, 2001, Field control of bacterial spot and bacterial speck of tomato using a plant activator, *Plant Dis.*, 85:481-488.
- Lucas, J.**, 2011, Advances in plant disease and pest management, *The Journal of Agricultural Science*, 149(S1), 91-114.
- Lucke, M., Correa, M. G. and Levy, A.**, 2020, The Role of Secretion Systems, Effectors, and Secondary Metabolites of Beneficial Rhizobacteria in Interactions With Plants and Microbes, *Frontiers in Plant Science*, 11:1718.
- Ma, Z., Hua, G. K. H., Ongena, M. and Höfte, M.**, 2016, Role of phenazines and cyclic lipopeptides produced by *Pseudomonas* sp. CMR12a in induced systemic resistance on rice and bean, *Environ Microbiol Rep.*, 8:896–904.
- Magnin-Robert, M., Trotel-Aziz, P., Quantinet, D., Biagiatti, S. and Aziz, A.**, 2007, Biological control of *Botrytis cinerea* by selected grapevine-associated bacteria and stimulation of chitinase and  $\beta$ -1,3 glucanase activities under field conditions, *Eur J Plant Pathol.*, 118, 43–57.
- Mahmood, A., Turgay, O.C., Farooq, M. and Hayat, R.**, 2016, Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review, *FEMS Microbiology Ecology*, 92(8),fiw112.
- Maignien, L., DeForce, E. A., Chafee, M. E., Murat Eren, A. and Simmons, S. L.**, 2014, Ecological succession and stochastic variation in the assembly of

*Arabidopsis thaliana* phyllosphere communities, *mBio*, 5:e00682-13.

**Maksimov, I. V., Singh, B .P., Cherepanova, E. A., Burkhanova, G. F. and Khairullin, R. M.**, 2020, Prospects and Applications of Lipopeptide-Producing Bacteria for Plant Protection (Review). *Appl Biochem Microbiol.*, 56, 15–28.

**Manjarres-López, D. P., Andrades, M. S., Sánchez-González, S., Rodríguez-Cruz, M. S., Sánchez-Martín, M. J. and Herrero-Hernández, E.**, 2021, Assessment of pesticide residues in waters and soils of a vineyard region and its temporal evolution, *Environmental Pollution*, 284, 117463.

**Marco, G. M. and Stall, R. E.**, 1983. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper, *Plant Disease*, 67:779-781pp.

**Martin, H. L., Hamilton, V. A. and Kopittke, R. A.**, 2004, Copper tolerance in Australian populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* contributes to poor field control of bacterial spot of pepper, *Plant Disease*, 88: 921-924.

**Martinez-Klimova, E., Rodríguez-Peña, K. and Sánchez, S.**, 2017, Endophytes as sources of antibiotics, *Biochem. Pharmacol.*, 134, 1-17.

**Mathys, J., De Cremer, K., Timmermans, P., Van Kerckhove, S., Lievens, B., Vanhaecke, M., Cammue, B. P. A. and De Coninck, B.**, 2012, Genome-wide characterization of isr induced in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma hamatum* T382 against *Botrytis cinerea* infection, *Front. Plant Sci.*, 3:108.

**Mauch-Mani, B., Baccelli, I., Luna, E. and Flors, V.**, 2017, Defense Priming: An Adaptive Part of Induced Resistance. *Annu Rev Plant Biol.*, 68:485-512.

**Mazinani, Z., Zamani, M. and Sardari, S.**, 2017, Isolation and Identification of Phyllospheric Bacteria Possessing Antimicrobial Activity from *Astragalus obtusifolius*, *Prosopis juliflora*, *Xanthium strumarium* and *Hippocrepis*

*unisiliquosa.*, *Avicenna journal of medical biotechnology*, 9(1), 31–37.

**Mbega, E. R., Mabagala, R. B., Adriko, J., Lund, O. S., Wulff, E. G. and Mortensen, C. N.**, 2012a, Five species of Xanthomonads associated with bacterial leaf spot symptoms in tomato from Tanzania, *Plant Disease*, 96(5):760.

**Mbega, E. R., Wulff, E. G., Mabagala, R. B., Adriko, J., Lund, O. S. and Mortensen, C. N.**, 2012b, Xanthomonads and other yellow-pigmented Xanthomonas-like bacteria associated with tomato seeds in Tanzania, *African Journal of Biotechnology*, 11(78):14303-14312.

**McGuire, R. G., Jones, J. B., Stanley, C. D. and Cszinsky, A. A.**, 1991, Epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* and bacterial spot of tomato as influenced by nitrogen and potassium fertilization, *Phytopathology*, 81,656–660.

**Melotto, M., Underwood, W. and He, S. Y.**, 2008, Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 46: 101–122.

**Mendes, R., Kruijt, M., de Bruijn, I., Dekkers, E., van der Voort, M., Piceno Y. M., Schneider, J. H. M., DeSantis, T. Z., Andersen, G. L., Raaijmakers, J. M. and Bakker, P. A. H. M.**, 2011, Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive, *Bacteria Science*, 332(6033):1097-1100.

**Mendis, H. C., Thomas, V. P., Schwientek, P., Salamzade, R., Chien, J-T., Waidyarathne, P., Kloepper, J. and De La Fuente, L.**, 2018, Strain-specific quantification of root colonization by plant growth promoting rhizobacteria *Bacillus firmus* I-1582 and *Bacillus amyloliquefaciens* QST713 in non-sterile soil and field conditions. *PLoS ONE* 13(2): e0193119.

**Mercier, J. and Lindow, S. E.**, 2000, Role of leaf surface sugars in colonization

of plants by bacterial epiphytes, *Appl. Environ. Microbiol.*, 66,369–374.

**Mhlongo, M. I., Piater, L. A., Madala, N. E., Labuschagne, N. and Dubery, I. A.**, 2018, The Chemistry of Plant–Microbe Interactions in the Rhizosphere and the Potential for Metabolomics to Reveal Signaling Related to Defense Priming and Induced Systemic Resistance, *Frontiers in Plant Science*, 9:112.

**Michavila, G., Adler, C., De Gregorio, P. R., Lami, M. J., Caram Di Santo, M. C., Zenoff, A. M., de Cristobal, R. E. and Vincent, P. A.**, 2017, *Pseudomonas* protegens CS1 from the lemon phyllosphere as a candidate for citrus canker biocontrol agent, *Plant Biol.*, 19, 608–617.

**Mirik, M., Aysan, Y. and Çınar, O.**, 2007, Copper-Resistant strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Doidge) dye in the Eastern Mediterranean Region of Turkey, *Journal of Plant Pathology*, 89(1):153-154.

**Mirik, M., Aysan, Y. and Çınar, O.**, 2008, Biological Control of Bacterial Spot Disease of Pepper with *Bacillus* Strains, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 32(5): 381-390.

**Mishra, S., Thombare, N., Ali, M. and Swami, S.**, 2018. Applications of Biopolymeric Gels in Agricultural Sector. In: Thakur, V.K., Thakur, M.K., Voicu, S.I. (Eds.), *Polymer Gels: Perspectives and Applications*. Springer, Singapore, pp. 186.

**Moss, W. P., Byrne, J. M., Campbell, H. L., Ji, P., Bonas, U., Jones, J. B. and Wilson, M.**, 2007, Biological control of bacterial spot of tomato using hrp mutants of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Biol. Control*, 41,199–206.

**Mueller, U. G. and Sachs, J. L.**, 2015, Engineering Microbiomes to Improve Plant and Animal Health, *Trens in microbiology*, 23, 606-617.

**Munné-Bosch, S. and Müller, M.**, 2013, Hormonal cross-talk in plant

development and stress responses, *Front. Plant Sci.*, 4:529.

**Myung, I.-S., Jeong, I. H., Moon, S. Y., Lee, S. W. and Shim, H. S.**, 2010, A new disease, arboricola leaf spot of bell pepper, caused by *Xanthomonas arboricola*, *Plant Disease*, 94(2):271.

**Nascimento, F. X., Rossi, M. J. and Glick, B. R.**, 2018, Ethylene and 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) in Plant–Bacterial Interactions, *Frontiers in Plant Science*, 9:114.

**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(5):413-416.

**Nautiyal, C. S.**, 1999, Ancient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms, *FEMS Microbiology Letters*, 170, 265-270.

**Nawrocka, J., Malolepsza, U., Szymczak, K. and Szczech, M.**, 2018, Involvement of metabolic components, volatile compounds, PR proteins, and mechanical strengthening in multilayer protection of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* activated by *Trichoderma atroviride* TRS25, *Protoplasma*, 255, 359–373.

**Nejad, P. and Johnson P. A.**, 2000, Endophytic Bacteria Induce Growth Promotion and Wilt Disease Suppression in Oilseed Rape and Tomato, *Biological Control*, 18, 208–215.

**Nishad, R., Ahmed, T., Rahman, V.J. and Kareem, A.**, 2020, Modulation of Plant Defense System in Response to Microbial Interactions, *Frontiers in Microbiology*, 11:1298.

**Niu, D. D., Wang, C. J., Guo, Y. H., Jiang, C. H., Zhang, W. Z., Wang, Y. P. and Guo, J. H.**, 2012, The plant growth-promoting Rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces resistance in tomato with induction and priming of

defence response, *Biocontrol Sci. Technol.*, 22, 991–1004.

**Nürnbergger, T., Brunner, F., Kemmerling, B. and Piater, L.**, 2004, Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. *Immunol Rev.*, 198:249-66.

**Obradovic, A., Mavridis, A., Rudolph, K., Janse, J. D., Arsenijevic, M., Jones, J. B., Minsavage, G. V. and Wang, J.**, 2004, Characterization and PCR-based typing of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from peppers and tomatoes in Serbia, *European Journal of Plant Pathology*, 110:285-292.

**Obradovic, A., Jones, J. B., Momol, M. T., Olson, S. M., Jackson, L. E., Balogh, B., Guven, K. and Iriarte, F. B.**, 2005, Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot on tomato, *Plant Dis.*, 89:712-716.

**O'Brien, P. A.**, 2017, Biological control of plant diseases, *Australasian Plant Pathol.*, 46,293–304.

**Oerke, E. C.**, 2006, Crop losses to pests, *J. Agric. Sci.*, 144, 31-43.

**Olanrewaju, O. S., Glick, B. R. and Babalola, O. O.**, 2017, Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria, *World J Microbiol Biotechnol.*, 33,197.

**Ongena, M., Jourdan, E., Adam, A., Paquot, M., Brans, A., Joris, B., Arpigny, J. L. and Thonart, P.**, 2007, Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants, *Environ Microbiol*, 9:1084–1090.

**Orozco-Mosqueda, M. D. C., Rocha-Granados, M. D. C., Glick, B.R. and Santoyo, G.**, 2018, Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms, *Microbiol Res.*, 208:25-31.

**Palaniyandi, S. A., Yang, S. H., Zhang, L. and Suh, J.W.**, 2013, Effects of

actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion, *Appl Microbiol Biotechnol.*, 97,9621–9636.

**Pajčin, I.; Vlajkov, V.; Frohme, M.; Grebinyk, S.; Grahovac, M.; Mojićević, M. And Grahovac, J.**, 2020, Pepper Bacterial Spot Control by *Bacillus velezensis*: Bioprocess Solution., *Microorganisms*, 8, 1463.

**Panáček, A., Kvítek, L., Pucek, R., Kolář, M., Večeřová, R., Pizúrová, N., Sharma, V. K., Nevečná, T. and Zbořil, R.**, 2006, Silver colloid nanoparticles: Synthesis, characterization, and their antibacterial activity, *J. Phys. Chem. B.*, 110:16248-16253.

**Paret, M. L., Vallad, G. E., Averett, D. R., Jones, J. B. and Olson, S. M.**, 2013, Photocatalysis: Effect of light-activated nanoscale formulations of TiO<sub>2</sub> on *Xanthomonas perforans* and control of bacterial spot of tomato, *Phytopathology*, 103:228-236.

**Patten, C. L. and Glick, B. R.**, 2002, Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system, *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 3795–3801.

**Pawlikowska, E., James, S. A., Breierova, E., Antolak, H. and Kregiel, D.**, 2019, Biocontrol capability of local *Metschnikowia* sp. isolates, *Antonie van Leeuwenhoek*, 112, 1425–1445.

**Penrose, D. M. and Glick, B. R.**, 2003; Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria, *Physiologia Plantarum*, 118: 10–15. 2003

**Perez, S. M., Biondi, E., Laurita, R., Proto, M., Sarti, F., Gherardi, M., Bertaccini, A. and Colombo, V.**, 2019, Plasma activated water as resistance inducer against bacterial leaf spot of tomato. *Plos One* 14(5): e0217788.

**Pernezny, K. and Collins, J.**, 1997, Epiphytic populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on pepper: relationships to host-plant resistance

and exposure to copper sprays, *Plant Disease*, 81:791-794pp.

**Phi, Q. T., Park, Y. M., Seul, K. J., Ryu, C. M., Park, S. H., Kim, J. G. and Ghim, S. Y.**, 2010, Assessment of root-associated paenibacillus polymyxa groups on growth promotion and induced systemic resistance in pepper, *J Microbiol Biotechnol.*, 20(12):1605-13.

**Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P. and Putten W.H.**, 2013, Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere, *Nat. Rev. Microbiol.*, 11:789-799.

**Pieterse, C. M., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A. And Van Wees, S. C.**, 2012, Hormonal modulation of plant immunity, *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 28:489-521.

**Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C. and Bakker, P. A.**, 2014, Induced systemic resistance by beneficial microbes, *Annu Rev Phytopathol.*, 52:347-75.

**Pontes, N. D. C., Nascimento, A. D. R., Golynski, A., Maffia, L. A., Rogério de Oliveira, J. and Quezado-Duval, A. M.**, 2016, Intervals and number of applications of acibenzolar-S-methyl for the control of bacterial spot on processing tomato, *Plant Dis.*, 100:2126-2133.

**Potnis, N., Timilsina, S., Strayer, A., Shantharaj, D., Barak, J. D., Paret, M. L., Vallad, G. E. and Jones, J. B.**, 2015, Bacterial spot of tomato and pepper: diverse *Xanthomonas* species with a wide variety of virulence factors posing a worldwide challenge, *Molecular Plant Pathology*, 16(9):907–920.

**Poupin, M. J., Greve, M., Carmona, V. and Pinedo, I. A.**, 2016, Complex Molecular Interplay of Auxin and Ethylene Signaling Pathways Is Involved in Arabidopsis Growth Promotion by *Burkholderia phytofirmans* PsJN, *Front Plant Sci.*, 7:492.

**Pršić, J. and Ongena, M.**, 2020, Elicitors of Plant Immunity Triggered by

Beneficial Bacteria, *Frontiers in Plant Science*, 11:1675.

**Punina, N. V., Ignatov, A. N., Pekhtereva, E. S., Kornev, K. P., Matveeva, E. V., Polityko, V. A., Budenkov, N. I. and Schaad, N. W.**, 2009, Occurrence of *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* on tomato plants in the Russian Federation, *Acta Horticulturae*, 808:287-290pp.

**Qiao, K., Liu, Q., Xia, Y. and Zhang, S.**, 2021, Evaluation of a Small-Molecule Compound, 585 N-Acetylcysteine, for the Management of Bacterial Spot of Tomato Caused by 586 Copper-Resistant *Xanthomonas perforans*. *Plant Dis.* 105(1), 108-113.

**Qiao, K., Liu, Q., Huang, Y., Xia, Y. and Zhang, S.**, 2020, Management of bacterial spot of tomato caused by copper-resistant *Xanthomonas perforans* using a small molecule compound carvacrol, *Crop Protection*, 132, 105114

**Queipo-Ortuno, M. I., Colmenero, J. D. D., Macias, M., Bravo, M. J. and Morata, P.**, 2008, Preparation of bacterial DNA template by boiling and effect of immunoglobulin G as an inhibitor in Real-Time PCR for serum samples from patients with Brucellosis, *Clin. Vaccine Immunol.*, 15, 293-296.

**Raaijmakers, J. M., Vlami, M. and de Souza, J. T.**, 2002, Antibiotic production by bacterial biocontrol agents, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81(1-4):537-47.

**Raaijmakers, J. M. and Mazzola, M.**, 2012, Diversity and Natural Functions of Antibiotics Produced by Beneficial and Plant Pathogenic Bacteria, *Annual Review of Phytopathology*, 50, 1:403-424.

**Ramadan, E. M., AbdelHafez, A. A., Hassan, E. A. and Saber, F. M.**, 2016, Plant growth promoting rhizobacteria and their potential for biocontrol of phytopathogens, *African Journal of Microbiology Research*, 10(15):486-504.

**Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A. N., Yadav, N., Dhaliwal, H. S. and Saxena, A. K.**, 2020, Endophytic microbes: biodiversity, plant

growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability, *Antonie van Leeuwenhoek*, 113, 1075–1107.

**Rastogi, G., Sbodio, A., Tech, J., Suslow, T. V., Coaker, G. L. and Leveau, J. H. J.**, 2012, Leaf microbiota in an agroecosystem: spatiotemporal variation in bacterial community composition on field-grown lettuce, *ISME J*, 6, 1812–1822.

**Ray, D. K., Mueller, N. D., West, P. C. and Foley, J. A.**, 2013, Yield trends are insufficient to double global crop production by 2050, *PLoS One*, 8(6): e66428.

**Raza, W., Ling, N., Yang, L., Huang, Q. and Shen, Q.**, 2016, Response of tomato wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* to the volatile organic compounds produced by a biocontrol strain *Bacillus amyloliquefaciens* SQR-9. *Sci Rep*, 6:1–13.

**Remigi, P., Zhu, J., Young, J. P. W. and Masson-Boivin, C.**, 2016, Symbiosis within symbiosis: evolving nitrogen-fixing legume symbionts, *Trends Microbiol.*, 24:63-75.

**Ritchie, D.F. and Dittapongpitch, V.**, 1991, Copper- and streptomycin- resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina, *Plant Disease*, 75:733-736pp.

**Ritchie, D.F.**, 2000, Bacterial spot of pepper and tomato, *The Plant Health Instructor*, DOI: [10.1094/PHI-I-2000-1027-01](https://doi.org/10.1094/PHI-I-2000-1027-01)

**Roach, R., Mann, R., Gambley, C.G., Shivas, R. G. and Rodoni, B.**, 2018, Identification of *Xanthomonas* species associated with bacterial leaf spot of tomato, capsicum and chilli crops in eastern Australia., *Eur J Plant Pathol.*, 150,595–608.

**Roberts, P. D., Momol, M. T., Ritchie, L., Olson, S. M., Jones, J. B. and Balogh, B.**, 2008, Evaluation of spray programs containing famoxadone plus

cymoxanil, acibenzolar-S-methyl, and *Bacillus subtilis* compared to copper sprays for management of bacterial spot on tomato, *Crop Protection*, 27(12): 1519-1526.

**Rosenblueth, M. and Martínez-Romero, E.**, 2006, Bacterial endophytes and their interactions with hosts, *Mol. Plant Microbe Interact.*, 19, 827-837.

**Ryffel, F., Helfrich, E. J. N., Kiefer, P., Peyriga, L., Portais, J. C., Piel, J. and Vorholt, J. A.**, 2016, Metabolic footprint of epiphytic bacteria on *Arabidopsis thaliana* leaves, *ISME J.*, 10, 632–643.

**Sahin, F., and Miller S.A.**, 1998, Resistance in *Capsicum pubescens* to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pepper race 6, *Plant Disease*, 82:794-799pp.

**Saleh, S. S. and Glick, B. R.**, 2001, Involvement of *gacS* and *rpoS* in enhancement of the plant growth promoting capabilities of *Enterobacter cloacae* CAL2 and UW4, *Can. J. Microbiol.*, 47(8):698-705.

**Salvatierra-Martínez, R., Arancibia, W., Araya, M., Aguilera, S., Olalde, V., Bravo, J. and Stoll, A.**, 2018. Colonization ability as an indicator of enhanced biocontrol capacity—an example using two *Bacillus amyloliquefaciens* strains and *Botrytis cinerea* infection of tomatoes, *J. Phytopathol.*, 166: 601–612.

**Sánchez-López, A. S., González-Chávez, Md. C. A., Solís-Domínguez, F. A., Carrillo-González, R. and Rosas-Saito, G. H.**, 2018, Leaf Epiphytic Bacteria of Plants Colonizing Mine Residues: Possible Exploitation for Remediation of Air Pollutants, *Front. Microbiol.*, 9:3028.

**Sandhya V.**, 2017, Endophytes from maize with plant growth promotion and biocontrol activity under drought stress. *Russ. Agric. Sci.*, 43:22–34.

**Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Orozco-Mosqueda, M., C. and Glick, B. R.**, 2016, Plant growth-promoting bacterial endophytes, *Microbiological*

*Research*, 183:92–99.

**Saraf, M., Pandya, U. and Thakkar, A.**, 2014, Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. *Microbiol Res.*, 169(1):18-29.

**Sarkar, D., Rakshit, A., Al-Turki, A. I., Sayyed, R. Z. and Datta, R.**, 2021 Connecting Bio-Priming Approach with Integrated Nutrient Management for Improved Nutrient Use Efficiency in Crop Species, *Agriculture*, 11 (4), 372.

**Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N. and Nelson, A.**, 2019, The global burden of pathogens and pests on major food crops, *Nat Ecol Evol.*, 3(3):430–439.

**Scalschi, L., Llorens, E., González-Hernández, A. I., Valcárcel, M., Gamir, J., García-Agustín, P., Vicedo, B. and Camañes, G.**, 2018, 1-Methyltryptophan Modifies Apoplast Content in Tomato Plants Improving Resistance Against *Pseudomonas syringae*, *Front. Microbiol.*, 9:2056.

**Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W.**, 2001, Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, (N.W. Schaad, J.B. Jones, and W. Chun, Eds.), American Phytopathological Society Press (Third Edit, Vol. 50), St Paul, USA, 373 pp.

**Schwyn, B. and Neilands, J. B.**, 1987, Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores, *Anal Biochem.*, 160(1):47-56.

**Schiavi, D., Francesconi, S., Bischetti, G. G., Fortunati, E. and Balestra, G. M.**, 2021, Antibacterial activity of coumarin as an innovative organic control strategy for *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria*., *J Plant Dis Prot.*, doi.org/10.1007/s41348-021-00534-y.

**Senthilkumar, M., Madhaiyan, M., Sundaram, S. P. and Kannaiyan, S.**, 2009, Intercellular colonization and growth promoting effects of *Methylobacterium* sp. with plant-growth regulators on rice (*Oryza sativa* L. CvCO-43),

*Microbiol Res.*, 164:92–104.

**Serçe, S. and Ö. Görgülü.**, 2009, Yapay Bir Veri Seti İle Tartılı Derecelendirme Yönteminin Yeniden Değerlendirilmesi, *Alatarım*, 8:43–50.

**Shakir, S., Zaidi, S. Z., de Vries, F. T. and Mansoor, S.**, 2021, Plant Genetic Networks Shaping Phyllosphere Microbial Community, *Trends in Genetics*, 37: 306-316.

**Sharma, A. and Johri, B. N.**, 2003, Growth promoting influence of siderophore-producing *pseudomonas* strains GRP3A and PRS9 in maize (*Zea mays* L.) under iron limiting conditions., *Microbiol. Res.*, 158, 243-248.

**Sharma, S. and Bhattarai, K.**, 2019, Progress in developing bacterial spot resistance in tomato, *Agronomy*, 9:26.

**Shenge, K. C., Mabagala, R. B., Martensen, C. N. and Wydra, K.**, 2014, Resistance of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* isolates from Tanzania to copper and implications for bacterial spot management, *African Journal of Microbiology Research*, 8(30):2881-2885.

**Shrestha, A., Kim, B. S. and Park, D. H.**, 2014, Biological control of bacterial spot disease and plant growth-promoting effects of lactic acid bacteria on pepper, *Biocontrol Science and Technology*, 24(7):763-779.

**Silva, H. S. A., Romeiro, R. D. S. and Munteer, A.**, 2003, Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents, *J. Phytopathol.*, 151, 42–46.

**Singh, S., Kumar, V., Dhanjal, D. S. and Singh, J.**, 2020, Biological Control Agents: Diversity, Ecological Significances, and Biotechnological Applications. In: Singh, J., Yadav, A. (eds) *Natural Bioactive Products in Sustainable Agriculture*. Springer, Singapore, pp 31–44.

**köhlh, V., Upadhyay, R.S., Sarma, B.K. and Singh, H.B.**, 2016, *Trichoderma*

*asperellum* spore dose depended modulation of plant growth in vegetable crops, *Microbiol. Res.*, 193, pp.74-86.

**Sipiczki M.**, 2006, *Metschnikowia* strains isolated from botrytized grapes antagonize fungal and bacterial growth by iron depletion, *Appl Environ Microbiol*, 72(10):6716–6724.

**Sivakumar, N., Sathishkumar, R., Selvakumar, G., Shyamkumar, R. and Arjunekumar, K.**, 2020, Phyllospheric Microbiomes: Diversity, Ecological Significance, and Biotechnological Applications. *Plant Microbiomes for Sustainable Agriculture*, 25, 113–172.

**SkZ, A., Vardharajula, S. and Vurukonda, P. S. K. P.**, 2018, Transcriptomic profiling of maize (*Zea mays* L.) seedlings in response to *Pseudomonas putida* strain FBKV2 inoculation under drought stress, *Ann. Microbiol.*, 68, 331–349.

**Smith, S. A., Tank, D. C., Boulanger, L. A., Bascom-Slack, C. A., Eisenman, K., Kingery, D., Babbs, B., Fenn, K., Greene, J. S., Hann, B. D., Keehner, J., Kelley-Swift, E. G., Kembaiyan, V., Lee, S. J., Li, P., Light, D. Y., Lin, E. H., Ma, C., Moore, E., Schorn, M. A., Vekhter, D., Nunez, P. V., Strobel, G. A., Donoghue, M. J. and Strobel, S. A.**, 2008, Bioactive endophytes warrant intensified exploration and conservation. *PLoSOne* 3, e3052.

**Smith, J. L., De Moraes, C. M. and Mescher, M. C.**, 2009, Jasmonate- and salicylate-mediated plant defense responses to insect herbivores, pathogens and parasitic plants. *Pest Manag Sci.*, 65(5):497-503.

**Smith, D. L., Gravel, V. and Yergeau, E.**, 2017, Editorial: signaling in the phytomicrobiome., *Front. Plant Sci.*, 8:611.

**Srivastava, S., Bist, V., Srivastava, S., Singh, P. C., Trivedi, P. K., Asif, M. H., Chauhan, P. S. and Nautiyal, C.S.**, 2016 Unraveling Aspects of *Bacillus*

*amyloliquefaciens* Mediated Enhanced Production of Rice under Biotic Stress of *Rhizoctonia solani*, *Front Plant Sci.*, 7:587.

**Stall, R.E., Beaulieu, C., Egel, D., Hodge, N.C., Leite, R.P., Minsavage, G.V., Bouzar, H., Jones, J.B., Alvarez, A.M. and Benedict, A.A.**, 1994, Two genetically diverse groups of strains are included in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44:47-53pp.

**Strange, R. N. and Scott, P. R.**, 2005, Plant Disease: A Threat to Global Food Security, *Annual Review of Phytopathology*, 43:1, 83-116.

**Strayer, A., Ocsoy, I., Tan, W., Jones, J. B. and Paret, M. L.**, 2016, Low concentrations of a silver-based nanocomposite to manage bacterial spot of tomato in the greenhouse, *Plant Dis.*, 100(7):1460-1465.

**Strayer Scherer, A. L., Liao, Y. Y., Young, M., Ritchie, L., Vallad, G. E., Santra, S., Freeman, J. H., Clark, D., Jones, J. B. and Paret, M. L.**, 2018, Advanced copper composites against copper-tolerant *Xanthomonas perforans* and tomato bacterial spot, *Phytopathology*, 108(2),196-205.

**Sun Y., Cheng Z. and Glick B.R.**, 2009, The presence of a 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase deletion mutation alters the physiology of the endophytic plant growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* PsJN., *FEMS Microbiol. Lett.*, 296:131–136.

**Swain, M. R., Ray, R. C. and Nautiyal, C. S.**, 2008, Biocontrol efficacy of *Bacillus subtilis* strains isolated from cow dung against postharvest yam (*Dioscorea rotundata* L.) pathogens, *Curr Microbiol.*, 57:407.

**Talibi, I., Boubaker, H., Boudyach, E.H. and Ait Ben Aoumar, A.**, 2014. Alternative methods for the control of postharvest citrus diseases. *J. Appl. Microbiol.* 117, 1-17.

**Takishita, Y., Charron, J. B. and Smith, D. L.**, 2018, Biocontrol rhizobacterium

*Pseudomonas* sp. 23s induces systemic resistance in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) against bacterial canker *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Front. Microbiol.*, 9:2119.

**Timilsina, S., Jibrin, M. O., Potnis, N., Minsavage, G. V., Kebede, M., Schwartz, A., Bart, R., Staskawicz, B., Boyer, C., Vallad, G. E., Pruvost, O., Jones, J. B. and Goss, E. M.**, 2015, Multilocus sequence analysis of xanthomonads causing bacterial spot of tomato and pepper reveals strains generated by recombination among species and recent global spread of *Xanthomonas gardneri*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 81(4), 1520–1529.

**Tiwari, S., Lata, C., Chauhan, P. S. and Nautiyal, C.S.**, 2016, *Pseudomonas putida* attunes morphophysiological, biochemical and molecular responses in *Cicer arietinum* L. during drought stress and recovery, *Plant Physiology and Biochemistry*, 99, 108-117.

**TUİK (Türkiye İstatistik Kurumu)**, 2020, Bitkisel Üretim İstatistikleri (Erişim tarihi: 20 Nisan 2022)

**van de Mortel, J. E., de Vos, R. C., Dekkers, E., Pineda, A., Guillod, L., Bouwmeester, K., van Loon, J. J., Dicke, M. and Raaijmakers, J. M.**, 2012, Metabolic and transcriptomic changes induced in *Arabidopsis* by the rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* SS101, *Plant Physiol.*, 160, 2173–2188.

**van Esse, H. P., Reuber, T. L. and van der Does, D.**, 2020, Genetic modification to improve disease resistance in crops. *New Phytol.*, 225: 70-86.

**van Verk, M. C., Bol, J. F. and Linthorst, H. J. M.**, 2011, WRKY transcription factors involved in activation of SA biosynthesis genes, *BMC Plant Biol.*, 11, 89.

**Van Wees, S. C., Van der Ent, S. and Pieterse, C. M. J.**, 2008, Plant immune responses triggered by beneficial microbes, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 11, 443–

438.

- Veliz, E. A., Martínez-Hidalgo, P. and Hirsch, A. M.,** 2017, Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol, *AIMS Microbiol.*, 3, 689–705.
- Verhagen, B.W., Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Höfte, M. and Aziz, A.,** 2010, *Pseudomonas* spp.-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* is associated with induction and priming of defence responses in grapevine, *J Exp Bot.*, 61(1):249-60.
- Vorholt, J.,** 2012, Microbial life in the phyllosphere, *Nat Rev Microbiol*, 10, 828–840.
- Völksch, B. and May, R.,** 2001, Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* by epiphytic bacteria under field conditions, *Microb. Ecol.*, 41, 132–139.
- Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D. and Stefani, E.,** 2018, Plant Growth Promoting and Biocontrol Activity of *Streptomyces* spp. as Endophytes, *International Journal of Molecular Sciences*, 19:4, 952.
- Walters, D. R., Ratsep, J. and Havis, N. D.,** 2013, Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future, *Journal of Experimental Botany*, 64(5): 1263–1280.
- Wang, K., Sipilä, T. P. and Overmyer, K.,** 2016, The isolation and characterization of resident yeasts from the phylloplane of *Arabidopsis thaliana*, *Scientific Reports*, 6:39403.
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K. and Swings, J.,** 1995, Reclassification of *Xanthomonas*, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45:472-489pp.
- Vicente, J.G., Everett, B. and Roberts, S.J.,** 2006, Identification of isolates that cause a leaf spot disease of brassicas as *Xanthomonas campestris* pv. *raphani*

and pathogenic and genetic comparison with related pathovars. *Phytopathology*, 96:735-745pp.

**Weller, D. M., Van Pelt, J. A., Mavrodi, D. V., Pieterse, C. M. J., Bakker, P. A. H. M. and Van Loon, L. C.**, 2004, Induced systemic resistance (ISR) in *Arabidopsis* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG)-producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, 94 (suppl.):S108.

**Wensing, A., Braun, S. D., Büttner, P., Expert, D., Völksch, B., Ullrich, M. S. and Weingart, H.**, 2010, Impact of siderophore production by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 22d/93 on epiphytic fitness and biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* 1a/96, *Applied and environmental microbiology*, 76(9),2704–2711.

**Wilson, M. and Lindow, S. E.**, 1994a, Ecological similarity and coexistence of epiphytic ice-nucleating (Ice<sup>+</sup>) *Pseudomonas syringae* strains and a non-ice-nucleating (Ice<sup>-</sup>) biological control agent, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60:3128-3137.

**Wilson, M. and Lindow, S. E.**, 1994b, Coexistence among epiphytic bacterial populations mediated through nutritional resource partitioning, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 4468–4477.

**Worthington R. J., Rogers, S. A., Huigens, R. W. 3rd, Melander, C. and Ritchie, D. F.**, 2012, Foliar-Applied Small Molecule that Suppresses Biofilm Formation and Enhances Control of Copper-Resistant *Xanthomonas euvesicatoria* on Pepper, *Plant Dis.*, 11:1638-1644.

**Wu, L. M., Wu, H. J., Qiao, J. Q., Gao, X. W. and Borriss, R.**, 2015, Novel routes for improving biocontrol activity of *Bacillus* based bioinoculants, *Frontiers in Microbiology*, 6:01395.

**Xin, X. F., Nomura, K., Aung, K., Velásquez, A. C., Yao, J., Boutrot, F.,**

**Chang, J. H., Zipfel, C. and He, S. Y.,** 2016, Bacteria establish an aqueous living space in plants crucial for virulence, *Nature*, 539, 524–529.

**Yim, W. J., Kim, K. Y., Lee, Y. W., Sundaram, S. P., Lee, Y. and Sa, T. M.,** 2014, Real time expression of ACC oxidase and PR-protein genes mediated by *Methylobacterium* spp. in tomato plants challenged with *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Journal of Plant Physiology*, 171(12), 1064-1075.

**Yuan, M., Ngou, B. Y. M., Ding, P. And Xin, X. F.,** 2021, PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity, *Current Opinion in Plant Biology*, 62:102030,

**Zambon, Y., Contaldo, N., Laurita, R., Várallyay, E., Canel, A., Gherardi, M., Colombo, V. and Bertaccini, A.,** 2020, Plasma activated water triggers plant defence responses, *Sci Rep.*, 10, 19211.

**Zhang, Y., Callaway, E., Jones, J. B. and Wilson, M.,** 2009, Visualisation of hrp gene expression in *Xanthomonas euvesicatoria* in the tomato phyllosphere, *Eur. J. Plant Pathol.*, 124, 379–390.

**Zhang, X., Chen, S. and Mou, Z.,** 2010, Nuclear localization of NPR1 is required for regulation of salicylate tolerance, isochorismate synthase 1 expression and salicylate accumulation in *Arabidopsis*, *J. Plant Physiol.*, 167, 144–148.

**Zhu, H., Li, S., Hu, Z. and Liu, G.,** 2018, Molecular characterization of eukaryotic algal communities in the tropical phyllosphere based on real-time sequencing of the 18S rDNA gene, *BMC Plant Biol.*, 18, 365.

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca TÜBİTAK tarafından yurt içi lisansüstü burs programı kapsamında olan 2228-B yüksek lisans öğrencileri için yurt içi doktora burs programı tarafından desteklendim. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Doktora çalışmam süresince deneyimlerinden yararlandığım, görüş ve katkıları ile bana yol gösteren, değerli bilgi ve zamanını benimle paylaşan, birlikte çalışmaktan onur duyduğum, her zaman gösterdiği hoşgörü ve sabrından dolayı değerli hocam Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN'a teşekkür ederim.

Tezin oluşumundan tamamlanmasına kadar geçen süreçte deneyimlerinden faydalandığım ve laboratuvar imkanlarını bana açan Prof. Dr. Ayşe GÜL ve Doç. Dr. Birsen ÇAKIR AYDEMİR'e ve tez izleme komitemde yer alan diğer öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Çalışmamın uygulama aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Utku ŞANVER ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her an desteklerini hissettiğim ve her koşulda bana duydukları güven, gösterdikleri fedakarlıklar için aileme sonsuz teşekkür ederim.

## ÖZGEÇMİŞ

2009 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde lisans eğitimine başladı. 2013 yılında aynı bölümden Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilimdalı, Fitopatoloji Bilimdalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2016 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı ve Fitopatoloji anabilim dalında doktora başladı.

