

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

SICAKLIK STRESİNİN KÖKBAKTERİLERİNİN
BİTKİ GELİŞİMİNİ ARTIRMA VE
BİYOKONTROL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Senem FİLİZ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 501.03.01

Sunuş Tarihi : 22.07.2011

Bornova-İZMİR
2011

Senem FİLİZ tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak sunulan “Sıcaklık Stresinin Kökbakterilerinin Bitki Gelişimini Artırma ve Biyokontrol Özelliklerine Etkisi” başlıklı bu çalışma E. Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim yönetmeliği ile E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 22 / 07 / 2011 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybiligi/ oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri**İmza**

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Üye : Prof. Dr. Ayşe GÜL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Nedim ÇETİNKAYA

ÖZET

SICAKLIK STRESİNİN KÖKBAKTERİLERİNİN BİTKİ GELİŞİMİNİ ARTIRMA VE BİYOKONTROL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

FİLİZ, Senem

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Temmuz 2011, 80 sayfa

Ekonomik nedenlerden dolayı ülkemiz seralarında domates yetiştiriciliğinde, en önemli abiyotik stres faktörü sıcaklıktır. Biyotik stres faktörlerinin başında ise toprak kaynaklı fungal ve bakteriyel patojenlerin yol açtığı hastalıklar gelmektedir. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (*FORL*)’den kaynaklanan fungal kök ve kökboğazı çürüklüğü ve *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) ‘den kaynaklanan bakteriyel solgunluk etmenleri yetiştiricilikte önemli sorunlardır. Son yıllarda bu hastalıklara karşı biyolojik savaşın alternatif bir mücadele yöntemi olabileceği ifade edilmektedir. Bu çalışmanın amacı, domates bitkilerinden izole edilen kökbakterilerinin yanı sıra bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, çeşitli konukçu X patojen sisteminde biyolojik savaş açısından etkililiği kanıtlanmış 10 adet antagonist bakterinin bitki gelişimini artırıcı özellikleri ve *Cmm* ve *FORL*’a karşı biyolojik savaş potansiyelleri üzerine farklı sıcaklık rejimlerinin (16°C, 24°C ve 36°C) *in vitro* koşullarda etkisinin saptanmasıdır. *In vitro* ‘da farklı sıcaklıklarda IAA üretimi açısından yapılan testlerde IAA üretiminin sıcaklık stresinden etkilenmediği saptanmıştır. Düşük ve yüksek sıcaklıklar, optimum sıcaklığa göre fosfataz enzimi üretimini olumsuz etkilemiştir. Testlenen kökbakterilerinin optimal sıcaklığa oranla HCN üretimi de sıcaklık stresinden olumsuz etkilenmiştir. CAS agar ortamında 24°C ‘de kökbakterilerinde siderofor üretimi gözlenirken 16°C ve 36°C ‘de kökbakterileri hiç siderofor üretememişlerdir. *In vitro* tohum çimlenme testinde ise TR 2/1 ve TR 21/1

numaralı kökbakterilerinin çimlenmeye etki yönünden ön plana çıktığı saptanmıştır. *Cmm* ve *FORL* 'a karşı biyokontrol özellikleri yönünden testlenen bakterilerin *in vitro* biyokontrol aktivitesi genel olarak düşük ve yüksek sıcaklıklardan olumsuz etkilenmiştir.

Anahtar Sözcükler: kökbakterileri, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, domates, biyokontrol, sıcaklık

ABSTRACT

THE EFFECT OF DIFFERENT TEMPERATURE STRESS ON THE
ABILITIES OF PLANT GROWTH PROMOTING AND BIOCONTROL OF
RHIZOBACTERIA (PGPR)

FİLİZ, Senem

MSc in, Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

July 2011, 80pages

In our country, because of economical reasons the most important abiotic stress factor is temperature in tomato growing in the greenhouses. Besides that, the main biotic stress factor is soil born fungal and bacterial pathogens related diseases. Diseases that caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (*FORL*) and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) are the most important problems in commercial tomato production. Therefore, in recent years, biological control could be an alternative method against these diseases. This study was conducted to determine the effect of different temperatures (16°C, 24°C and 36°C) on *in vitro* plant growth promoting and biocontrol potential of rhizobacteria which were isolated from tomato plant. Out of ten rhizobacteria strains showed effectiveness in terms of biological control against *Cmm* and *FORL* and plant growth promotion in different host X-pathogen system. It was determined that IAA production was not effected from low and high temperature. According to the results from the optimum temperature, the low and high temperatures were adversely affected the production of phosphatase enzyme. Also, HCN production was adversely effected by low and high temperatures. On CAS agar media, siderophore was produced by rhizobacteria at 24°C. At 16°C and 36°C, the bacteria couldn't produce siderophore on CAS agar plate. According to *in vitro* seed germination test result, TR 2/1 and TR 21/1 were

succeed in terms of seed germination. *In vitro* biocontrol activity against *FORL* and *Cmm* was adversely effected at low and high temperature.

Key Words: Rhizobacteria, *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, tomato, biocontrol, temperature

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında ihtiyacım olan değerli fikir ve görüşlerini hiçbir zaman esirgemeyen, tez çalışmamı yönlendiren ve tezimin hazırlanmasında büyük yardımlarını gördüğüm danışman hocam sayın Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN 'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin laboratuvar çalışmalarının yürütülmesinde bana her konuda yardımcı olan Yük. Zir. Müh. Senem AKAT 'a, Dr. Lalehan YOLAGELDİ 'ye ve Arş. Gör. Ahmet AKKÖPRÜ 'ye ve laboratuvarında benimle çalışan bütün arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman desteği ve değerli fikirleriyle bana sonsuz motivasyon kaynağı olan Biyomüh. Cem YALAZA 'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca çalışmam süresince manevi desteklerini gördüğüm değerli arkadaşlarım Yük. Zir. Müh. Perihan TARI 'ya, Av. Barış Emre GÜREL 'e ve Yük. Moleküler Biyolog Neslihan IŞIK, 'a çok teşekkür ederim. Ayrıca, bu tezde emeği geçen adı geçmeyen herkese teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, varlıklarından güç aldığım, bana olan inançlarını hiçbir zaman yitirmeyen, tez çalışmam boyunca maddi ve manevi hiçbir desteğini esirgemeyen babam Kemal FİLİZ 'e, annem Nalan FİLİZ 'e, kardeşlerim Öğr. Gör. Seçkin FİLİZ ve Serkan FİLİZ 'e sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
2.1. Sıcaklık Stresinin Örtüaltı Domates Yetiştiriciliğine Etkisi.....	6
2.2. <i>FORL</i> ‘un Örtüaltı Domates Yetiştiriciliği Açısından Önemi.....	8
2.3. <i>Cmm</i> ‘nin Örtüaltı Domates Yetiştiriciliği Açısından Önemi	10
2.4. PGPR’ ların Biyokontrole ve Bitki Gelişimine Etkisi.....	12
3. MATERYAL VE METOD.....	15
3.1. Çalışmada Kullanılan Test Patojeni Bakteri ve Fungus	15
3.2. Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri	15
3.3. Çalışmada Kullanılan Kökbakterileri	16
3.4. <i>In vitro</i> Koşullarda Kökbakterilerinin PGPR Aktivitesinin Saptanması	17
3.4.1. Indol Asetik Asit (IAA) aktivitesi	17
3.4.2. HCN üretiminin saptanması	18
3.4.3. Fosfataz (P) aktivitesi.....	19
3.4.4. Siderofor üretme aktivitesi	19
3.4.5. Kökbakterilerinin <i>in vitro</i> ’da tohum çimlenmesine etkisi	20
3.5. <i>In vitro</i> Koşullarda Kökbakterilerinin <i>FORL</i> ’a ve <i>Cmm</i> ’e Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi	20
3.6. PGPR ve Biyokontrol Özelliği Saptanan Kökbakterilerinin Değişik Sıcaklık Rejimlerinde Gelişiminin İzlenmesi.....	20
3.7. Sıcaklık Stresine Dayanan Kökbakterilerinin Değişik Sıcaklık Rejimlerinde <i>in vitro</i> PGPR ve Biyokontrol Özelliklerinin Testlenmesi.....	21
3.8. Testlenen Kökbakterilerinin Tanısı	21
3.8.1. KOH ile Gram reaksiyonun belirlenmesi.....	21
3.8.2. Oksidaz testi	21
3.8.3. Anaerobik gelişme	22

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.8.4. Levan oluşumu	22
3.8.5. Patatesin pektolize olması	22
3.8.6. Tütünde aşırı duyarlılık testi.....	23
3.8.7. Jelatinin hidrolizi (sıvılaşması).....	23
3.8.8. Arginine Dihydrolase Testi	23
4. BULGULAR	25
4.1. <i>In vitro</i> Koşullarda Kökbakterilerinin Optimal Koşullarda PGPR	
Aktivitesinin Saptanması Sonuçları.....	25
4.1.1. IAA testi sonuçları.....	25
4.1.2. HCN üretimi sonuçları	26
4.1.3. Fosfataz aktivitesi testi sonuçları.....	27
4.1.4. CAS agarda siderofor üretme aktivitesi testi sonuçları	28
4.1.5. Tohum çimlendirme testi sonuçları	30
4.2. <i>In vitro</i> Koşullarda Kökbakterilerinin <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp.	
<i>radicis-lycopersici</i> (FORL) 'a ve <i>Cmm</i> 'e Karşı Biyokontrol Etkilerinin	
Belirlenmesi Sonuçları.....	31
4.2.1. <i>In vitro</i> koşullarda kökbakterilerinin <i>Cmm</i> 'e karşı biyokontrol	
etkilerinin belirlenmesi sonuçları	31
4.2.2. <i>In vitro</i> koşullarda kökbakterilerinin FORL' a karşı biyokontrol	
etkilerinin belirlenmesi sonuçları	34
4.3. Kökbakterilerinin Farklı Sıcaklık Derecelerinde Gelişimi Sonuçları	36
4.4. Sıcaklık Stresine Dayanan Kökbakterilerinin Değişik Sıcaklık	
Rejimlerinde <i>in vitro</i> PGPR ve Biyokontrol Özelliklerinin Testlenmesi	
Sonuçları	37
4.4.1. Sıcaklık stresine dayanan kökbakterilerinin değişik sıcaklık	
rejimlerinde <i>in vitro</i> PGPR özelliklerinin testlenmesi sonuçları	37
4.4.2. Sıcaklık stresine dayanan kökbakterilerinin değişik sıcaklık	
rejimlerinde <i>in vitro</i> biyokontrol özelliklerinin testlenmesi sonuçları	42
4.5. Bakteriyel Antagonistlere Uygulanan Tanılama Testi Sonuçları	45

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
5. TARTIŞMA	52
5.1. PGPR ‘ların Bitki Gelişimindeki Rolü	52
5.2. PGPR ‘ların Biyokontrol Özelliği ile İlgili Bilgiler	56
6. SONUÇ	60
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	62
ÖZGEÇMİŞ	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. <i>FORL</i> 'un domates bitkisinin a) kök bölgesinde ve b) kök boğazında meydana getirdiği zarar.....	4
1.2. Domates bitkisinde <i>Cmm</i> 'in iletim demetlerinde meydana getirdiği kahverengileşme.	4
3.1. Farklı IAA dozlarında 535nm'de okunan Absorbans değerleri.....	18
4.1. Bazı bakteri strainlerinde IAA testi sonuçlarının görüntüsü.....	26
4.2. Antagonist bakterilerin <i>in vitro</i> 'da IAA üretim miktarları.....	26
4.3. HCN üretimi testinin bazı strainlerdeki görüntüsü.	27
4.4. S5/4ep nolu izolatın PVK ortamında oluşturduğu erime bölgeleri.....	28
4.5. CAS agarda antagonist bakterilerin siderofor üretiminden kaynaklanan zonlar.....	29
4.6. TR 21/1 nolu izolatın tohum çimlendirme testi sonucu.....	31
4.7. <i>In vitro</i> testler sonucunda bakterilerin <i>Cmm</i> 'e karşı oluşturdukları engelleme zonları.....	33
4.8. TR 21/1 no.lu antagonistin <i>Cmm</i> ' e olan <i>in vitro</i> etkisi.....	33
4.9. TR 17/1 no.lu izolatın <i>in vitro</i> 'da <i>FORL</i> 'a karşı etkililik testi sonucu.	35
4.10. Antagonist adayı bakterilerin <i>FORL</i> 'a karşı <i>in vitro</i> etkililik testi sonuçları.....	35
4.11. Antagonist adayı bakterilerin a)36 °C ve b) 24°C 'de CAS Agarda siderofor üretimi görüntüsü.....	42
4.12. Kökbakterilerinin farklı sıcaklık derecelerinde <i>FORL</i> 'a etkisi.....	45
4.13. Levan oluşumu testinde oluşan kalın, mukoid koloniler (TR 17/1).	47
4.14. Bakteri kültürü inokule edilen bölgedeki yumuşama.	48
4.15. Arginine Dehidrolase Testi sonucu tüplerde görülen renk değişimleri. (a) pozitif, (b) negatif.....	48
4.16. Tütünde aşırı duyarlılık testinde bakteri enjekte edilen yerdeki nekrotik görünüm.....	49
4.17. Jelatin Sıvılaşması testi sonucu tüplerde meydana gelen a)pozitif (14/1y) ve b)negatif (TR 2/1) görünüm.	49
4.18. Anaerobik gelişme testinde normalde mavi olan rengin sarıya dönüşmesi.	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. 1995-2009 yılları itibari ile Türkiye örtüaltı domates üretim Miktarı.....	2
3.1. Denemelerde kullanılan besiyerleri ve bileşimleri	15
3.2. Çalışmada kullanılan kökbakterileri	17
3.3. Anaerobik gelişme için kullanılan besiyeri	22
3.4. Jelatin hidrolizi testinde kullanılan besiyeri	23
3.5. Thornley 2A Besi yeri	24
4.1. <i>In vitro</i> koşullarda 24 °C ‘de kökbakterileri ile yapılan IAA testi sonuçları..	25
4.2. 24 °C ‘de kökbakterilerinin HCN üretimi sonuçları	27
4.3. Fosfat çözünürlüğü testinde oluşan erime bölgeleri (mm) ve skala değerleri verileri	28
4.4. Kökbakterilerinin 24°C’de CAS Agarda siderofor üretme aktivitesi sonuçları.....	29
4.5. Kökbakterilerinin 7 gün sonunda 24°C’de <i>in vitro</i> ’da domates tohumlarının çimlenmesine etkisi.....	30
4.6. Antagonist adayı bakterilerin <i>Cmm</i> ‘e karşı <i>in vitro</i> antibiyozis testi sonuçları.....	32
4.7. Antagonist adayı bakterilerin <i>FORL</i> ‘a karşı <i>in vitro</i> etkililik testi sonuçları.....	34
4.8. Kökbakterilerinin farklı sıcaklık derecelerinde gelişim sonuçları.....	36
4.9. Farklı sıcaklık derecelerinde antagonist bakterilerin <i>in vitro</i> ’da IAA üretim miktarları (µg/ml).....	37
4.10. Farklı sıcaklık derecelerinde kökbakterilerinin HCN üretimi sonuçları	38
4.11. Fosfat çözünürlüğü testinde oluşan erime bölgeleri (mm) ve skala değerleri verileri	40
4.12. Kökbakterilerinin farklı sıcaklıklarda <i>in vitro</i> siderofor üretme aktivitesinin belirlenmesi.....	41
4.13. Kökbakterilerinin farklı sıcaklık derecelerinde <i>FORL</i> ’un gelişimine olan etkisi (izolat: 27.2)	43
4.14. Çalışma kapsamında kullanılan 10 antagonist bakteriye uygulanan tanılama testleri sonuçları	46

1. GİRİŞ

Solanaceae (Patlıcangiller) familyasından olan domates (*Lycopersicum esculentum* Mill.), ülkemiz ekonomisinde çok önemli yeri olan tek yıllık bir bitkidir. Domates, yetiştiriciliği yapılan bölgelerde çiftçimizin önemli gelir kaynaklarından birisini oluşturmaktadır. Özellikle Marmara, Ege ve Akdeniz bölgelerinde büyük boyutlarda domates yetiştirilmektedir (Vural ve ark, 2000).

İklim değişikliklerine karşı dayanıklı olması yanında kolay yetiştiriciliğiyle de birçok üretici tarafından tercih edilen domates, toplam ekiliş alanı, üretimi ve ticareti açısından da Türkiye’de yaz sebze grubunun en önemli ürünlerinden birisini oluşturmaktadır. Domatesin dünya’daki üretim miktarı 5.227.883 ha alanda 129.649.883 tondur. Türkiye üretim miktarı bakımından 10.985.400 ton ile Çin ve Amerika’dan sonra 3. sırada yer almakla birlikte, yetiştirme alanı bakımından 300.000 ha alanla diğer domates üreticiliği yapan ülkeler arasında 4. sıradadır. Nitekim 2010 yılı itibariyle dünya taze domates üretiminin %7,7’si Türkiye tarafından gerçekleştirilmiştir (FAO, 2010).

Türkiye 2007 yılında 10.000.000 tona yakın domates üreterek Avrupa domates üreticisi ülkeler içinde birinci sıraya yerleşmiştir. Türkiye'nin arkasında kalan İtalya ise 6-7 milyon ton domates üretmektedir. Bu iki ülkeyi sırayla İspanya, Yunanistan, Portekiz, Fransa, Hollanda, Romanya, Polonya ve Belçika takip ederken İspanya ve Yunanistan dışındaki ülkeler domates üretiminde 1 milyon tona bile ulaşamamışlardır. Bütün bunlara rağmen Türkiye domatesinin çok az bir kısmını ihraç edebilmektedir. 700.000 ton domates üreten Hollanda bile Türkiye'den daha fazla domates ihracatı yapmaktadır. Türkiye’nin 2007 yılındaki ihracatı 372.094 tondur (FAO, 2009).

Ülkemizdeki toplam 1.048.803 ha sebze alanının %24,8’i domates üretimi için kullanılmaktadır (TÜİK,2006). Bu miktar açıkta ve örtüaltında yapılan yetiştiricilik alanlarını kapsamaktadır. Bu yetiştiricilik şekilleri bölgelere göre farklılık göstermektedir. Marmara ve Ege Bölgeleri sanayiye yönelik üretim yaparken, Akdeniz Bölgesinde taze tüketime yönelik örtüaltı yetiştiriciliği yoğunlaşmıştır. Örtüaltı domates yetiştiriciliğinde 2.067.738 ton ile domates ilk

sırada yer alırken bunu sırasıyla hıyar, karpuz, biber ve patlıcan takip etmektedir (Özalp ve Aktaş, 2008).

2001 yılı verilerine göre 143.543 da alanda örtüaltı domates yetiştiriciliği yapılmış ve 1.417.667 ton'luk bir verim elde edilmiştir (Keskin ve ark., 2003) (Çizelge 1.1). Domates, ülkemizin hemen her bölgesinde yetişen, son yıllarda da üretimi özellikle sera şartlarında kesintisiz yaz-kış devam eden bir sebzedir. Ülkemizde, 10.985.355 ton üretim miktarı ile kültürü en fazla yapılan sebze durumundadır (Anonim 2008).

Çizelge 1.1. 1995-2009 yılları itibari ile Türkiye örtüaltı domates üretim miktarı (Ton) (TUİK, 2009)

Yıllar	Üretim Miktarı (Ton)	Yıllar	Üretim Miktarı (Ton)
1995	873878	2003	1940494
1996	944777	2004	1960185
1997	1011361	2005	2023888
1998	1213715	2006	2067738
1999	1273623	2007	2451062
2000	1375103	2008	2382731
2001	1417667	2009	2657461
2002	1632175		

Türkiye’de üretilen domatesin büyük bir çoğunluğu dış piyasaya gönderilmektedir. Ürünlerin dış piyasaya gönderiliyor olması kaliteyi ön plana çıkarmaktadır. Ülkemizde domates yetiştiriciliği açık alanlarda veya örtüaltında, topraklı veya topraksız kültürde olmak üzere farklı şekillerde yapılmaktadır. Son yıllarda örtüaltı sebze yetiştiriciliği tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hızla artmakta ve gelişmektedir. Bunun en önemli sebepleri; ürünlerin tüm yıl boyunca ticaretinin yapılabilmesi, marjinal alanların tarım alanı olarak değerlendirilebilmesi, kaliteli ürünlere duyulan talebin artması, ekonomik olarak etkin kaynak (arazi, su, işçilik vb.) kullanımı ve depolama olanakları olduğu belirtilmektedir (Gül ve ark., 2003).

En yoğun tarımsal faaliyet alanı olan seracılıkta birim alandan alınan verimi arttırmak amacı ile yoğun bir şekilde kullanılan sentetik kimyasal ilaçlar, gübreler ve bitki büyüme maddelerinin insan ve çevre sağlığını tehdit ettiğinin farkına varılması ile birlikte, günümüzde diğer tarımsal faaliyetlerde olduğu gibi,

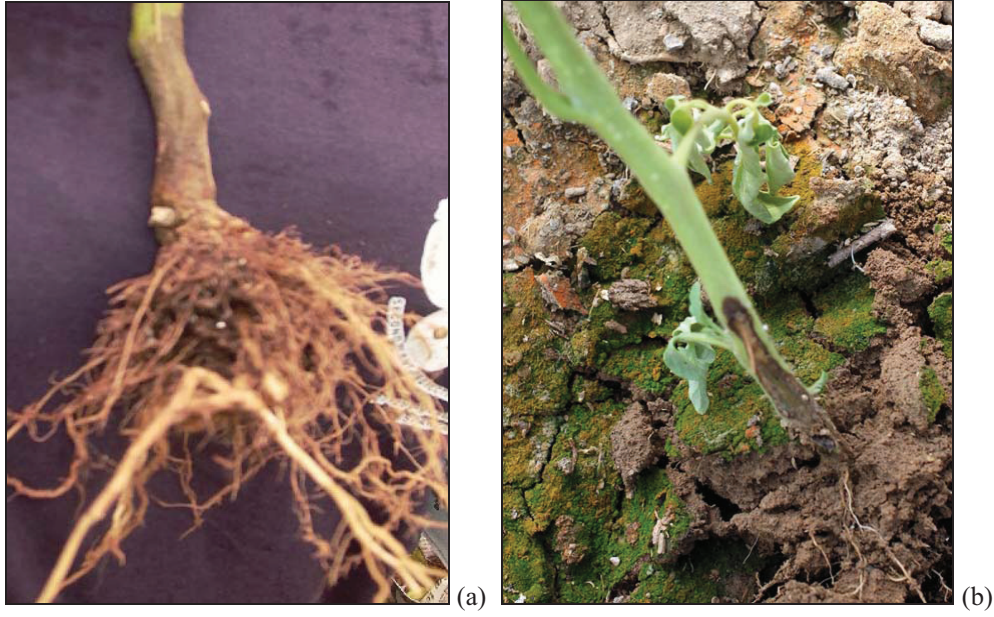
seracılıkta da sürdürülebilirliğin sağlanması öncelikli hedef haline gelmiştir (Tüzel ve ark., 2005).

Seracılıktaki yeni gelişmeler bu sektörde sürdürülebilirliği sağlamaya yönelik gayretler ile bağlantılı olarak ortaya çıkmıştır. Seraların yapısal özelliklerinin iyileştirilmesi, iklimlendirme ve alternatif enerji kaynaklarından faydalanma, kontrollü koşullarda fide üretimi, topraksız tarım, entegre hastalık ve zararlı yönetimi, toprak fumigasyonu, solarizasyon ve solarizasyonla birlikte çevre dostu preparatlar kullanmak sürdürülebilirliği sağlamak için faydalı olabilmektedir.

Stres faktörleri, bitkileri yaşamlarının herhangi bir döneminde ortaya çıkarak etkileyen çevresel etmenlerdir. Doğada çok çeşitli biyotik ve abiyotik çevre etmenleri bitkilerde strese neden olmaktadır. Biyotik ve abiyotik stres etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimler de stres olarak tanımlanmaktadır. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, üründe nitelik ve nicelik kaybına, bitkinin veya organlarının ölümüne yol açabilmektedir. Stres faktörleri biyotik ve abiyotik olarak gruplanmaktadır.

Abiyotik ve biyotik stres faktörleri domates üretimini önemli derecede etkilemektedir. Ülkemiz seralarında domates yetiştiriciliğinde, en önemli abiyotik stres faktörü sıcaklıktır. Toprak kaynaklı fungal ve bakteriyel patojenlerin yol açtığı hastalıklar ise biyotik faktörlerin başında gelmektedir. Fungal patojen olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL)'den kaynaklanan kök ve kökboğazı çürüklüğü, domates seralarında yeni fakat yıkıcı etkisi olan önemli bir sorun haline gelmiştir. Bu hastalığa yakalanan bitkilerin, gövde kısmında ve köklerinde çürümeler meydana geldiği belirtilmektedir (Jones et al., 1991; Agrios, 2005) (Şekil 1.1a ve Şekil 1.1b).

Domatesin ülkemizde ve tüm dünyada yaygın ve önemli fungal hastalığı olan *Fusarium* kök ve kökboğazı çürüklüğü (Jarvis and Shoemaker, 1978), ilk kez 1969 yılında Japonya' da serada yetiştirilen domateslerde görülmüş olup (Sato and Araki, 1974), Türkiye 'de patojene ilk kez 1998 yılında Adana' da bir domates serasında rastlanmıştır (Can ve ark., 2004).



Şekil 1.1. *FORL*'un domates bitkisinin
a) kök bölgesinde ve b) kök boğazında meydana getirdiği zarar.

Domateste Bakteriyel Kanser ve Solgunluk hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) (*Cmm*), dünyada ve ülkemizde domates yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından ve en büyük ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel patojenlerden birisidir (Gleason *et al*, 1993; Özaktan, 1991; Akat ve Özaktan, 2008) (Şekil 1.2). Bu hastalıklara karşı dayanıklı çeşit ve anaç sayısının azlığı, ayrıca klasik pestisit uygulamaları ile bu hastalıkların kontrol altına alınamaması, alternatif uygulamaların önemini arttırmaktadır.



Şekil 1.2. Domates bitkisinde *Cmm*'in iletim demetlerinde meydana getirdiği kahverengileşme.

Topraklarda bakteri, mantar, aktinomiset, protozoa ve alg olmak üzere birçok mikroorganizma grubu bulunmaktadır. Bitki gelişimini teşvik eden, bitki kökleri ile faydalı etkileşim içinde bulunan ve biyolojik savaş ajanı olarak kullanılan mikroorganizmalara bitki gelişimini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) adı verilmektedir. Bitki Gelişimini Artıran Kök Bakterilerinin bitki gelişimi ve verimi üzerine olumlu etkilerinin olduğu, biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı bitkilerde dayanıklılığı arttırdığı ve patojenlere karşı biyolojik mücadelede kullanılabilecekleri bilinmektedir (Reddy et al., 2000; Kloepper et al., 2004a). PGPR'lar ile ilgili çalışmalara 1978 yılında başlanmıştır. Ülkemizde ise PGPR çalışmaları son yıllarda başlamış olup sayıca çok azdır ve özellikle iki üniversitede (Atatürk Üniversitesi ve Ege Üniversitesi) yoğunlaşmıştır.

Yıllardan beri üzerinde çalışılan bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), bitkilerde hastalık oluşturan pek çok bakteriyel, fungal ve viral etmene karşı bitkide bulunan doğal dayanıklılığı teşvik ederek koruma sağladığı bir yandan da bitki büyümesini artırıcı özelliklerinden dolayı tercih edildiği bilinmektedir (Backman et al., 1997; Weller, 1988; Wei et al., 1996).

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

Bu tez projesinin amacı, domates bitkilerinden izole edilen kökbakterilerinin yanı sıra bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, çeşitli konukçu X patojen sisteminde biyolojik savaş açısından etkililiği kanıtlanmış antagonist bakterilerin bitki gelişimini artırıcı özellikleri ve *Cmm* ve *FORL*'a karşı biyolojik savaş potansiyelleri üzerine farklı sıcaklık rejimlerinin (16°C, 24°C ve 36°C) *in vitro* koşullarda etkisinin testlenmesidir. Böylece, optimal sıcaklık koşullarında PGPR ve biyolojik savaş potansiyeli saptanan kökbakterilerinin, düşük ve yüksek sıcaklık stresi karşısında gelişme, PGPR ve biyolojik savaş potansiyellerindeki değişimlerin *in vitro* koşullarda araştırılmasıdır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu tezin konusunu oluşturan Domates Bakteriyel Solgunluk etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) ve domates yetiştiriciliğinde önemli sorun olan toprak kaynaklı fungal etmenlerin başında gelen *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) ‘un domates yetiştiriciliği açısından önemi, domates yetiştiriciliğinde en önemli abiotik stres faktörü olan sıcaklık ve bitki gelişiminde önemli yer tutan Bitki Gelişimini Artıran Kök Bakterileri (Plant Growth Promoting Rhizobacteria –PGPR) konuları ayrı başlıklar halinde literatür özetleri verilmiştir.

2.1. Sıcaklık Stresinin Örtüaltı Domates Yetiştiriciliğine Etkisi

Domates, Ekvatordan Alaska’ya kadar geniş bir iklim aralığında yetiştirilebilmektedir. Bu durum farklı çevre koşullarına adapte olabilen çeşitlerin geliştirilmesiyle mümkün olmuştur. Çok değişik çevre koşulları ve kullanımlara adaptasyon gösteren çeşitlerin geliştirilmesi, *Lycopersicon* cinsinde mevcut büyük genetik varyabilite zenginliğinin bir yansıması olduğu bildirilmektedir (Tigchelaar, 1986). Ülkemizde olduğu gibi dünyanın değişik bölgelerinde bitkisel üretimi en çok sınırlayan çevresel stres etmenlerinden biri ekstrem sıcaklıklardır. Bu problemin en çok etkilediği bitkilerden biri domatestir. Domatesin özellikle ekstrem sıcaklıklar, tuzluluk, kuraklık çevre kirliliği gibi bir çok çevresel stres koşullarına hassas olduğu bilinen bir gerçektir. Genellikle sıcaklıklar 35°C’yi aşınca tohumun çimlenmesi, fide gelişimi, meyve tutumu ve olgunlaşması olumsuz yönde etkilendiği belirtilmektedir (Kaloo, 1988).

Kaloo, (1991)’ya göre domatesin yüksek sıcaklıklara en hassas olduğu dönemin meyve tutumu safhası olduğu bildirilmektedir. Yüksek sıcaklıklarda meyve tutumundaki azalmanın başlıca sebepleri arasında stigma uzaması (Charles and Harris, 1972; Rick and Dempsey, 1969; Rudich et al., 1977) , düşük polen canlılığı (Charles and Harris, 1972; Dempsey,1970; El Ahmadi and Stevens, 1979), polen tüpü gelişiminin yavaş olması (Weaver and Timm, 1989), anter konisinin açılması (Levy et al., 1978) sayılabilir.

Sıcaklık, ülkemiz seralarında domates yetiştiriciliğinde en önemli abiyotik stres faktörüdür. Seralarda, topraksız yetiştiricilikte de bitkilerin stres koşullarına dayanımını arttırmak için faydalı mikroorganizmaların kullanılmaları araştırılmaktadır (Koohakan and ark., 2004; Van Os and Alsanius, 2004; Woitke and Schnitzler, 2005; Deniel and ark., 2006).

Düşük sıcaklık stresi, domateste çoğunlukla 15 °C altında ortaya çıkmakta ve bitkilerde stresin şiddetine bağlı olarak ciddi boyutlarda büyüme bozukluklarına ve verim azalmasına neden olmaktadır. Özellikle sera koşullarında yetiştirilen domateslerde, düşük sıcaklık stresinden kaynaklanan ciddi boyutlarda verim düşüklüğü ortaya çıkmaktadır. Bu problemler çimlenme aşamasından meyve oluşumu ve meyve kalitesine kadar olan büyüme ve gelişme süreçleri içinde ortaya çıkabilmektedir. Düşük sıcaklık stresine karşı dayanıklılıkta domates genotipleri arasında önemli bir varyasyonun olduğu da bilinmektedir (Walker and McKersie, 1993; Venema and ark., 2000; Koroleva and ark., 2000). Sera koşullarında optimum verim için, üretim döneminde harcanan giderlerin birçoğunu ısıtma giderleri oluşturmaktadır. Özellikle don tehlikesinin olduğu bazı günlerde üreticilerin tamamına yakını, ilkel ısıtma yöntemlerini kullandıkları için ısıtma giderleri yükselmektedir.

Domates ılık ve sıcak iklimlerden hoşlanır. Güneşli sıcak iklimlerde domates meyveleri şekerce zengin, renkleri koyu ve olgun olur. Domates yaz mevsimi serin ve çok bulutlu geçen yerlerde tam olgunlaşamaz. Bitkiler (-2)-(-3)°C sıcaklıkta ölebilirler. Bundan dolayı ilkbaharda don tarihleri geçmeden fideler dışarıya çıkartılmamalıdır. Fidelerin yetiştirildiği dönemde en uygun sıcaklıklar gündüz 18-22°C, gece 13-14°C'dir. Kök gelişimi için ise toprak sıcaklığının 12-15°C'nin üzerinde olması gerektiği bildirilmektedir (Abak ve ark., 2000). Bu dönemde gece sıcaklığının düşük olması erkencilik açısından sakıncalıdır. Domates en iyi gelişimini 15-28°C arasındaki sıcaklıklarda gösterir. 30°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda da bitki gelişmesi devam eder fakat dölleme olmaz, çiçekleri dökülür, çekirdeksiz küçük meyveler meydana gelir. Gece-gündüz sıcaklıkları arasındaki fark hem meyve bağlamayı olumlu yönde etkiler hem de olgunlaşan meyvede renk maddeleri oluşumunu sağlar. Domatesin büyüme döneminde yüksek nem olumlu etki yaparken, meyve olgunlaşması döneminde ise hastalık ve zararlıların artmasına yol açmaktadır.

2.2. *FORL* ‘un Örtüaltı Domates Yetiştiriciliği Açısından Önemi

Ülkemiz seralarında domates yetiştiriciliğinde, en önemli abiotik stres faktörü sıcaklıktır. Toprak kaynaklı fungal patojenlerin yol açtığı hastalıklar ise biyotik faktörlerin başında gelmektedir. Fungal patojen olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (*FORL*)’den kaynaklanan kök ve kökboğazı çürüklüğü, domates seralarında son yıllarda önemli bir sorun haline gelmiştir.

Domates bitkisinde ekonomik anlamda verim kayıpları; çökerten, fide yanıklığı, kök ve kök boğazı çürüklüğü, kök kahverengileşmesi ve solgunluk gibi problemler toprak kökenli patojenlerden kaynaklanan hastalıklardan dolayı meydana geldiği belirtilmektedir (Yücel, 1989; Akköprü ve ark., 2005).

Hastalık etmeni *FORL*, toprakta ve genellikle bitki artıkları içinde klamidospore formunda yaşar. Sağlıklı bitkilere bulaşma, hastalıklı bitkilerin üzerinde oluşan mikrokonidiumlar veya topraktaki klamidosporlardan olur. Yağmur damlaları, sulama suyu, rüzgar ve hava hareketlerinin etmenin taşınmasında etkili olduğu bildirilmektedir (Jones et al., 1991; Agrios, 2005). *FORL*, domates fidelerinde belirtisiz olarak veya çok hafif belirtilerle ve ayrıca fide yetiştirme ortamları ile de taşınabildiği belirtilmektedir (Brammall and McKeown, 1989; Hartman and Fletcher, 1991).

Fusarium kök ve kökboğazı çürüklüğüne yakalanan domates bitkileri, gövdelerinin alt kısmının ve köklerinin çürümesi nedeniyle solar ve ölürler. Meyve tutumu döneminde yaşlı yaprakların kenarlarının sararması ile ortaya çıkan ilk belirtileri, bu yaprakların solması ve kuruması takip etmektedir. Bu aşamadan sonra belirtiler, daha genç yapraklara doğru ilerler ve bütün kök sistemi hastalıktan etkilenmektedir. Gövde üzerinde, toprak seviyesinde veya altında kenarları genellikle pembe veya kırmızı renkte nekrotik lezyonlar oluşur. Nemli havalarda (sisli, yağmurlu vb.) bitki üzerindeki etmenin sporlarında artış meydana gelir ve lezyonlar dışarıdan içeriye doğru gelişir. Bazı bitkilerde sapın içinde, topraktan yukarıya kadar uzanabilen bir renk değişikliğine de rastlanmaktadır. Hastalanan domates bitkilerinde bazen kısa boy ve hızlı solma gibi belirtiler oluşmasına rağmen bazılarında solgunluk yavaş gelişir ve bitkilerin hasat

dönemine kadar canlılığını sürdürdüğü belirtilmektedir (Jones et al., 1991; Agrios, 2005).

Hem tarla hem de sera domates yetiştiriciliğinde kayıplara yol açabilen *Fusarium* kök ve kökboğazı çürüklüğü (Jarvis and Shoemaker, 1978), ilk kez 1969 yılında Japonya’ da serada yetiştirilen domateslerde görülmüştür (Sato and Araki, 1974). Bu belirtilere neden olan patojen o günlerde, domateslerde *Fusarium* solgunluğunun etmeni *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*’nin yeni bir ırkı olarak tanımlanmıştır. Ancak daha sonra Jarvis ve Shoemaker (1978) bu fungusu, *F. o. f. sp. lycopersici*’ den farklılıklarını ortaya koyarak yeni bir ‘forma specialis’ olarak önermişler ve *F. o. f. sp. radialis-lycopersici* olarak da adlandırmışlardır. *Fusarium* kök ve kökboğazı çürüklüğünün İngiltere’ de %20-60, Japonya’ da %30-40 ürün kayıplarının olduğu, Tunus’ta ise kayıpların %90’a ulaştığı bildirilmektedir (Hibar et al., 2006; Omar et al., 2006; Horinouchi et al., 2007).

Hastalık, Türkiye de ilk kez 1998 yılında Adana’ da bir domates serasında görülmüş, 1999-2001 yılları arasında da Tuzla (Adana) ve Erdemli (İçel)’de domates seralarında da bulunduğu saptanmıştır (Can ve ark., 2004).

Bu hastalıklara karşı dayanıklı çeşit ve anaç sayısının azlığı, ayrıca klasik pestisit uygulamaları ile bu hastalıkların kontrol altına alınamaması, bu hastalığa karşı alternatif uygulamaların önemini arttırmaktadır. Bu sebeplerden dolayı bu hastalığa karşı biyolojik savaş, alternatif bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır. *Trichoderma harzianum*, *Fusarium equiseti*, patojen olmayan *Fusarium* sp., *Bacillus subtilis*; *B. megaterium*, *Burkholderia cepacia*; *Pseudomonas chlororaphis* ve *P. fluorescens*’ in domateste *Fusarium* kök ve kökboğazı çürüklüğünü baskılamakta etkili antagonistler olduğu bildirilmektedir. (Marois et al., 1981; Sivan et al., 1987; Hibar et al., 2005; Horinouchi et al., 2007; Louter and Edgington, 1990; Komado, 1994; Bolwerk and Lugtenberg, 2006; Phae et al., 1992; Omar et al., 2006; Duffy and Defago 1997; Chin-A-Woeng et al., 1998; Dekkers et al., 2000).

Fusarium oxysporum f. sp. *radialis-lycopersici*’nin kontrolünde *Pseudomonas fluorescens* WCS365 ile *T. harzianum* T22’nin birlikte kullanılmasının hastalığı engellemede etkiyi arttırabileceği bildirilmektedir (Bolwerk, 2005). Hastalığı kontrol etmek için test edilen bio-fungisitlerin

(*Trichoderma harzianum* strain T22, *Pythium oligandrum*, *Bacillus subtilis* strain QST 713, *Bacillus pumilus* strain QST 2808) patojenin bulaşmasından önce uygulanmaları durumunda etkili oldukları belirtilmektedir (Hibar et al., 2006).

2.3. *Cmm*'nin Örtüaltı Domates Yetiştiriciliği Açısından Önemi

Ülkemizde domates yetiştiriciliğinin yapıldığı her bölgede görülebilen Domates Bakteriyel Kanser ve Solgunluğu (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ilk kez Bremer et al (1952) tarafından Ankara ilinde tespit edilmiştir. Sonraki yıllarda (Karahan, 1965), İç ve Güney Anadolu' da (Karaca ve Saygılı ,1977), Marmara ve Ege Bölgesi'nde (Ulukuş, 1982), Elazığ, Diyarbakır ve Mardin' de (Çınar, 1980), Çukurova Bölgesi'nde, (Öktem, 1984), Ankara ve Eskişehir' de (Kahveci ve Gürcan, 1993) bulunduğu bildirilmektedir.

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

Cmm, domates bitkisinin yokluğunda toprakta 2 yıla kadar, bitki artıklarında 3 yıla kadar, odunlaşmış domates gövdesinde ise 10 aya kadar canlı kalabilmektedir. Etmen, doğal açıklıklardan giriş yapabileceği gibi yaralar yoluyla

da bitkileri enfekte eder. Etmenin bitkiyi hastalandırabilmesi için nemin, önemli bir ölçüt olduğu belirtilmektedir (Fatmi and Schaad, 1988).

İlk tespitinden bugüne kadar önemini kaybetmeyen bu patojeni önlemek için yapılan uygulama ya da mücadele yöntemleri arasında kültürel önlemler, sıcak su uygulamaları, toprak uygulamaları ve dayanıklı çeşit, bakırlı preparatlarla ilaçlama ve tohum uygulamaları sayılabilir. Hastalığa karşı alınabilecek mücadele önlemleri, Domates Bakteriyel Solgunluk Hastalığının primer inokulum kaynağının tohum kabuğu veya embriyoda bulunan bakteri olması nedeniyle tohumdaki patojeni elimine etmeye yönelik olmalıdır (Özaktan ve Bora, 1991). Ancak uygulanabilirliği kabul edilmiş olan tohum uygulamaları da *Cmm*'e karşı her zaman etkili olmayabileceği bildirilmektedir (Thyr et al, 1973; Shoemaker and Echandi, 1976).

Son yıllarda *Cmm*' e karşı biyolojik savaşın alternatif bir mücadele yöntemi olabileceği belirtilmektedir. Domateste Bakteriyel Kanser ve Solgunluk hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) (*Cmm*), dünyada ve ülkemizde domates yetiştiriciliğinin en önemli sorunlarından ve en büyük ekonomik kayıplara neden olan bakteriyel patojenlerden birisidir (Gleason et al., 1993; Strider, 1967). İnfekteli tohum, bakterinin birincil bulaşma kaynağıdır. Hastalık bitki içerisinde iletim demetleri boyunca sistemik olarak yayılır. Solgunluk ve kanser lezyonları çiçeklenme döneminde belirgin olmaya başlar. Ancak, bu aşamadan sonra hastalığı önlemek olanaklı değildir. *Cmm*'e karşı tolerant ya da dayanıklı domates çeşidi arayışları da sonuçsuz olduğu bildirilmektedir (Gleason et al., 1993).

Cmm 'in bir diğer inokulum kaynağının toprak olduğu ve bu etmenin toprakta belirli koşullarda canlılığını sürdürebildiği belirtilmektedir (Bryan, 1930; Grogan and Kendrick,1953) . *Cmm* 'in diğer bir bulaşma kaynağının ise; budama, koltuk alma gibi kültürel işlemlerin (Ark, 1944; Farley, 1973) yanı sıra yağmur, su ve pestisit damlacıklarının olduğu bildirilmektedir (Strider, 1969(a); Sasaki and Umekawa, 1986; Sasaki, 1987).

2.4. PGPR' ların Biyokontrole ve Bitki Gelişimine Etkisi

Bakterilerin bitki gelişimi ve verimini artırabileceği çok uzun bir süredir bilinmektedir. Bu organizmalar arasında en çok bilinenleri, tarımda muhtemel ve pratik kullanımı olan *Rhizobium* cinsleri olduğu belirtilmektedir. *Rhizobium* gibi simbiosis etkisi olmayan diğer bakteri türlerinin çoğunun bitki gelişimini artırdığı pek bilinmemekteydi. 1970'lerin ortasında; bazı bakterilerin, özellikle *Pseudomonas*'ların toprak kaynaklı patojenleri kontrol altına alabileceğinin ve dolaylı olarak bitki gelişimini artırabileceğinin keşfedilmesi, bitki metabolizması ve sonuçta gelişimini direkt olarak etkileyen *Azospirillum* türlerinin yeniden farkına varılması ile gerçekleşmiştir. Bitki Gelişimini Uyarıcı Kökbakterileri (Plant Growth Promoting Rhizobacteria –PGPR-) terimi ilk kez Kloepper ve Schroth (1978) ve Kloepper et al., (1980) tarafından kullanılmıştır.

Bitkide gelişmeyi uyarıcı kökbakterileri genelde *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Paenibacillus*, *Pantoea* gibi genuslarda yer almaktadırlar. *Pseudomonas* ve *Bacillus* genuslarında çalışmalar yoğunlaşmakla beraber (Compant et al., 2005), ticari preparatlar *Bacillus* genusunda daha fazla olduğu bildirilmektedir (Kloepper et al., 2004b).

Biyolojik mücadele kapsamında kullanılan bu bakteriler arasında en çok çalışılan kısmı kök yüzeyine kolonize olan ve kök çevresindeki toprakla yakın ilişkide bulunan rizobakteriler oluşturmaktadır ve bunlar Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler (PGPR) olarak isimlendirilmektedir. Bir kısım PGPR ise bitkilerin yaprak yüzeyinden ya da erkek organ çevresinden elde edilebilirler. Bu bakteriler bitkinin farklı kısımlarından elde edilseler de bitki büyümesini sağlamak, bitkiyi strese korumak ve patojenleri kontrol altında tutmak için aynı mekanizmaları kullandıkları belirtilmektedir. Bunlar; yaşam alanı ve besin için rekabet, gelişim engelleyici kimyasalların üretimi ve bitkide teşvik edilmiş dayanıklılığın harekete geçirilmesini kapsamaktadır (Compant et al., 2005).

PGPR'lerin bitkilerdeki etki mekanizmaları doğrudan ve dolaylı olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. PGPR grubu bakteriler bitki gelişimini teşvik edici hormonların sentezlenmesi, biyolojik azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğünün artırılması ve siderofor üretimi gibi farklı mekanizmalarla bitki gelişimini teşvik

ederek dolaylı olarak hastalık gelişimini azalttığı gibi (Vessey, 2003); antibiyosis, yer veya besin için rekabet ve sistemik dayanıklılığın uyarılması gibi mekanizmalarla ise doğrudan patojen gelişimini engelleyerek veya hastalık şiddetini önemli ölçüde azaltarak etkili oldukları belirtilmektedir (Bora ve Özaktan, 1998).

PGPR'ların bitkide büyümeyi artırırken ya da patojen gelişimini engelleyici rol oynarken kullandıkları mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Fakat genel olarak; indol asetik asit, giberallik asit, sitokinin ve etilen gibi bitkisel hormonların üretimi veya bunların konsantrasyonlarının değiştirilmesi; topraktaki serbest azotun bağlanması; siderefor, β -1,3-glukanaz, kitinaz, antibiyotik ve siyanit üretimi ile patojenlerin gelişiminin engellenmesi; toprakta alınamayacak formdaki fosfor ve diğer besin elementlerinin alımının sağlanması ve besin rekabeti yoluyla olduğu düşünülmektedir (Cattelan et al., 1999).

Bitki gelişimini uyaran kökbakterileri fungal, bakteriyel ve viral patojenlere karşı biyolojik savaş ajanı olarak pek çok bitki türünde kullanıldıkları bilinmektedir (Van Loon et al., 1998). Rekabet, antibiosis ve dayanıklılığın teşvik edilmesi gibi farklı mekanizmalar yoluyla biyolojik kontrol gerçekleşmektedir (Kloepper and Schroth, 1981a; Wei et al., 1991; Van Loon et al., 1998). Bazı PGPR'lar zararlı mikroorganizmalar için Fe'i demiri azaltan siderofor üretmekte ve sonuçta bu zararlı mikroorganizmaların patojenisitesini azaltmaktadırlar. Ayrıca, antibiyotikler ve HCN gibi patojenlere zararlı maddeler üreterek toprakta zararlı mikroorganizmaları baskı altına aldıkları bildirilmektedir. (Thomashow and Weller, 1988 ve 1995; Schippers, 1992; Maurhofer et al., 1994).

Bitki gelişiminde fosfor önemli bir elementtir. Fosfor çözücü bakterinin (*Bacillus megaterium*) domates bitkisinin verimi ve fosfor alımı üzerine etkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada, fosfor çözücü bakterinin bitkide verim ile fosfor, demir, çinko ve bakır alımını arttırdığı bildirilmektedir (Turan ve ark., 2004).

Kökbakterilerinin bitkilerde gelişmeyi uyarılabilmesi için köklere kolonize olmasının şart olduğu belirtilmektedir (Kloepper and Beauchamp, 1992). *Bacillus subtilis* izolatları, rizobakter metabolitlerinin domates fidelerinin biyotik ve

abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılık/toleransını teşvik ettiği bildirilmektedir (Bochow and Dolej, 1999).

Bu bakterilerin özellikle toprak kaynaklı patojenlere karşı biyolojik savaşta çoğu kez etkili oldukları bilinmektedir (Kloepper, 1993; Lemanceau et al., 2000; Parmar and Dadarwal, 2000). Toprak kökenli patojenlerin biyolojik kontrolünde cyanogenic *P. fluorescens* ırklarının kullanılabileceği bildirilmektedir (Piotrowska and Kozdroj, 1999; Clemente et al., 2000).

Bütün bitkiler patojen saldırılarına karşı doğal bir savunma mekanizmasına sahiptirler. Patojen saldırısından önce bitki çeşitli şekillerde uyarılarak savunma mekanizmasını başlatır ve böylece hastalık oluşumu azaltılabilir ya da engellenebilir. Özellikle floresan *Pseudomonas*'lar toprak kökenli hastalıkların engellenmesinde en etkili rizosfer bakterileri olarak karşımıza çıkmaktadırlar. PGPR'lar sistemik dayanıklılığı teşvik edebilme yeteneğine de sahiptirler. Bunun içinde antibiyotik üreterek bitkileri patojen saldırılarına karşı koruma ya da siderefor özellikleri ile patojen mikroorganizmaların topraktaki demiri kullanmalarını engelleme gibi çeşitli mekanizmaları kullanabildikleri belirtilmektedir (Van Loon et al., 1998). Azot ve fosfor, bitki için gerekli en önemli besin elementleri arasında yer almaktadır. Fakat bitkiler her zaman, toprakta serbest halde bulunan azotu ve fosforu kullanamazlar. Toprakta serbest halde bulunan azotu ve alınamayan formdaki fosforu bitkilerin alabileceği forma dönüştürmek PGPR'ların etki mekanizmaları arasında yer aldığı bildirilmektedir (Çakmakçı, 2005).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Çalışmada Kullanılan Test Patojeni Bakteri ve Fungus

Çalışmada bakteriyel patojen olarak bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, seralardan izole edilmiş, kesin tanısı yapılmış virulensi yüksek bir *Cmm* straini kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan fungal test patojeni fungus ise Dr. Lalehan YOLAGELDİ'nin kültür stoklarından sağlanan virulensi yüksek bir 27.2 nolu, Fethiye'de domates serasından izole edilen bir *FORL* strainidir.

3.2. Çalışmada Kullanılan Besi Yerleri

Bakteriyel antagonistlerin ve patojen bakterinin izolasyonunda ve inokulum üretiminde King B besiyerinden; bu izolatların stokta, buzdolabında +4°C 'de saklanması ise NGA (Nutrient Glyserol Agar) besiyerinden yararlanılmıştır. Fungusun inokulumunun çoğaltılmasında ve korunmasında ise PDA (Patates Dextrose Agar) ortamından yararlanılmıştır. Bakteriler IAA testi için % 0.5 L-Tryptophan içeren Nutrient Broth (NB) ve Fosfataz testi için Pikovskaya ortamından modifiye edilmiş olan NBRIP (National Botanical Research Institute' phosphate growth medium) Besi Yeri ve Bakteriyel sideroforların saptanmasında ise CAS Agar besiyeri kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Denemelerde kullanılan besiyerleri ve bileşimleri (1lt suya göre)

Besiyeri adı	Kullanım amacı	İçeriği
King B (King et al., 1954)	İzolasyon, floresan pigment oluşumu	20g pepton 1.5g MgSO ₄ .7H ₂ O 1.5 g K ₂ HPO ₄ 10g gliserol 16g agar
NGA (Lelliott and Stead, 1987)	Bakteriyel kültürlerin stok olarak saklanması	8g nutrient broth 20g gliserol 16g agar
NB	Bakteriyel inokulumun sıvı kültür olarak üretilmesinde	8g nutrient broth

Çizelge 3.1. (devam). Denemelerde kullanılan besiyerleri ve bileşimleri (1lt suya göre)

Besiyeri adı	Kullanım amacı	İçeriği
CAS Agar (Schwynn and Neilands, 1987)	Bakteriyel sideroforların saptanmasında	60,5mg CAS 10ml (1mM FeCl ₃ .6H ₂ O+10mM HCL) 72,9mg HDTMA 30,32g Pipes (Freeacid) 12g NaOH(%50w/v) 3g KH ₂ PO ₄ 5gNaCl 10g NH ₄ Cl 20mM MgSO ₄ 1mM CaCl ₂ 15g Agar
NBRIP agar	Kökbakterilerinin fosfataz enzimi aktivitelerinin saptanmasında	20g Glukoz 5g Ca ₃ (PO ₄) ₂ 0.5g (NH ₄) ₂ SO ₄ 0,2g KCl 0,25g MgSO ₄ 0,5g Yeast extract 20g. Agar
NB L	Kökbakterilerinin Indol-3-asetik asit üretme aktivitesinin saptanması için	8g nutrient broth 250mL-Tryptophan (%5)
NBYA (Vidaver, 1967)	Kökbakterilerinin Cmm'e karşı biyokontrol etkilerinin saptanmasında	8.0g Nutrient Broth 2.0g Yeast extract 2.0g K ₂ HPO ₄ 0.5g KH ₂ PO ₄ 2.5g Glucose 15.0g Agar
SNA (Lelliot and Stead, 1987)	Kökbakterilerinin Levan oluşumunun saptanmasında	13gNutrient Agar 50.0g Sukroz

3.3. Çalışmada Kullanılan Kökbakterileri

Daha önce yürütülen bir araştırma projesinde sağlıklı domates bitkilerinin köklerinden izole edilen ve Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan 50'nin üzerinde kökbakterisi arasından 10 adeti bu tez çalışmasında kullanılmak üzere seçilmiştir. Bu kök bakterilerine ilişkin bilgiler Çizelge 3.2'de görülmektedir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan kökbakterileri

İzolat no	Tür
TR 2/1	FP
TR 6/1	FP
TR 17/1	FP
TR 18/1	FP
TR 21/1	FP
TR 23/1	FP
TR 39/2	FP
70	FP
S5/4ep	FP
14/ 1y	FP

*FP: Floresan Pseudomonas

3.4. *In vitro* Koşullarda Kökbakterilerinin PGPR Aktivitesinin Saptanması

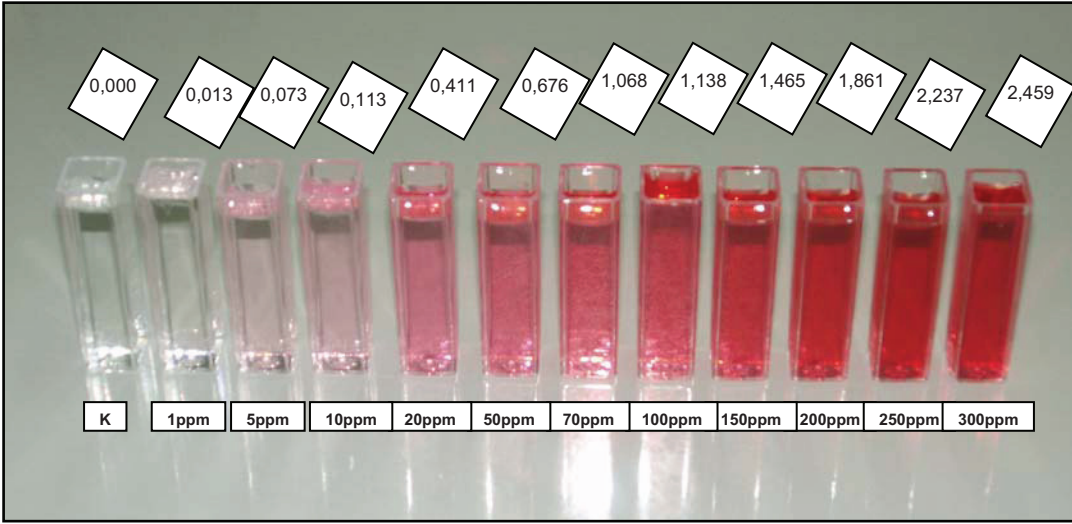
PGPR'ların gelişme ve verim artırıcı etkileri birtakım salgıları üretme yetenekleriyle ilişkili olduğu için öncelikle bu tez çalışmasında kullanılan kök bakterilerinin seçilmesinde aşağıdaki parametrelere bakılmıştır. Aşağıdaki parametreler 24⁰C 'de araştırılmıştır.

3.4.1. Indol Asetik Asit (IAA) aktivitesi

Kökbakterileri tarafından IAA üretimi L-TRP (tryptophane)'nın varlığında kolorimetrik olarak belirlenmiştir (Asghar et al., 2002). Bu amaçla 250ml'lik erlenlere 20ml NB besiyeri konarak otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra bu besiyerlerine 5ml bakteri filtresinden (0,2µm) geçirilen L-TRP (%0,5) ilave edilmiştir. L-TRP eklenen sıvı besiyerlerine kökbakterileri 100µl (10⁸cfu/ml) inokule edilerek 24°C'de 120rpm'de inkübasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 24 saat sonra süspansiyon santrifüj tüplerine aktararak

6000rpm'de 10dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdaki süpernatant alınarak whatman (No:2) filtre kağıdından geçirilmiştir.

Filtrasyon işleminden sonra, filtrat ependorf tüplere konarak 10000rpm 'de 5 dk. santrifüj edilmiştir. İşlem sonrası süpernatanttan 3ml alınarak steril tüp içerisine aktarılmış üzerine 2ml Salkowski ayracı (2ml 0,5M FeCl_3 +98ml + %35 HClO_4) eklenerek renk oluşumu için 30dk bekletilmiştir. Süre sonunda, örnekler spektrofotometrede 535nm'de okunarak absorbans (Abs) değerleri belirlenmiştir. Elde edilen Abs değerlerini rakamsal verilere dönüştürebilmek için farklı ppm dozlarında IAA süspansiyonu hazırlanarak bir IAA standart eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Farklı IAA dozlarında 535nm'de okunan Absorbans değerleri.

3.4.2. HCN üretiminin saptanması

Triptic Soya Agar (TSA) içeren petrilere 4.4 g/l glycine içeren solüsyon eklenmiş (%10 oranında) ve bakteriler inokule edilmiştir. Petriler 28°C 'de 3 gün inkubasyona bırakılmıştır. Bakteri kolonileri öze ile alınarak tekrar aynı içerikteki besiyerine aktarılmış ve %0.5 picric asit - %2 sodyum karbonat solüsyonu bir parça filtre kağıdına emdirilerek petri kapağının iç yüzeyine yerleştirildikten sonra petriler ters çevrilmiştir. Petriler 24°C 'de 3–5 gün süreyle inkubasyona bırakılmıştır. Filtre kağıdındaki sarıdan- kahverengi turuncuya doğru renk değişikliği cyanide üretiminin göstergesi olarak kabul edilmiştir (Bakker and Schippers,1987).

3.4.3. Fosfataz (P) aktivitesi

In vitro'da kökbakterilerinin fosfatı çözme aktivitesini testlemek için modifiye edilmiş Pikovskaya (PVK) ortamı (Pikovskaya,1948) içeren petri kaplarına kökbakterileri 3 noktaya ekim şeklinde inokule edilmiş $24\pm2^{\circ}\text{C}$ 'de 14 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda kolonilerin çevresinde fosfat aktivitesine bağlı olarak oluşan erime zonları ölçülerek *0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Nautiyal, 1999; Schwynn and Neilands, 1987).

*0-4 Skalası

0: erime bölgesi yok

1: <1.0 mm

2: 1.1-4.0 mm

3: 4.1-8.0 mm

4: >8.0 mm

3.4.4. Siderofor üretme aktivitesi

Hem PGPR hem de biyokontrol aktivitesi için önemli bir belirleyici olan siderofor üretimi CAS Agarda araştırılmıştır (Schwyn and Neilands, 1987). CAS agar yönteminde, KB ortamında yetiştirilen (24-48 saat) antagonist bakterileri CAS agar içerikli petrilere nokta ekimi ile inokule edilmiş ve bu petrilere $24\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübasyona bırakılarak antagonist bakteriler tarafından siderofor üretimine bağlı olarak oluşan sarı zonlar *0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir.

* 0-4 Skalası (CAS Agarda mm olarak sarı zon oluşumu)

0: renk değişikliği yok

1: <1.0 mm

2: 1.1-4.0 mm

3: 4.1-8.0 mm

4: >8.0 mm

3.4.5. Kökbakterilerinin *in vitro*'da tohum çimlenmesine etkisi

İçinde %1'lik su-agar besiyeri bulunan petrilere, PGPR adayı bakterilerle (%1.5 CMC-Carboxy Methyl Cellulose-) ile süspanse edilmiş bakteri süspanسیونu) kaplanmış domates tohumları (Kardelen F1) ekilmiştir. Her izolat 3 petride yinelenmiştir. Kontrol (-) tohumları ise sadece CMC (Carboxy Methyl Cellulose) çözeltisi ile kaplanmıştır. 24°C'de 7 günlük inkubasyondan sonra radisil ve hipokotil uzunluğu ölçülerek vigorite indeksi saptanmıştır (Gerhardson et al., 1985).

3.5. *In vitro* Koşullarda Kökbakterilerinin *FORL*'a ve *Cmm*'e Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi

In vitro koşullarda bakteriyel antagonistle optimal sıcaklık derecelerinde (24°C) patojen *FORL* ve *Cmm* ile karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma denemesi *FORL* için PDA içeren 90 mm'lik petri kaplarında karşılıklı ekim yapılarak gerçekleştirilmiştir. Patojenin miselyal gelişimindeki engellenme %'si, petri kaplarına tek başına ekilmiş (Kontrol) *FORL*'un gelişme çapı ile karşılaştırılarak bulunmuştur. Çalışmada yer alan diğer bir test patojeni olan *Cmm*'e karşı biyokontrol etkisi testlenen kökbakterileri nokta ekim ile Nutrient Broth Yeast Extract Agar (NBYA) besiyerine birbirine eşit uzaklıkta 4 noktaya ekilmiş , 48 saat süreyle inkubasyona bırakıldıktan sonra bu petrilere, 10^8 cfu/ml konsantrasyonunda patojen *Cmm* süspanسیونu (600 nm'de OD: 0.45) pülverize edilerek inkubasyona bırakılmıştır (Jetiyanon and Kloepper, 2002; Boudyach et al., 2001). Kökbakterilerinin çevresinde oluşan engelleme zonları mm olarak ölçülmüştür. Böylece bakteriyel antagonistlerin optimal sıcaklık düzeylerinde bakteriyel ve fungal patojene karşı biyokontrol aktiviteleri değerlendirilmiştir.

3.6. PGPR ve Biyokontrol Özelliği Saptanan Kökbakterilerinin Değişik Sıcaklık Rejimlerinde Gelişiminin İzlenmesi

In vitro PGPR aktivitesi testlerinden başarıyla çıkarak bitki gelişimini uyarma ve biyolojik savaş potansiyeli bulunan kökbakterilerinin yüksek ve düşük sıcaklık stresi altında gelişme durumları inkubatörde izlenmiştir. Bakteriler King B besiyeri içeren petri kaplarına çizgi ekimle ekilmiştir. Farklı sıcaklık

derecelerinde (16, 36°C) inkubasyona bırakılan kökbakterilerinin gelişme durumu 7 gün süreyle izlenmiş ve büyüme/gelişme kinetiği 24 °C'deki gelişme durumu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu deneme her bir petri kabı bir tekerrür olmak üzere 3 tekerrürlü olarak düzenlenmiştir.

3.7. Sıcaklık Stresine Dayanan Kökbakterilerinin Değişik Sıcaklık Rejimlerinde *in vitro* PGPR ve Biyokontrol Özelliklerinin Testlenmesi

In vitro koşullarda PGPR ve biyokontrol aktivitesi saptanan ve düşük/yüksek sıcaklık stresinde başarıyla gelişebilen kökbakterilerinin ekstrem sıcaklık koşullarında (16 ve 36°C) bu özelliklerinde bir sapma olup olmadığı 3.4 ve 3.5. bölümünde belirtildiği şekilde yeniden testlenmiştir.

3.8. Testlenen Kökbakterilerinin Tanısı

Araştırmada izole edilen kök bakterilerinin Gram Reaksiyonu (King et al., 1954), Oksidaz Testi (Kovacs, 1956), Patatesin Pektolize Olması (Dickey and Kelman, 1988), Arginine Dihydrolase Testi (Thornley, 1960), Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi, Anaerobik gelişme (Hugh and Leifson, 1953) ve Jelatinin Hidrolizi (Sıvılaşması) ve Levan Oluşumu gibi temel testler dikkate alınmıştır.

3.8.1. KOH ile Gram reaksiyonun belirlenmesi

Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit (KOH) solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra izolatların 48 saatlik kültüründen özeyle alınan bakteri, solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında viskoz, yapışkanimsi bir sünmenin oluşması gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990).

3.8.2. Oksidaz testi

% 1 oranında glukoz içeren nutrient agar besiyerinde gelişen 24-48 saatlik kolonilerden, öze ile bir miktar alınır ve filtre kağıdı üzerine damlatılan %1 ' lik Tetra methyl-p-phenylendiamine dihydrochloride (Sigma) 'e iyice sürülür. Bu işlemin çok kısa bir sürede yapılması gereklidir. Bu işlemin sonucunda bakteri

solüsyon karışımı 10 saniye sonra maviye dönüşürse pozitif; 60 saniye sonra maviye dönüşmezse negatif olarak değerlendirilmiştir (Kovaks, 1956).

3.8.3. Anaerobik gelişme

Tartılan maddeler saf suda çözünüp, PH değeri 7.1 'e ayarlanmıştır (Çizelge 3.4). 13 cm 'lik tüplere 4,5 ml basal yeri konulmuş ve otoklavda 121°C 'de 20 dakika sterilize edilmiştir. Ayrıca, %10 ' luk glukoz solüsyonu hazırlanıp filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir. Bu solüsyondan, steril bir ortamda, basal yeri üzerine 0.5 ml eklenmiştir. Her izolat için 2 tüp aşılannmıştır ve üzeri 5 mm kalınlığında steril parafinle kaplanmıştır. Normalde mavi olan renk, eğer anaerobik gelişme olursa, yani pozitif ise, sarı renge dönüşmüştür (Hugh and Leifson, 1953).

Çizelge 3.3. Anaerobik gelişme için kullanılan besiyeri

	Litrede
Peptone	2.0 g
NaCl	1.0 g
KH ₂ PO ₄	0.3 g
Agar	3.0 g
Bromthymol blue (%1 'lik solüsyon)	3.0 ml

3.8.4. Levan oluşumu

Nutrient Agar ortamına %5 oranında Sakkaroz eklenerek hazırlanan Sakkaroz nutrient agar (SNA) besiyerine çizgi ekim yapıldıktan sonra 25°C 'de 3-4 gün inkübe edilmiştir. Kalın, beyaz, konveks, mukoid koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot and Stead, 1987).

3.8.5. Patatesin pektolize olması

Patateslerin yüzeysel sterilizasyonu için önce, deterjanlı suda fırçalanarak yıkanmış ve daha sonra %1'lik NaOCI'da 3 dakika bekletilmiştir. NaOCI'yi uzaklaştırmak için 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Bu işlemten sonra steril bir bisturi ile kabukları soyulmuştur. Steril ıslak filtre kağıdı içeren steril petri içine kabuğu soyulmuş bir cm kalınlığındaki patates dilimleri yerleştirilmiştir. Bir öze dolusu kültürü patates dilimi üzerine bulaştırılmıştır. 25°C 'de iki günlük inkübasyondan sonra değerlendirme yapılmıştır. İnokule edilen bölgedeki

yumuşama pozitif olarak kabul edilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (GSPB 1405) kullanılmıştır (Lelliot and Stead, 1987).

3.8.6. Tütünde aşırı duyarlılık testi

Tütün (*Nicotiana tabacum* cv Samsun N) bitkisi yaprağının alt yüzeyine damar aralarına kullanılan izolatların 10^8 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyonu bir enjektör yardımı ile infiltre edilmiştir. 24-48 saat sonra inokule edilen alanlarda oluşan nekrotik görünüm pozitif olarak kabul edilmiştir (Klement and Goodman, 1967).

3.8.7. Jelatinin hidrolizi (sıvılaşması)

Bu testte aşağıdaki besiyeri kullanılmaktadır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Jelatin hidrolizi testinde kullanılan besiyeri

	Litrede
Peptone	5 g
Beef extract	3 g
Gelatin	120 g

Karışım tartıldıktan sonra, jelatinin erimesi için 50°C 'de su banyosuna konur ve sonra bu çözelti 5 veya 10 ml olarak tüplere konur, 121°C 'de otoklavda 15 dakika sterilize edilir. Tüplere, bakteri çubuk iğne ile aşılır ve 20°C 'de 7- 14 gün bekletilir. Kontrolde önce 30 dakika kadar +4°C 'de buzdolabında bekletilir.

Tüplerdeki jelatin akıcı halde ise pozitif,

Tüplerdeki jelatin katı halde ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.8.8. Arginine Dihydrolase Testi

Bu testte Thornley 2A Besi yeri kullanılmıştır (Çizelge 3.5) (Thornley, 1960).

Çizelge 3.5. Thornley 2A Besiyeri

	Litrede
Peptone (Difco)	1 g
NaCl	5 g
K ₂ HPO ₄	0.3 g
Agar	3 g
Phenol red	0.01 g
L+HCl Arginine	10 g
Damıtık su	1000 ml

Verilen miktarlar tartılıp, agar dışında erlende eritilir ve PH değeri 7.2 ‘ ye ayarlanır. Sonra agar üzerine dökülerek eritilir ve tüplere 3 ml konur, tüpler otoklavda sterilize edilir. Sonra tüpler öze ile bakteri kültürü ile aşılır ve tüplerin üzerine 2 ml steril parafin konur ve 7-15 gün süreyle 27°C ’de inkubatöre konur.

Kontrol; pembe-kırmızı olursa pozitif, normal renk olan ten rengi (açık pembe) olarak kalırsa negatif olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. *In vitro* Koşullarda Kökbakterilerinin Optimal Koşullarda PGPR Aktivitesinin Saptanması Sonuçları

In vitro bulgular başlığı altında, 50 ‘nin üzerinde bakteri arasından seçilen 10 antagonist bakteri ile yapılmış olan IAA testi, HCN Üretimi, Fosfataz Aktivitesi, CAS Agarda Siderofor Üretme Aktivitesi ve Tohum Çimlendirme testi sonuçları verilmiştir.

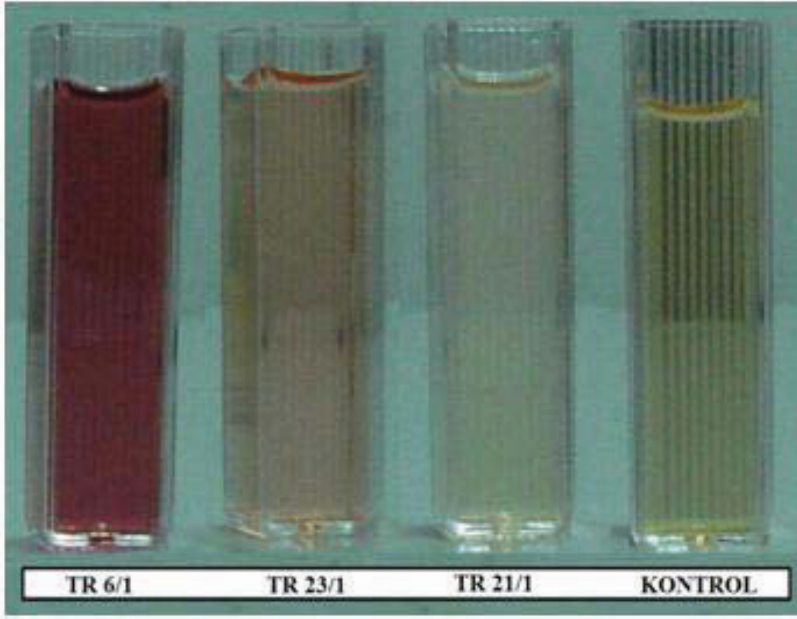
4.1.1. IAA testi sonuçları

Çalışmalar sonunda PGPR adayı olan 10 bakteri ile yapılan IAA testine ait veriler Çizelge 4.1’ de verilmektedir.

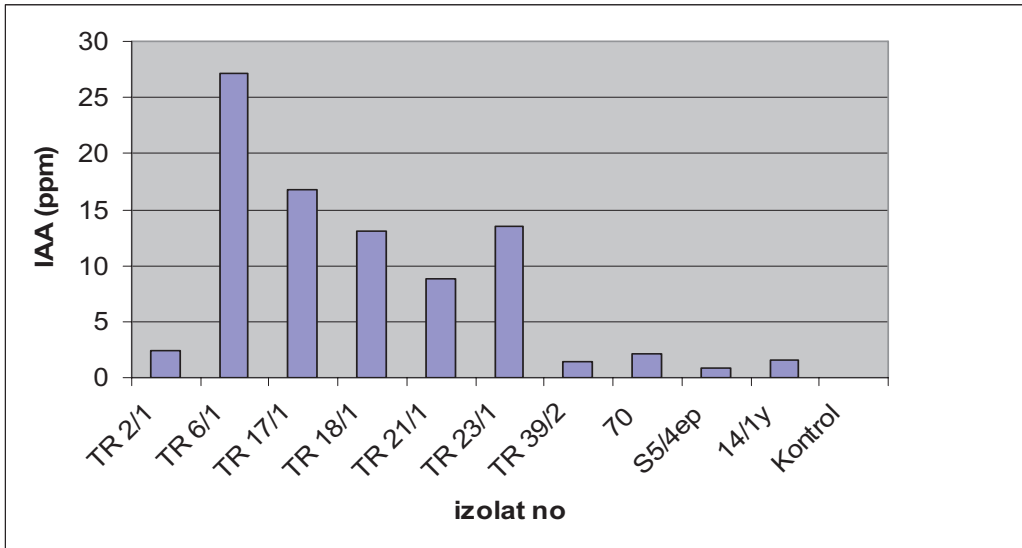
Çizelge 4.1. *In vitro* koşullarda 24 °C ‘de kökbakterileri ile yapılan IAA testi sonuçları (µg/ml)

İzolat no	IAA miktarı (µg/ml)
TR 2/1	2,47
TR 6/1	27,13
TR 17/1	16,81
TR 18/1	13,1
TR 21/1	8,85
TR 23/1	13,45
TR 39/2	1,46
70	2,15
S5/4ep	0,85
14/1y	1,54
Kontrol	0

IAA testleri sonucunda izolatlar 0.85-27.13 µg/ml arasında değişen oranlarda IAA üretmişler ve en yüksek IAA üretimi TR 6/1 nolu antagonist bakteri izolatında saptanmış, bunu TR 17/1 ve TR 23/1 izolatları izlemiştir (Şekil 4.1). S5/4ep nolu izolat ise en düşük IAA üreten antagonist olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Bazı bakteri strainlerinde IAA testi sonuçlarının görüntüsü.



Şekil 4.2. Antagonist bakterilerin *in vitro*'da IAA üretim miktarları.

4.1.2. HCN üretimi sonuçları

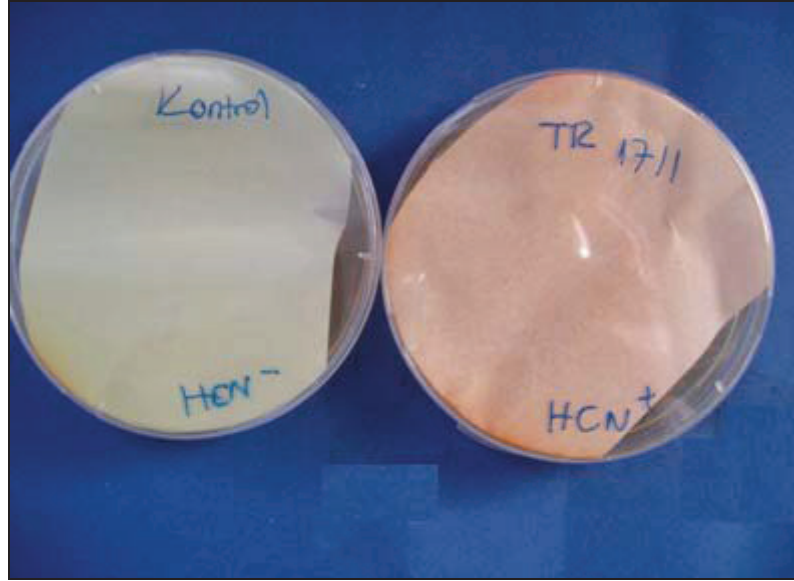
Optimal koşullarda PGPR adayı olan 10 bakteri ile yapılan HCN üretimi sonuçları Çizelge 4.2 'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. 24 °C 'de kökbakterilerinin HCN üretimi sonuçları

İzolat no	24 °C
TR 2/1	-
TR 6/1	-
TR 17/1	+
TR 18/1	-
TR 21/1	-
TR 23/1	-
TR 39/2	-
70	-
S5/4ep	-
14/1y	+
Kontrol	-

+: Güçlü HCN üretimi, -: HCN üretimi yok

Bakterilerin optimum gelişme sıcaklığı olan 24 °C sonuçları incelendiğinde, TR 17/1 ve 14/1y numaralı bakterilerin HCN ürettiği, diğer kökbakterilerinin HCN üretmediği görülmektedir (Şekil 4.3). 24 °C 'de çalışmada kullanılan kök bakterilerinden iki bakteri (TR 17/1 ve 14/1y) HCN üretmiştir.



Şekil 4.3. HCN üretimi testinin bazı strainlerdeki görüntüsü.

4.1.3. Fosfataz aktivitesi testi sonuçları

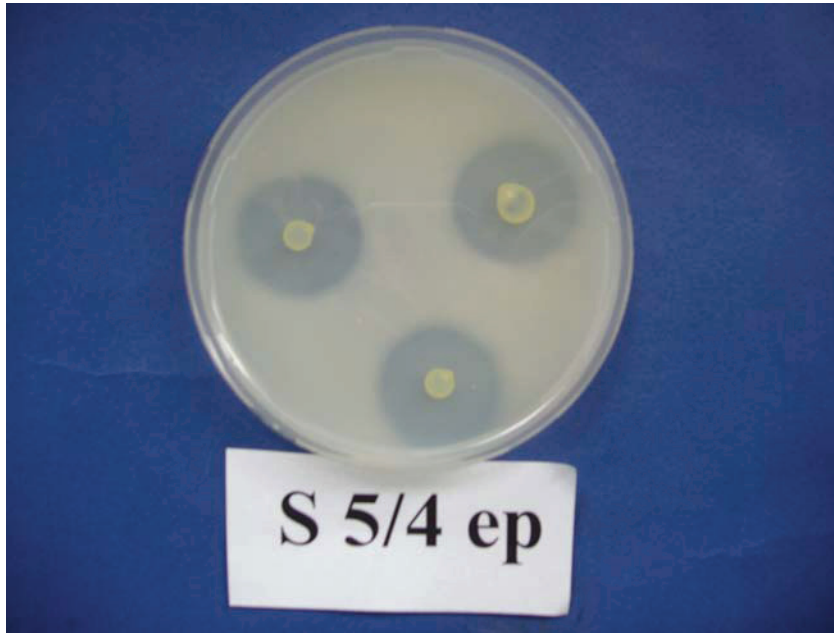
Antagonist bakterilerin optimal koşullarda fosfataz enzimi üretimleri PVK ortamına nokta ekimi yapılan bakteri izolatlarının etrafında oluşan zonların ölçülmesi ile yapılmıştır. Elde edilen veriler 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Fosfat çözünürlüğü testinde oluşan erime bölgeleri (mm) ve skala değerleri verileri

İZOLAT NO	24 ⁰ C'de ortalama erime zonu (mm)*	Skala değerleri
TR 2/1	6,44	3
TR 6/1	2,00	2
TR 17/1	0,00	0
TR 18/1	2,33	2
TR 21/1	1,33	2
TR 23/1	1,67	2
TR 39/2	0,00	0
70	6,44	3
S5/4ep	10,22	4
14/1y	0,00	0

*Erime bölgeleri 3 yinelemenin ve her yinelemede 3 ayrı noktada yapılan ölçümlerin (mm) ortalamasıdır.

Fosfatı çözebilme testinde en yüksek erime bölgesi S5/4ep nolu antagonist bakteri izolatında saptanmış ve bunu sırası ile 70 ve TR 2/1 nolu izolatlar izlemiştir (Şekil 4.4). İzolatlar arasında TR 17/1, TR 39/2 ve 14/1y nolu izolatlarda ise erime bölgesi saptanmamıştır (Çizelge 4.3).



Şekil 4.4. S5/4ep nolu izolatın PVK ortamında oluşturduğu erime bölgeleri.

4.1.4. CAS agarda siderofor üretme aktivitesi testi sonuçları

Hem PGPR hem de biyokontrol aktivitesi için önemli bir belirleyici olan siderofor üretimi CAS Agar besiyeri kullanılarak belirlenmiş ve elde edilen

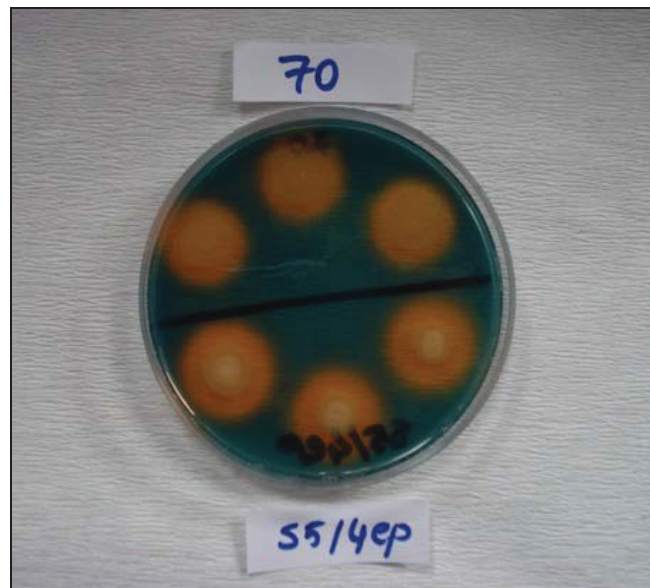
değerler Çizelge 4.4’de verilmiştir. Elde edilen veriler 0-4 skolasına göre değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.4. Kökbakterilerinin 24 °C ‘de CAS Agarda siderofor üretme aktivitesi sonuçları

İZOLAT NO	24 °C’de Ortalama zone genişliği (mm)*	Skala değerleri
TR 2/1	12.7	4
TR 6/1	8.2	4
TR 17/1	6.3	3
TR 18/1	5.7	3
TR 21/1	5.8	3
TR 23/1	5.3	3
TR 39/2	12	4
70	4.8	3
S5/4ep	6.7	3
14/1y	6.7	3

* Erime bölgeleri 3 yinelemenin ve her yinelemede 3 ayrı noktada yapılan ölçümlerin (mm) ortalamasıdır.

Bakterileri optimum gelişme sıcaklığında CAS Agar ‘a ektikten sonra 7 gün inkubasyona bırakılmıştır. Bunun sonucunda, 4. gün ve 7. gün ölçümleri yapılmıştır. CAS agarda, 10 antagonist bakteri izolatu da siderofor üretimine bağı olarak sarı renkli zon oluşturmıştır. 7. gün sonuçlarına göre en güçlü siderofor üreten izolat TR 2/1 ve TR 39/2 olarak belirlenmiş bunu sırası ile TR 6/1, S5/4ep, 14/1y, TR 17/1, TR 21/1, TR 18/1, TR 23/1 ve 70 numaralı izolatlar izlemiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. CAS agarda antagonist bakterilerin siderofor üretiminden kaynaklanan zonlar.

4.1.5. Tohum çimlendirme testi sonuçları

İçinde %1'lik su-agar besiyeri bulunan petrilere, PGPR adayı bakterilerle (%1.5 CMC-Carboxy Methyl Cellulose-) ile süspanse edilmiş bakteri süspansiyonu kaplanmış domates tohumları (Kardelen F1) ekilmiştir. Her izolat 3 petride yinelenmiştir. Kontrol (-) tohumları ise sadece CMC (Carboxy Methyl Cellulose) çözeltisi ile kaplanmıştır. 24°C'de 7 günlük inkubasyondan sonra radisil ve hipokotil uzunluğu ölçülmüştür. Çizelge 4.5 'de 10 izolatla yapılan tohum çimlendirme testine ait sonuçlar sunulmaktadır.

Çizelge 4.5. Kökbakterilerinin 7 gün sonunda 24°C'de *in vitro*'da domates tohumlarının çimlenmesine etkisi

İzolat no	Radisil (mm)	Hipokotil (mm)	Vigor (Canlılık) İndeksi
TR 2/1	58,133	78	13613
TR 6/1	54,2	70,333	11637
TR 17/1	44,467	61,933	10640
TR 18/1	43,967	76,6	10877
TR 21/1	58,033	72,5	13053
TR 23/1	52,967	63,333	11630
TR 39/2	40,133	70,6	10740
70	37,5	69,833	10733
S5/4ep	40,8	42	8280
14/1y	56,267	55,4	11167
Kontrol	45,633	61,967	10755

7 gün sonunda petrilere çimlenen bitkilerin radisil ve hipokotil uzunluğu ölçümleri yapıp vigor (canlılık) indeksi değerleri hesaplandıktan sonra kontrolle karşılaştırıldığında TR 2/1 ve TR 21/1 numaralı izolatların çimlenmeye etki yönünden ön plana çıktığı görülmektedir (Şekil 4.6). Bunları TR 6/1, TR 23/1, 14/1y, TR 18/1 numaralı izolatlar izlemiştir. TR 39/2, 70, TR 17/1 ve S5/4ep nolu izolatların canlılık (vigour) indeksi değerleri kontrolden düşüktür.



Şekil 4.6. TR 21/1 nolu izolatin tohum çimlendirme testi sonucu.

4.2. *In vitro* Koşullarda Kökbakterilerinin *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) 'a ve *Cmm* 'e Karşı Biyokontrol Etkilerinin Belirlenmesi Sonuçları

Çalışma kapsamında kullanılan 10 antagonist bakteri adayı 24⁰C'de *Cmm*'e ve *FORL* 'a karşı *in vitro* biyokontrol aktivitesi açısından testlenmiştir.

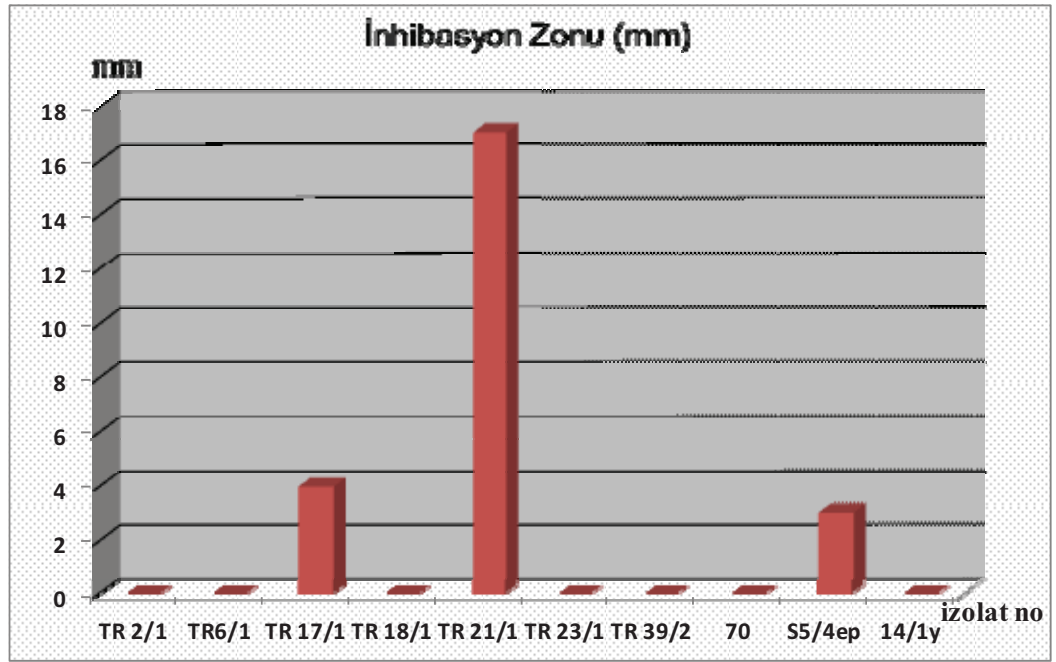
4.2.1. *In vitro* koşullarda kökbakterilerinin *Cmm*'e karşı biyokontrol etkilerinin belirlenmesi sonuçları

Domateste Bakteriyel Solgunluk etmeni *Cmm*'e karşı bakteriyel antagonistlerin *in vitro* etkileri aşağıdaki çizelgede görülmektedir (Çizelge 4.6). *In vitro* 'da gerçekleştirilen test sonucuna göre TR 21/1 nolu izolat 17 mm' lik engelleme zonu ile en başarılı antagonist bakteri olurken, bunu TR 17/1 ve S5/4ep izlemiştir (Şekil 4.8). Toplam 7 adet antagonist adayı bakteri ise *in vitro* 'da *Cmm* 'e karşı hiçbir etki gösterememiştir. Çizelge 4.6 'da en etkili izolatin TR21/1 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.6. Antagonist adayı bakterilerin *Cnm* 'e karşı *in vitro* antibiyozis testi sonuçları

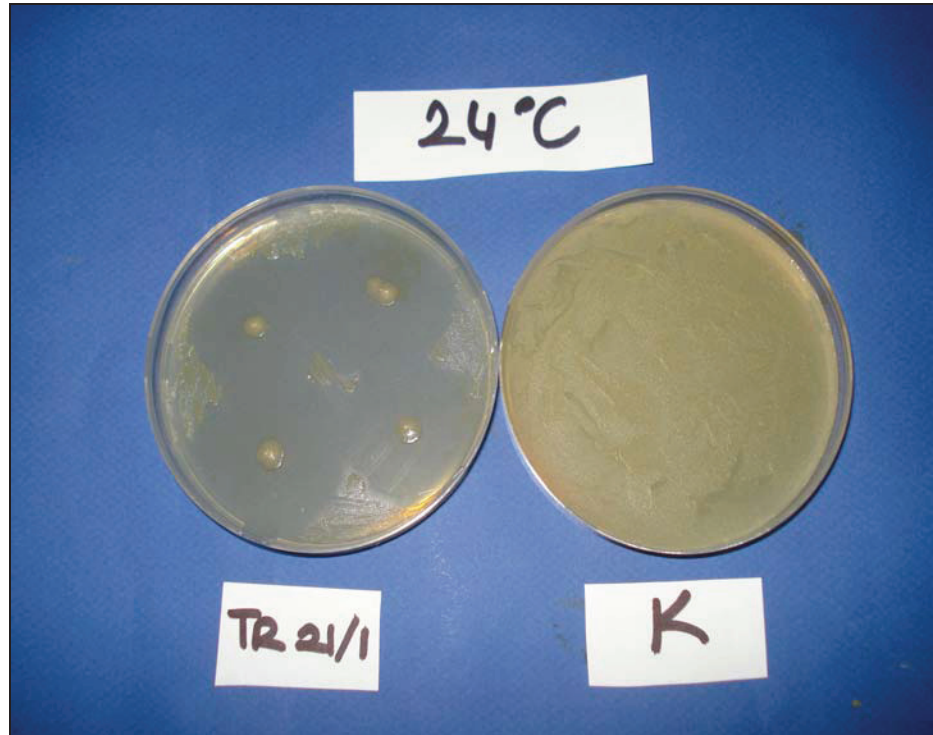
Tekerrürlerde saptanan ortalama engelleme zonu genişliği (mm)															
İzolat no	1. TEKERRÜR					2. TEKERRÜR					3. TEKERRÜR				
	1	2	3	4	ORT.	1	2	3	4	ORT	1	2	3	4	ORT
TR 2/1					0					0					0
TR 6/1					0					0					0
TR 17/1	5	5,5	3,5	4	4,5	5	3,5	3	4	3,875	3	3,5	3	2	2,875
TR 18/1					0					0					0
TR 21/1	17,5	17,5	17,5	17	17,38	17,5	17,5	17,5	18,5	17,75	16	16	15	17	16
TR 23/1					0					0					0
TR 39/2					0					0					0
70					0					0					0
S5/4ep	4	3,5	5	4	4,125	3,5	3	2,5	3,5	3,125	3,5	3	3	4	3,125
14/1y					0					0					0

GENEL ORT.
(mm)



Şekil 4.7. *In vitro* testler sonucunda bakterilerin *Cmm*'e karşı oluşturdukları engelleme zonları.

In vitro testler sonucu bakteriyel antagonistlerin *Cmm* 'e karşı *in vitro* etkililikleri Şekil 4.7'de görülmektedir. *In vitro* test sonuçlarına göre, 3 izolat ortalama 3-17 mm arasında değişen engelleme zonları oluşturarak *Cmm* 'in koloniyal gelişimini başarıyla engellemiştir.



Şekil 4.8. TR 21/1 no.lu antagonistin *Cmm* 'e olan *in vitro* etkisi.

4.2.2. *In vitro* koşullarda kökbakterilerinin *FORL* ' a karşı biyokontrol etkilerinin belirlenmesi sonuçları

In vitro koşullarda bakteriyel antagonistler optimal sıcaklık derecelerinde (24°C) patojen *FORL* 'a karşı *in vitro* biyokontrol aktivitesi testlenmiştir. Bu amaçla PDA 'da bakteri ve patojen ikili olarak ekilmiştir. Bu çalışmada kullanılan 10 kökbakterisi 24°C 'de 27.2 nolu patojen izolatıyla karşılaştırılmıştır (izelge 4.7).

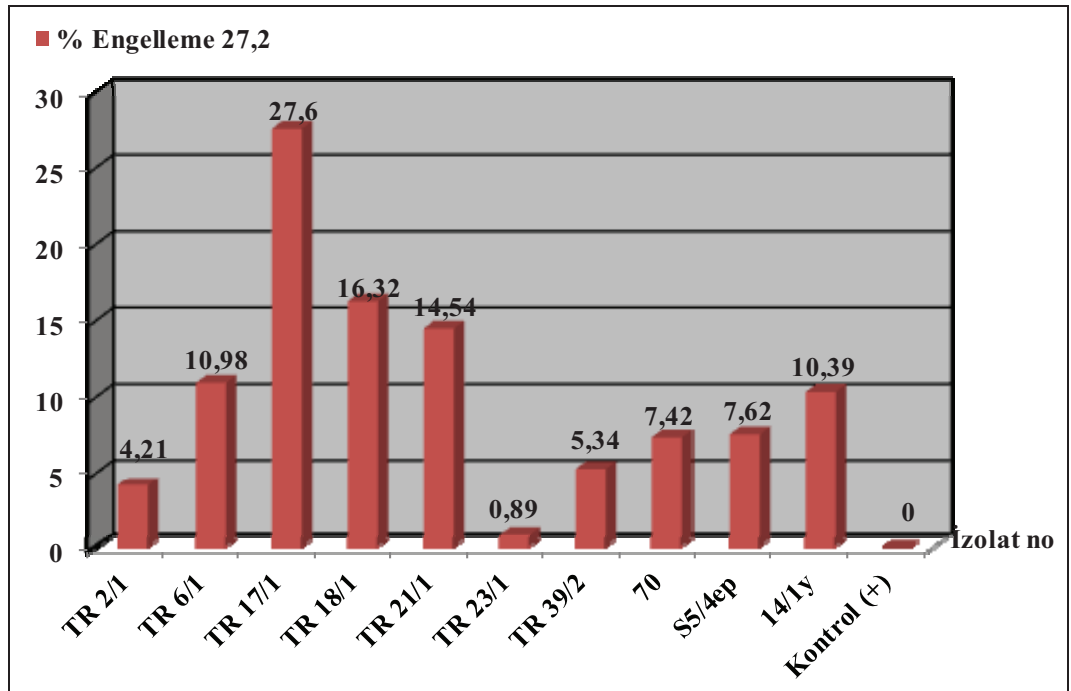
Çizelge 4.7. Antagonist adayı bakterilerin *FORL* 'a karşı *in vitro* etkililik testi sonuçları

İZOLAT	Ortalama <i>FORL</i> Koloni apı (mm) 27.2	% Engelleme 27.2
TR 2/1	53,80	4,21
TR 6/1	50,00	10,98
TR 17/1	40,67	27,60
TR 18/1	47,00	16,32
TR 21/1	48,00	14,54
TR 23/1	55,67	0,89
TR 39/2	53,17	5,34
70	52,00	7,42
S5/4ep	51,89	7,62
14/1y	50,33	10,39
Kontrol (+)	56,17	0,00

In vitro test sonuçlarına göre, 27.2 no. 'lu patojen *FORL* izolatının projede kullanılan kökbakterilerinin etkisiyle koloni çapındaki değişim izlendiğinde; TR 23/1, TR 2/1, TR39/2, 70, S5/4ep, 14/1y ve TR 6/1 no.'lu izolatlar patojenin miseliyal gelişimini engeleyemezken, TR 21/1, TR 18/1 ve TR 6/1 nolu izolatların *in vitro* koşullarda *FORL*'un koloni gelişimini engelleme potansiyelleri olduğu izlemektedir. En düşük *FORL* koloni çapını TR 17/1 nolu izolat oluşturmuştur (şekil 4.9).



Şekil 4.9. TR 17/1 no.lu izolatın *in vitro* 'da FORL 'a karşı etkililik testi sonucu.



Şekil 4.10. Antagonist adayı bakterilerin FORL 'a karşı *in vitro* etkililik testi sonuçları.

PGPR'lerin 27.2 izolatına karşı hastalığı engelleyici etkisinin %0.89 ile %27.60 arasında değişen oranlarda olduğu ve en yüksek etkiyi %27.60 ile TR 17/1 bakterisinin gerçekleştirdiği saptanmıştır. TR 18/1 ve TR21/1 bakterilerinin sırasıyla %16.32 ve %14.54 engelleyici etkisi olduğu saptanmıştır. En düşük

etkiyi ise %0.89 ile TR 23/1 nolu antagonist bakteri izolatı olduğu saptanmıştır (Şekil 4.10).

TR 17/1 nolu izolat hem *Cmm* hem de *FORL* 'a karşı engelleyici etkisi en yüksek olan antagonist bakteri izolatıdır. Fakat yapılan tanılama testleri sonucunda, TR 17/1 nolu izolatın bitki patojeni olduğu saptanmıştır. TR 18/1, TR 21/1 nolu kökbakterilerinin hem *Cmm* 'nin gelişimini başarıyla engellemesi hem de 27.2 nolu patojen izolatına karşı olan engelleyici etkisinden dolayı kökbakterileri arasında biyokontrol özelliği fazla olan izolatlardır. S5/4ep nolu antagonist bakteri izolatı *Cmm* 'nin gelişimini engellemesine rağmen *FORL* 'a karşı aynı başarıyı sağlayamamıştır.

4.3. Kökbakterilerinin Farklı Sıcaklık Derecelerinde Gelişimi Sonuçları

Farklı sıcaklık derecelerinde (16°C, 24°C ve 36°C) inkubasyona bırakılan kökbakterilerinin gelişme durumu 7 gün süreyle izlenmiş ve büyüme/gelişme kinetiği 24°C'deki gelişme durumu ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Kökbakterilerinin farklı sıcaklık derecelerinde gelişim sonuçları

İzolat no	SICAKLIĞA TOLERANS (°C)		
	16 ° C	24 ° C	36 ° C
TR 2/1	+++	+++	+++
TR 6/1	+++	+++	+++
TR 17/1	+++	+++	+++
TR 18/1	+++	+++	+++
TR 21/1	+++	+++	+++
TR 23/1	+++	+++	+++
TR 39/2	+++	+++	+++
70	+++	+++	+++
S5/4ep	+++	+++	+++
14/1y	+++	+++	+++

+++ : %100 gelişme

Çizelge 4.8 incelendiğinde, farklı sıcaklıklarda bütün petrilerde %100 gelişme olmuştur. Test edilen kökbakterilerinin gelişimi 16-36°C'lar arasında farklılık göstermemiştir.

4.4. Sıcaklık Stresine Dayanan Kökbakterilerinin Değişik Sıcaklık Rejimlerinde *in vitro* PGPR ve Biyokontrol Özelliklerinin Testlenmesi Sonuçları

4.4.1. Sıcaklık stresine dayanan kökbakterilerinin değişik sıcaklık rejimlerinde *in vitro* PGPR özelliklerinin testlenmesi sonuçları

Bu başlık altında, çalışmada kullanılan 10 adet bakteri ile 16°C ve 36°C 'de yapılmış olan IAA testi, HCN Üretimi, Fosfataz Aktivitesi ve CAS Agarda Siderofor Üretme Aktivitesi sonuçları verilmiştir

4.4.1.1. IAA testi sonuçları

Farklı sıcaklıklarda PGPR adayı olan 10 bakteri ile yapılan IAA testine ait veriler Çizelge 4.9 'de verilmektedir.

Çizelge 4.9. Farklı sıcaklık derecelerinde antagonist bakterilerin *in vitro*'da IAA üretim miktarları (µg/ml)

İzolat no	IAA miktarı (µg/ml)		
	16 °C	24° C	36° C
TR 2/1	11,92	2,47	20,15
TR 6/1	24,69	27,13	36
TR 17/1	24,23	16,81	35
TR 18/1	10	13,1	18,46
TR 21/1	8,46	8,85	23,23
TR 23/1	25,76	13,45	38,15
TR 39/2	6,92	1,46	10,23
70	11,15	2,15	16,23
S5/4ep	10,38	0,85	15
14/1y	24,61	1,54	34,84
Kontrol	0	0	0

IAA testleri sonucunda 16⁰C ‘de izolatlar 6.92-25.76 µg/ml arasında değişen oranlarda IAA üretmişler ve en yüksek IAA üretimi TR 23/1 nolu antagonist bakteri izolatında saptanmış, bunu TR 6/1,14/1y ve TR 17/1 izolatları izlemiştir. TR 39/2 nolu izolatın ise en düşük IAA üreten antagonist olduğu saptanmıştır. 36⁰C sonuçları incelendiğinde, en yüksek IAA üretimi TR 23/1 nolu antagonist bakterisidir. Bunu TR 6/1, TR 17/1 ve 14/1y nolu izolatlar izlemiştir. TR 39/2 nolu izolat ise en düşük IAA üreten kökbakterisi olduğu saptanmıştır. 36⁰C ‘de izolatlar 10.23-38.15 µg/ml arasında değişen oranlarda IAA üretmişlerdir. Çizelge 4.9 ‘de görüldüğü gibi IAA aktivitesi 24⁰C ‘e oranla 16 ve 36⁰C sıcaklıklarda farklılıklar göstermiştir. IAA üretimi en fazla olan TR 6/1 nolu izolat 24⁰C ‘de 27.13 µg/ml; 16 ⁰C’de 24.69 µg/ml ve 36⁰C ‘de 36.0 µg/ml IAA üretmiştir. 24⁰C ‘de IAA üretimi en düşük olan S5/4ep izolatı 16⁰C ‘de 10,38 µg/ml, 36⁰C ‘de ise 15.0 µg/ml oranında IAA üretimine sahiptir. Düşük sıcaklıklara oranla yüksek sıcaklıklar kökbakterilerinin IAA üretimine olumlu yönde etki etmiştir.

Toplam 10 test bakterisinden farklı sıcaklıklarda IAA salgılama yeteneği bakımından ön plana çıkan ilk 4 bakteri TR 6/1, TR 17/1, TR 23/1 ve 14/1y numaralı izolatlardır.

4.4.1.2. HCN üretimi sonuçları

Çizelge 4.10. Farklı sıcaklıklarda kökbakterilerinin HCN üretimi sonuçları

İzolat no	16 ⁰ C	24 ⁰ C	36 ⁰ C
TR 2/1	-	-	-
TR 6/1	-	-	-
TR 17/1	+	+	+
TR 18/1	-	-	-
TR 21/1	-	-	-
TR 23/1	-	-	-
TR 39/2	-	-	-
70	-	-	-
S5/4ep	-	-	-
14/1y	-	+	-
Kontrol	-	-	-

+: Güçlü HCN üretimi, -: HCN üretimi yok

Çizelge 4.10 incelendiğinde, 24°C 'de iki antagonist bakteri izolatu (TR 17/1 ve 14/1y), 16°C ve 36°C 'de ise bir izolatın (TR 17/1) HCN ürettiği saptanmıştır. TR 17/1 numaralı bakteri izolatu 16°C, 24°C ve 36°C 'de de HCN üretmiştir. Toplam 10 test bakterisinden farklı sıcaklıklarda HCN üretme bakımından ön plana çıkan bakteri izolatları TR 17/1 ve 14/1y numaralı izolatlardır (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.10).

4.4.1.3. Fosfataz aktivitesi testi sonuçları

Antagonist bakterilerin farklı sıcaklıklarda (16°C, 24°C ve 36°C) fosfataz enzimi üretimleri Pikovskaya (PVK) ortamında nokta ekimi yapılan bakteri izolatlarının etrafında oluşan zonların ölçülmesi ile yapılmıştır. Elde edilen veriler 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 'den anlaşıldığı üzere 16°C ve 36°C 'de ortalama erime zonu genişliğini karşılaştırdığımızda 16°C 'de herhangi bir gelişme görülmemiştir. 36°C 'de ortalama zon genişliğine baktığımızda çalışmada kullanılan kök bakterilerinden en çok zon oluşumu sırasıyla S5/4ep, TR 18/1, 70, TR 21/1 ve TR 2/1 'de görülmüştür. Bunları TR 6/1 ve TR 23/1 numaralı kökbakterileri izlemiştir. İzolatlar arasında TR 17/1, TR 39/2 ve 14/1y numaralı izolatlarda erime bölgesi saptanmamıştır. Çizelge 4.11 'de görüldüğü gibi fosfataz enzimi üretimleri 24°C 'e oranla 16°C ve 36°C sıcaklıklarda fosfataz enzimi üretimi genel olarak olumsuz etkilenecek düşmüştür. TR 17/1, TR 39/2 ve 14/1y nolu izolatlarda 16°C, 24°C ve 36°C 'de herhangi bir zon oluşumu gözlenmemiştir (Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.11).

4.4.1.4. CAS agarda siderofor üretme aktivitesi testi sonuçları

Hem PGPR hem de biyokontrol aktivitesi için önemli bir belirleyici olan siderofor üretimi farklı sıcaklıklarda (16°C, 24°C ve 36°C) CAS Agarda araştırılmış ve bulunan sonuçlar Çizelge 4.12 'de verilmiştir. Elde edilen veriler 0-4 skalasına göre değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.11. Fosfat çözünürlüğü testinde oluşan erime bölgeleri (mm) ve skala değerleri verileri

İZOLAT NO	16 ⁰ C 'de ortalama zon genişliği (mm)	16 ⁰ C skala değerleri	24 ⁰ C 'de ortalama zon genişliği (mm)	24 ⁰ C skala değerleri	36 ⁰ C 'de ortalama zon genişliği (mm)	36 ⁰ C skala değerleri
TR 2/1	0	0	6,44	3	3,00	2
TR 6/1	0	0	2	2	1,00	1
TR 17/1	0	0	0	0	0,00	0
TR 18/1	0	0	2,33	2	5,67	3
TR 21/1	0	0	1,33	2	3,67	2
TR 23/1	0	0	1,67	2	1,00	1
TR 39/2	0	0	0	0	0,00	0
70	0	0	6,44	3	5,33	3
S5/4ep	0	0	10,22	4	5,67	3
14/1y	0	0	0	0	0,00	0

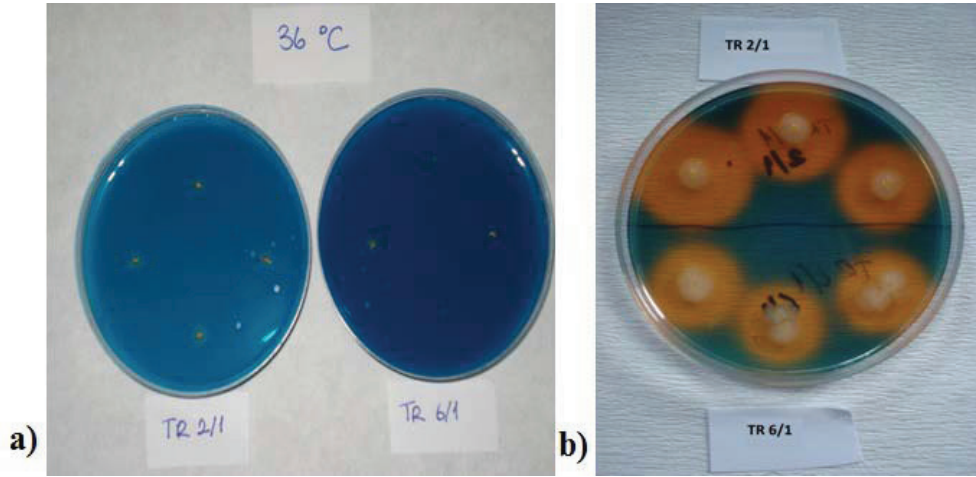
*Erime bölgeleri 3 yinelemenin ve her yinelemede 3 ayrı noktada yapılan ölçümlerin (mm) ortalamasıdır.

Çizelge 4.12. Kökbakterilerinin farklı sıcaklıklarda CAS agarda *in vitro* siderofor üretme aktivitesinin belirlenmesi

İZOLAT NO	16 ⁰ C 'de ortalama zon genişliği (mm)	16 ⁰ C skala değerleri	24 ⁰ C 'de ortalama zon genişliği (mm)	24 ⁰ C skala değerleri	36 ⁰ C 'de ortalama zon genişliği (mm)	36 ⁰ C skala değerleri
TR 2/1	1.0	1	12.7	4	0	0
TR 6/1	0	0	8.2	4	0	0
TR 17/1	3.0	2	6.3	3	0	0
TR 18/1	1.0	1	5.7	3	0	0
TR 21/1	2.0	2	5.8	3	0	0
TR 23/1	2.0	2	5.3	3	0	0
TR 39/2	2.0	2	12	4	0	0
70	0	0	4.8	3	0	0
S5/4ep	0	0	6.7	3	0	0
14/1y	1.0	1	6.7	3	0	0

*Erime bölgeleri 3 yinelemenin ve her yinelemede 3 ayrı noktada yapılan ölçümlerin (mm) ortalamasıdır.

Çizelge 4.12 'den anlaşıldığı gibi, farklı sıcaklıklarda CAS Agarda kök bakterilerinin oluşturduğu ortalama zon genişliğine baktığımızda yüksek sıcaklıkta yani 36⁰C 'de 7 gün inkubasyona bırakılmış ve herhangi bir zon oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 4.11a). 16⁰C sonuçları diğer sonuçlarla karşılaştırıldığında 24⁰C 'ye göre daha az zon oluşumu görülürken 36⁰C 'ye göre ise bazı izolatlarda zon oluşumu gözlenmiştir (Çizelge 4.4 ve 4.11). 16⁰C 'de en fazla zon oluşumu TR 17/1 'de olduğu bulunmuş, bunu TR 21/1, TR 23/1, TR 39/2, TR 2/1, TR 18/1 ve 14/1y numaralı izolatlar takip etmiştir. 16⁰C ve 36⁰C 'de TR 6/1, 70 ve S5/4ep numaralı izolatlar CAS Agar ortamında siderofor üretimine bağlı sarı renkli zon oluşumu gözlenmemiştir. 16⁰C 'de 7 izolatta zon oluşumu gözlenmiş olup 36⁰C 'de ise izolatlarda herhangi bir zon oluşumu görülmemiştir. 24⁰C 'e oranla 16⁰C ve 36⁰C sıcaklıklarda genel olarak CAS Agar ortamında siderofor üretimi olumsuz etkilenecek düşmüştür (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Antagonist adayı bakterilerin

a)36 °C ve b) 24°C 'de CAS Agarda siderofor üretimi görüntüsü.

4.4.2.Sıcaklık stresine dayanan kökbakterilerinin değişik sıcaklık rejimlerinde *in vitro* biyokontrol özelliklerinin testlenmesi sonuçları

4.4.2.1. Kökbakterilerinin değişik sıcaklık rejimlerinde *Cmm*'e karşı biyokontrol etkilerinin belirlenmesi sonuçları

Domateste Bakteriyel Solgunluk etmeni *Cmm*'e karşı Bakteriyel antagonistlerin *in vitro* etkileri 16⁰C ve 36⁰C 'de gözlemlenmiştir. Çalışmada

kullanılan antagonist adayı bakteriler 16⁰C ve 36⁰C ‘de *in vitro*’ da *Cmm*’ e karşı hiçbir etki gösterememiştir.

4.4.2.2. Kökbakterilerinin değişik sıcaklık rejimlerinde *FORL*’ a karşı biyokontrol etkilerinin belirlenmesi sonuçları

In vitro test sonuçlarına göre, 27.2 no.lu patojen izolatının çalışmada kullanılan kökbakterilerine karşı 16⁰C, 24⁰C ve 36⁰C ’ de oluşturduğu ortalama *FORL* koloni çapı değerleri ve hastalığı % engelleme değerleri Çizelge 4.13 ‘te verilmiştir.

Çizelge 4.13. Kökbakterilerinin farklı sıcaklık derecelerinde *FORL*’un gelişimine olan etkisi (izolat: 27.2)

Farklı sıcaklıklarda <i>FORL</i> koloni çapı (mm) ve engelleme %’si						
	16 ⁰ C		24 ⁰ C		36 ⁰ C	
İZOLAT NO	Ortalama <i>FORL</i> Koloni Çapı (mm) 27.2	% Engelleme 27.2	Ortalama <i>FORL</i> Koloni Çapı (mm) 27.2	% Engelleme 27.2	Ortalama <i>FORL</i> Koloni Çapı (mm) 27.2	% Engelleme 27.2
TR 2/1	28.0	22,22	53.80	4,21	49.4	16,83
TR 6/1	29.4	18,33	50.00	10,98	58.0	2,35
TR 17/1	22.0	38,88	40.67	27,60	32.0	46,12
TR 18/1	26.6	26,11	47.00	16,32	33.4	43,77
TR 21/1	13.4	62,77	48.00	14,54	26.0	56,22
TR 23/1	31.4	12,77	55.67	0,89	34.6	41,75
TR 39/2	35.4	1,66	53.17	5,34	42.6	28,28
70	28.6	20,55	52.00	7,42	50.6	14,81
S5/4ep	34.0	5,55	51.89	7,62	50.6	14,81
14/1y	42.6	-18,33	50.33	10,39	36.6	38,38
KONTROL	36.0	0,00	56.17	0,00	59.4	0,00

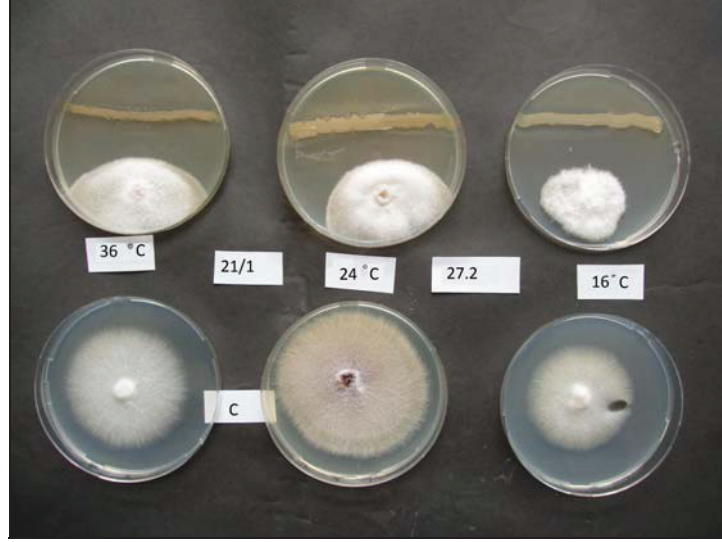
In vitro test sonuçlarına göre, 16°C ve 36°C 'de en düşük *FORL* koloni çapını TR 21/1 nolu izolat oluşturmuştur. 16°C 'de bunu, TR 17/1, TR 18/1, TR 2/1 ve 70 nolu izolatlar izlemektedir. 14/1y nolu izolat kontrolden daha fazla koloni gelişimi sağlamıştır. 36°C 'de en düşük *FORL* koloni çapını TR 21/1 nolu izolat oluşturmuştur. Bunu sırasıyla, TR 17/1 ve TR 18/1 nolu izolatlar izlemektedir (Çizelge 4.13).

27.2 izolatına karşı 16°C 'de en yüksek etkiyi, %62,77 ile TR 21/1 bakterisinin gerçekleştirdiği saptanmıştır. TR 17/1 ve TR 18/1 nolu bakterilerinin sırasıyla %38.88 ve %26.11 engelleyici etkisi olduğu saptanmıştır. En düşük etkiyi ise 14/1y ve TR 39/2 nolu antagonist bakteri izolatları olduğu saptanmıştır (Şekil 4.13).

PGPR'lerin 27.2 izolatına karşı 36°C 'de en yüksek etkiyi, %56.22 ile TR 21/1 nolu bakterisinin gerçekleştirdiği saptanmıştır. Bunu, TR 17/1 ve TR 18/1 nolu izolatlar izlemektedir. En düşük etkiyi ise %2.35 ile TR 6/1 nolu antagonist bakteri izolatı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.13).

TR 17/1, TR 18/1 ve TR 21/1 nolu kökbakterileri farklı sıcaklıklarda patojenin miseliyal gelişimini engellemeyi başaran en etkili izolatlar olarak öne çıkmaktadır.

In vitro test sonuçlarına göre, 27.2 no. 'lu patojen *FORL* izolatı düşük sıcaklıktan olumsuz etkilenirken, yüksek sıcaklık derecelerinde optimal sıcaklık derecesine yakın bir gelişme göstermiş, dolayısıyla yüksek sıcaklık stresinden etkilenmemiştir. Farklı sıcaklıklarda kökbakterilerinin *FORL* 'a karşı biyokontrol etkileri değerlendirildiğinde; düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında patojenin koloniyal gelişimi optimum sıcaklık değerlerine göre daha az olmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Kökbakterilerinin farklı sıcaklık derecelerinde *FORL*'a etkisi.

4.5. Bakteriyel Antagonistlere Uygulanan Tanılama Testi Sonuçları

Bu tez çalışması için seçilen 10 antagonist bakterinin (TR 2/1, TR 6/1, TR 17/1, TR 18/1, TR 21/1, TR 23/1, TR 39/2, 70, S5/4ep, 14/1y) tanısına dönük olarak yapılan fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları ve bu sonuçlara göre bakterilerin türüne ilişkin bulgular Çizelge 4.14 'de verilmiştir. . Antagonist adayı PGPR'ların genelde Gram (-) ve Floresan pigment vermesi nedeniyle öncelikle floresan Pseudomonasları ayırt etmede anahtar testler olan LOPAT testler uygulanmış, daha sonra bazı biyokimyasal testlere geçilmiştir.

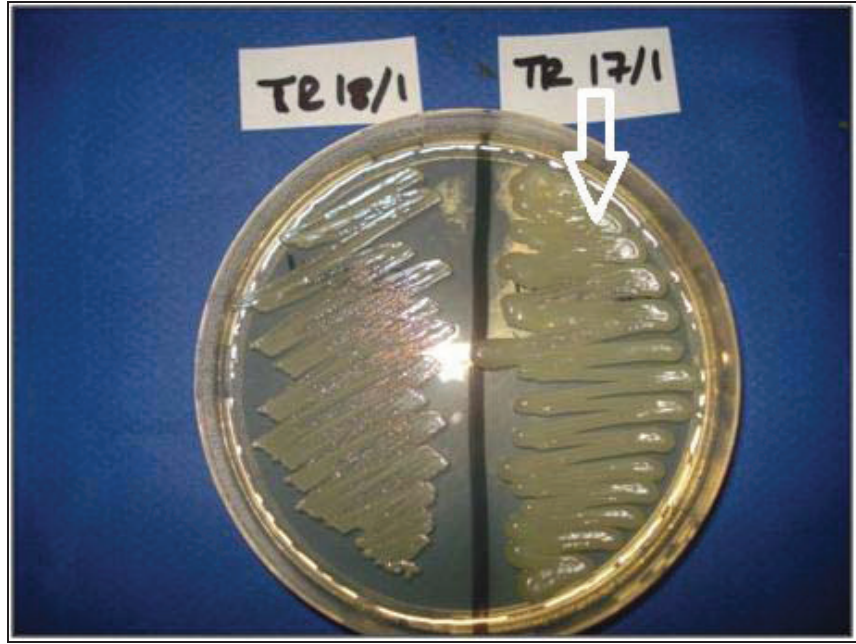
Çizelge 4.14. Çalışmada kapsamında kullanılan 10 antagonist bakteriye uygulanan tanılama testleri sonuçları

İZOLAT NO	KB'de pigment.	Gram reak.	LOPAT TESTLER					Jelatinin sıvılaşması	Anaerobik gelişme tetm	KARBON KAYNAKLARINDAN YARARLANMA					TANI SONUCU
			Levan	Oksidaz	Patateste pektol.akt.	Arginin dehidrolaz	Tütünde HR			Gliserol	Mannitol	Sorbitol	Sucrose	L-Arabinose	
TR 2/1	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	PF BV3
TR 6/1	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	PF BV3
TR17/1	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	P.MARGINALIS
TR 18/1	+Z	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	PF
TR 21/1	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	P.PUTIDA
TR 23/1	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	PPUTIDA
TR 39/2	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	PF BV3
70	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	P.PUTIDA
S5/4Ep	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	P.PUTIDA
14/1y	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	+	PF BV5
Pf BV1	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	
Pf BV2	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	
Pf BV3	+	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	
Pf BV4	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	
Pf BV5	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	V	+	+	
Pputida bvA	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	
Pputida bvB	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	V	+	+	
P.marginalis	+	-	+	+	+	+	V	?	-	-	+	+	+	-	
P.cichorii	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
P.viridiflava	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	
P.aeruginosa	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	

+Z: zayıf pigmentasyon, (+): kesin pozitif reaksiyon, (-): kesin negatif reaksiyon, V: değişken sonuç

Çizelge 4.14' den anlaşıldığı gibi, çalışma kapsamında kullanılan 10 bakteri izolatından 9 'u KB 'de floresan pigment üretirken 1 'i (TR 18/1) zayıf pigmentasyon oluşturmuştur. Ayrıca, Gram reaksiyonu sonucunda bütün bakterilerin Gram (-) olduğu saptanmıştır.

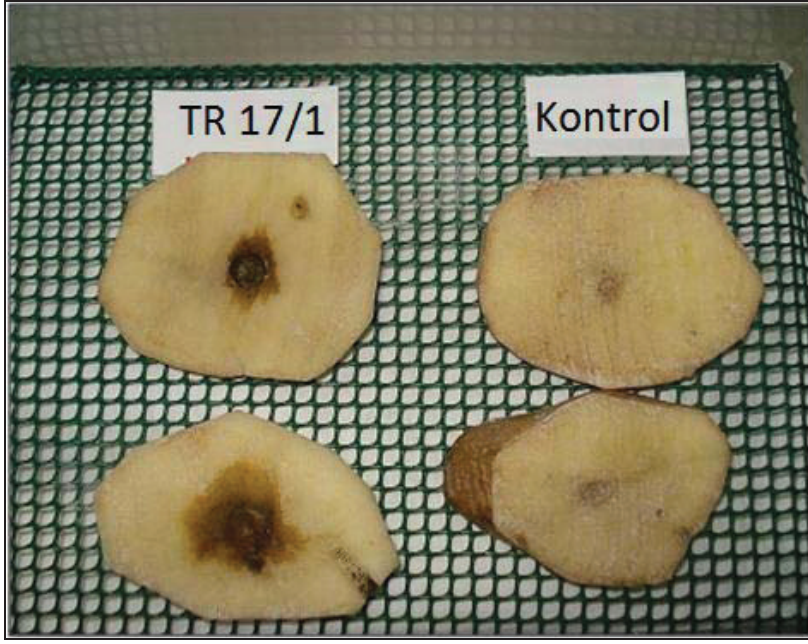
LOPAT testi sonuçlarına göre, SNA besiyerinde TR 17/1 no' lu izolat Levan oluşturmuş ve pozitif olarak değerlendirilmiştir. Diğer 9 izolat SNA besiyerinde kalın, beyaz, konveks, mukoid koloniler oluşturmamıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Levan oluşumu testinde oluşan kalın, mukoid koloniler (TR 17/1).

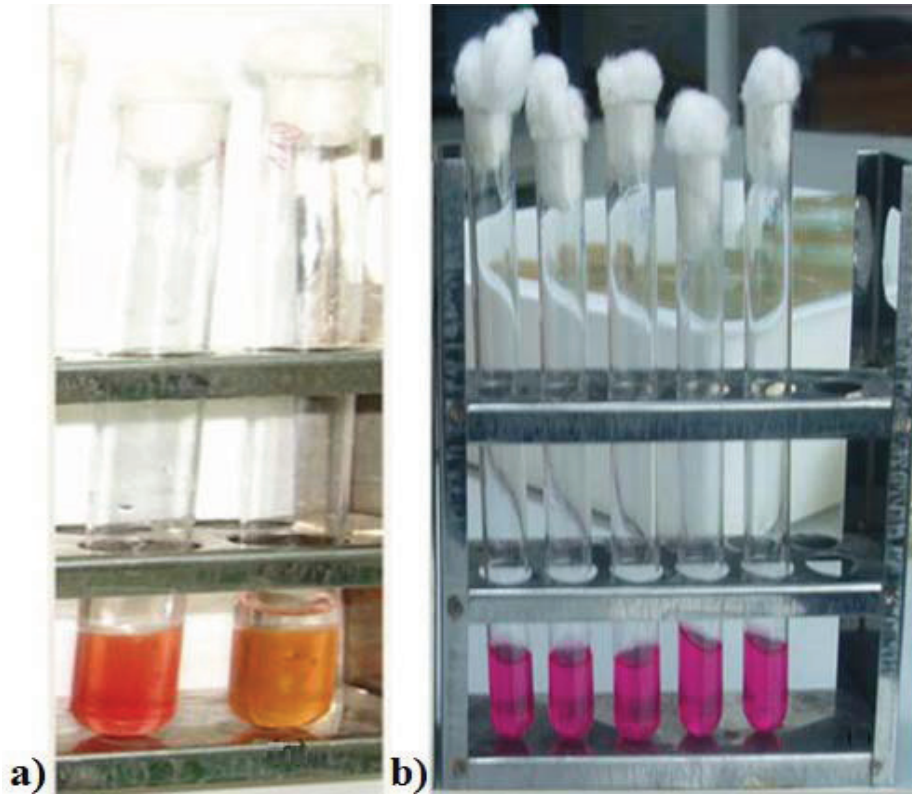
Yapılan Oksidaz testi sonucunda, TR 18/1 oksidaz negatif ve bunun haricindeki bütün izolatlar oksidaz pozitif olarak bulunmuştur.

Patatesin pektolize olması testi sonucuna göre, TR 17/1 numaralı bakteri patatese inokule edildikleri noktalarda yumuşama belirtisi göstermişler ve bu da pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.14). Geri kalan izolatlarda yumuşama ve bakteri inokule noktalarda renk değişimi görülmediği için sonuç negatiftir.



Şekil 4.14. Bakteri kültürü inokule edilen bölgedeki yumuşama.

Arginine dehidrolase testi sonucuna göre, ortam pembe-kırmızı olursa pozitif, normal renk olan ten rengi (açık pembe) olarak kalırsa negatif olarak değerlendirilmiştir. Bunun sonucunda TR 17/1 negatif, diğer 9 izolat ise pozitif sonuç vermiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Arginine Dehidrolase Testi sonucu tüplerde görülen renk değişimleri.

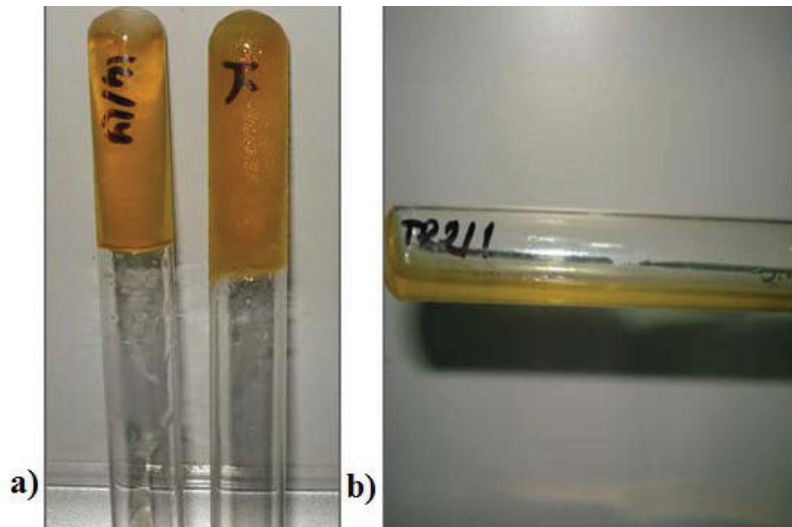
(a) pozitif, (b) negatif.

Tütün testine göre, TR 17/1 no' lu izolat yaprakta nekrotik belirtiler verdiği için reaksiyon pozitif olarak değerlendirilmiştir. TR 17/1 dışındaki bütün izolatlar bu teste negatif sonuç vermiştir (Şekil 4.16).



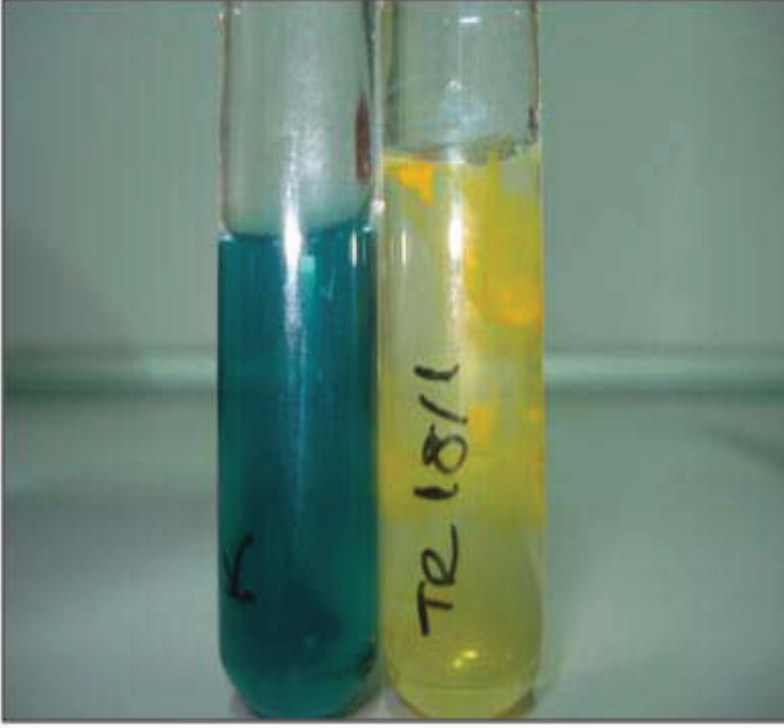
Şekil 4.16. Tütünde aşırı duyarlılık testinde bakteri enjekte edilen yerdeki nekrotik görünüm.

Yapılan Jelatinin Hidrolizi (Sıvılaşması) testine göre, hazırlanan ortam kontrolden önce 30 dakika kadar +4°C 'de buzdolabında bekletilir. Tüplerdeki jelatin akıcı halde ise pozitif, tüplerdeki jelatin katı halde ise negatif olarak değerlendirilmiştir. Jelatinin Hidrolizi testinin sonucuna göre, TR 2/1, TR 6/1, TR 17/1, TR 18/1, TR 39/2 pozitif; TR 21/1, TR 23/1, 70, S5/4ep ve 14/1y numaralı izolatlar negatif olarak bulunmuştur (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Jelatin Sıvılaşması testi sonucu tüplerde meydana gelen
a)pozitif (14/1y) ve b)negatif (TR 2/1) görünüm.

Anaerobik gelişme testi sonucunda, TR 18/1 numaralı bakteri normalde mavi renk olan ortamı sarıya dönüştürdüğü yani anaerobik gelişme olduğu için pozitif olarak kabul edilmiş, diğer izolatlarda böyle bir belirti görülmediği için negatif olarak değerlendirilmişlerdir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. Anaerobik gelişme testinde normalde mavi olan rengin sarıya dönüşmesi.

Çizelge 4.14’ de yer alan karbon kaynaklarından yararlanma başlığı altında; gliserol, mannitol, sorbitol, sucrose, L-arabinose tesleri yapılmıştır. Yapılan gliserol testi sonucuna göre, bütün izolatlar pozitif sonuç vermiştir. Mannitol testinde TR 23/1 ve 14/1y numaralı izolatlar bu teste negatif sonuç verirken, diğer izolatlar pozitif sonuç vermiştir. Sorbital testi sonucunda, TR 17/1, TR 23/1 ve 14/1y numaralı izolatlar negatif sonuç verirken diğer 7 izolat pozitif sonuç vermiştir. Sucrose testinde, TR 17/1 numaralı izolat bu teste negatif sonuç verirken, diğer 9 izolat pozitif sonuç vermiştir. L- arabinose testinde, TR 17/1 ve TR 18/1 numaralı izolatlar negatif sonuç, kalan diğer 8 izolat bu teste pozitif sonuç vermiştir.

Çizelge 4.14’de yer alan referans bakterilere ilişkin test sonuçlarıyla projemizde yer alan bakteriyel izolatların söz konusu testlere vermiş olduğu reaksiyon karşılaştırıldığında; 3 izolat (TR 2/1, TR 6/1, TR 39/2) *Pseudomonas fluorescens* biovar 3, 1 izolat (14/1y) *Pseudomonas fluorescens* biovar 5, 4 izolat

(TR 21/1, TR 23/1, 70, S5/4ep) *Pseudomonas putida* olarak tanılanmıştır. TR17/1'in patatestte pektolitik aktivite göstermesi ve Tütünde HR testinde pozitif sonuç vermesi nedeniyle, bu bakteri *Pseudomonas marginalis* olarak tanılanmıştır. Söz konusu bakteri izolatının bitki patojeni olabileceği düşüncesiyle daha ileriki çalışmalarda bu bakteriye yer verilmemesine karar verilmiştir. TR18/1 nolu izolatın tanısı için ise; ek testlere ve yapılabilirse PCR ile tanılanmasına gereksinim duyulmaktadır.

5. TARTIŞMA

5.1. PGPR 'ların Bitki Gelişimindeki Rolü

Bakteriler, rizosfer florası içerisinde en yaygın olarak bulunan türdür. Bu bölgede bulunan ve PGPR grubu olarak bilinen bir grup kökbakterisinin çeşitli bitkilerde gelişmeyi ve verimi artırıcı etkileri olduğu bilinmektedir. PGPR'ların bitki gelişimini teşvik ettiği çeşitli laboratuvar ve tarla denemeleriyle ortaya konulmuştur. Kökbakterilerinden *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas fluorescens* kanola, marul ve domatese uygulandığında kök ve gövde boyunu arttırdığı belirtilmektedir (Hall et al., 1996; Glick et al., 1997). Benzer şekilde *Pseudomonas* uygulaması şeker pancarında kök ve şeker verimini artırdığı (Cakmakçı et al., 2001), ıspanakta ise gelişmeyi teşvik ettiği bildirilmektedir (Urashima and Hori, 2003). PGPR 'nin salgıladıkları fitohormonlarla kök gelişimini arttırmalarının yanında, bazı sistemlerle direkt olarak kök solunumunu etkiledikleri, bunun sonucunda da kök gelişimini arttırdıkları bilinmektedir. Son zamanlarda *Pseudomonas* türleri biyokontrol etmenler olarak daha fazla dikkat çekmektedir. *P. flourescens* ve *P. putida* ırkları patates tohumu, şekerpancarı ve turpta uygulandığında bitki gelişiminin daha iyi olduğu bildirilmektedir (Burr et al,1978). Çalışmamızda, 24°C'de özellikle TR 2/1 ve TR 21/1 numaralı antagonist bakteri izolatları çimlenmeye etki yönünden ön plana çıktığı görülmektedir.

Abiyotik ve biyotik stres faktörleri domates üretimini önemli derecede etkilemektedir. Sıcaklık, serada domates üretiminde sorun olan en önemli abiyotik stres faktörüdür. Domates özellikle ekstrem sıcaklıklar, tuzluluk, kuraklık çevre kirliliği gibi bir çok çevresel stres koşullara karşı hassastır. Yüksek sıcaklıklarda tohum çimlenmesi, fide gelişimi, meyve tutumu ve olgunlaşması olumsuz yönde etkilenmektedir. Düşük sıcaklık stresi, 15 °C 'nin altında ortaya çıkmakta ve düşük sıcaklık bitkilerde ciddi boyutlarda büyüme bozuklukları ve verim azalmasına neden olmaktadır. Özellikle örtüaltında yetiştirilen domateslerde, düşük sıcaklık stresinden kaynaklanan ciddi boyutlarda verim düşüklüğü ortaya çıkmaktadır Patojenlerin yol açtığı hastalıklar ise biyotik faktörlerin başında gelmektedir. *Bacillus subtilis* izolatları, rizobakter metabolitlerinin domates

fidelerinin biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılık/toleransını teşvik ettiği belirtilmektedir (Bochow and Dolej, 1999).

Bu tez çalışmasında, *in vitro* bitki gelişimini teşvik edici etkide antagonist bakterilerin; IAA üretimi, fosfat çözünürlüğü, HCN üretimi, siderofor üretimi ve tohum çimlenmesi üzerine olan etkileri temel alınmıştır. PGPR 'nin fitohormonlarla kök gelişimini arttırmalarının yanında, bazı sistemlerle direkt olarak kök solunumunu etkiledikleri ve kök gelişiminin arttığı belirtilmektedir (Sarig et al., 1992; Vedder-Weiss et al., 1999). Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler tarafından üretilen en yaygın hormonun IAA olduğu ve bu hormonun bitkilerde kök oluşumu, hücre bölünmesi ve hücre büyümesinde etkili olduğu bilinmektedir. (Salisbury, 1994; Vessey, 2003). Bu bağlamda, çalışmada 10 bakteri izolatının farklı sıcaklıklarda (16°C, 24°C ve 36°C) IAA salgılayıp salgılamadığı *in vitro* olarak test edilmiştir. Buna göre, 16°C, 24°C ve 36°C 'de kök bakterileri farklı miktarlarda IAA salgılamışlardır. Rizosferden elde edilen bakterilerin % 80 'inin IAA salgıladığı ve bunların bu yeteneklerinin bakteri türü ve strainine göre değişken olduğu bilinmektedir (Patten and Glick, 2000). Optimum sıcaklığa göre , IAA aktivitesi sıcaklık stresinden genel olarak olumlu etkilenmiştir. Düşük sıcaklıklara oranla yüksek sıcaklıklar kökbakterilerinin IAA üretimine olumlu yönde etki etmiştir. Bunun nedeni, bazı enzimlerin aktivasyonunun yüksek sıcaklıkta artmasından kaynaklanmaktadır.

Bitki gelişiminde bir diğer önemli faktör ise fosfor olup bu element genel olarak toprakta bol miktarda bulunmasına rağmen bitkiler tarafından kullanılamaz formlarda bulunmaktadır. Bir grup PGPR ise üretmiş oldukları fosfataz enzimi ile toprakta bulunan organik fosforu inorganik fosfora dönüştürerek bitkiler tarafından alınabilmesini sağladığı bilinmektedir (Vessey, 2003). Fosfor çözücü bakterinin (*Bacillus megaterium*) domates bitkisinin verimi ve fosfor alımı üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, fosfor çözücü bakterinin bitkide verim ile fosfor, demir, çinko ve bakır alımını arttırdığı bildirilmektedir (Turan ve ark., 2004). Çalışmamızda 10 antagonist bakteri izolatının farklı sıcaklıklarda (16°C, 24°C ve 36°C) fosfataz enzimi üretilip üretilmediği *in vitro* olarak test edilmiştir. Optimum sıcaklığa (24°C) göre düşük sıcaklık, antagonist bakteri izolatlarının fosfataz enzimi üretimini olumsuz etkilemiştir. Düşük sıcaklıkta (16°C) çalışmamızda kullandığımız 10 bakteriden hiçbiri fosfataz enzimi

üretmemiştir. Düşük sıcaklıklarda fosfor çözünmez formda bulunmaktadır. Bu sebepten dolayı, düşük sıcaklıklarda fosfataz enzimi üretimi gerçekleşmemiştir. Çalışmamızda yapmış olduğumuz fosfat çözünürlüğü testi sonuçlarına göre, düşük ve yüksek sıcaklıkların optimum sıcaklığa göre fosfataz enzimi üretme miktarında farklılıklar oluşturduğu sonucuna varılmıştır.

HCN üretimi biyokontrol açısından önemli bir parametredir. Hidrojen siyanid çok uçucu ve 300 ppm oranında havada bulunması durumunda yetişkin bir insanı çok kısa sürede öldürebilecek düzeyde oldukça zehirli kimyasal bir bileşiktir. Mikroorganizmalar tarafından doğrudan glycine ve cyanogenic glycosidlerden üretildiği bilinmektedir (Knowles,1976). Bazı PGPR'lar zararlı mikroorganizmalar için antibiyotikler ve HCN gibi patojenlere zararlı maddeler ürettikleri bilinmektedir. Böylece, toprakta zararlı mikroorganizmaları baskı altında tuttukları belirtilmektedir (Thomashow and Weller, 1988 and 1995; Schippers, 1992; Maurhofer et al., 1994).

Floresan *Pseudomonas* 'ların ürettikleri ikincil bir metabolit olan HCN 'nin fungusları baskı altında tutan bir ürün olduğu bilinmektedir. *Pseudomonas fluorescens* CHA0 izolatının, tütün siyah kök çürüklüğü (*Thielaviopsis basicola*) hastalığını baskı altına alma yeteneğinin HCN üretiminden kaynaklandığı bildirilmektedir (Keel et al., 1989). Patateslerde verim düşüklüğünün mikrobiyal bir metabolit olan hidrojen siyanidten kaynaklanabileceği belirtmektedir (Bakker and Schippers, 1987). Araştırmacılar çalışmalarında patates rizosferinden izole ettikleri *Pseudomonas* 'ların %50'sinin *in vitro* 'da siyanid ürettiğini, 5µM HCN 'nin *in vitro* 'da patates köklerinde sitokrom oksidaz ile ilgili olarak %40 'a varan oranda solunumu engellediğini, *in vitro* 'da siyanid üretiminin ortamdaki Fe⁺³ konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiğini ve topraktaki siderofor üreten bakterilerin siyanid üreten bakterilerle Fe⁺³ rekabetine girdiği bildirilmektedir.

Çalışmamızda 10 bakteri izolatının farklı sıcaklıklarda HCN üretilip üretilmediği *in vitro* olarak test edilmiştir. Toplam 10 test bakterisinden 24°C 'de TR 17/1 ve 14/1y numaralı izolatların; 16°C ve 36°C 'de TR 17/1 numaralı izolatın HCN ürettiği saptanmıştır. TR 17/1 numaralı bakteri izolatının her koşulda 16°C, 24°C ve 36°C 'de HCN ürettiği saptanmıştır.

Çileklerdeki *Verticillium* solgunluğunu kontrol etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, çilek köklerinden izole edilen *Pseudomonas* ve *Streptomyces* cinsi bakteriler kullanılmıştır (Berg et al.,2000a). *In vitro* deneme sonuçlarında, *Verticillium*'un yanında *R. solani* ve *P. Cactorum* 'a karşı da antifungal etki gösteren *Pseudomonas* 'ların hepsinin HCN ürettiği saptanırken, *Streptomyces* 'lerin hiçbirinin HCN üretmediği belirlenmiştir. Ayrıca çalışmada tüm izolatların siderofor oluşturduğu da belirtilmektedir.

Biyolojik savaşta etkili kriterlerden bir tanesi de antagonist bakterilerin siderofor oluşturmalarıdır. Kök bölgesindeki diğer fungus ve bakteri popülasyonlarında önemli ölçüde azalmalara neden olan faktörlerden biri olan siderofor üretimi, sınırlı demir iyonları için mikroorganizmaların rekabete girmesinde önemli rol oynamaktadır. *Pseudomonas* cinsi, topraktaki demir için sideroforları sayesinde bitki patojenleri ile rekabete girerek hastalıkları baskı altına alabilen en önemli bakteri türlerini içerdiği bilinmektedir (De Weger et al., 1986). Bakterilerin ürettikleri sideroforlar sayesinde toprakta bulunan demir ayıklanarak kendileri için gerekli olan alınabilir besin elementi haline dönüştürülmektedir (Neilands, 1995; Milagres et al., 1999). Kök bölgesinde kolonize olan ve bitki gelişimini arttırıcı etkisi bulunan 30 floresan *Pseudomonas*'ın siderofor üretimi üzerine yapılan bir çalışmada tüm izolatların siderofor ürettiği belirtilmektedir (De Weger et al.,1986). Bu üretimin ortamdaki sınırlı miktardaki demir (Fe^{+3}) ile bir ilişkisinin olduğu ve antagonistik etkinin büyük oranda bundan kaynaklandığı,elde ettikleri iki adet siderofor üretmeyen mutantın da antagonistik aktivitesinin büyük oranda düştüğü belirtilmektedir. Çalışmalarımızda değerlendirdiğimiz 10 izolatın *Pseudomonas* genusunda yer aldığı düşünüldüğünde, sekonder metabolit üretim testi sonucunun diğer araştırmacıların çalışmaları ile bir paralellik gösterdiği görülmektedir.

Hem PGPR hem de biyokontrol aktivitesi için önemli bir belirleyici olan siderofor üretimi spesifik bir ortam olan CAS Agarda araştırılmıştır (Schwyn and Neilands, 1987). Bu tez çalışmasında, 10 bakteri izolatının farklı sıcaklıklarda (16°C, 24°C ve 36°C) CAS agarda siderofor üretilip üretilmediği *in vitro* olarak test edilmiştir. Optimum sıcaklıkta, tez çalışmamızda kullandığımız bütün bakterilerde sarı renkli zon oluşumu görülmüştür. 36°C 'de kökbakterilerinin CAS agarda siderofor üretmedikleri saptanmış olup, CAS agarda herhangi bir zon oluşumu

gözlenmemiştir. CAS agarda siderofor üretimi sonuçlarına göre, optimum koşullara göre bakterilerin düşük ve yüksek sıcaklıklarda siderofor üretimi olumsuz etkilendiği sonucuna varılmıştır. Özellikle, yüksek sıcaklık siderofor üretimini olumsuz etkilemiş olup kullanılan kökbakterilerinden hiçbiri 36 °C ‘de gelişme gösterememiştir. Düşük sıcaklıklarda Fe^{+3} çözünemez formda bulunduğu için düşük sıcaklıklarda optimum sıcaklığa göre siderofor üretimi olumsuz etkilenmiştir.

Bakteriyoloji laboratuvarımızda yapılan bir biyolojik savaş çalışmasında elde edilen sonuçlara göre; 35 adet antagonist bakterisinden CAS Agar ortamında 24°C ‘de 14 izolat siderofor üretimine bağlı olarak sarı renkli zon oluştururken, 21 izolatta ise zon oluşumu gözlenmemiştir (Bozkurt ve Özaktan, 2009). Bu tez kapsamında, 24°C ‘de tüm bakteri izolatları farklı miktarlarda CAS agarda sarı renkli zon oluşturmuştur.

PGPR grubu bakteriler bitkilerde çimlenmeyi, bitki boyunu toplam ağırlığı, çiçeklenmeyi ve verimi arttırıcı etkide bulundukları bilinmektedir (Chen et al., 1996; Almonacid et al., 2000; Pal et al., 2000; Romeiro, 2000). Bu tez çalışmasında, 24°C ‘de izolatlardan özellikle TR 2/1 ve TR 21/1 numaralı antagonist bakterilerin çimlenmeye etki yönünden ön plana çıktığı görülmektedir. TR 39/2, 70, TR 17/1 ve S5/4ep nolu izolatların canlılık (vigour) indeksi değeri kontrolden düşük olduğu saptanmıştır. Kontrole göre en yüksek canlılık indeksi TR 2/1 ve TR 21/1 numaralı izolatlar elde edilmiştir. SE34 numaralı bir *Bacillus* izolatının nohutlarda çimlenmeyi kontrole göre %63 artırdığı bilinmektedir (Reddy et al., 2003). Bu çalışmada kullanılan 10 izolattan 4 tanesinde ise kontrolden daha az çimlenme ve gelişme görülmüştür. Bu sonuçta, kaynaklarda rastlanan bir durumdur (Raji and Nair,2003).

5.2. PGPR ‘ların Biyokontrol Özelliği ile İlgili Bilgiler

In vitro Koşullarda Kökbakterilerinin *Cmm*’e Karşı Biyokontrol Etkileri:

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* (*Cmm*), domates üretimini dünya çapında sınırlayan en önemli bakteriyel etmenlerden biridir (Gleason et al., 1993). *Cmm*, domates bitkisinde hem kalite hem de kantite de önemli miktarda azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Bakteriyel solgunluk hastalığı domatesin

en korkulan ve yıkıcı hastalıklarından biri olarak tanımlamaktadır (Sherf and Macnab, 1986). Etmen, çeşitli yöntemlerle baskılanmaya çalışılmış fakat kullanılan yöntemlerle tam olarak başarı sağlanamamıştır. Bu nedenlerden dolayı son yıllarda *Cmm* 'e karşı biyolojik savaşın alternatif bir mücadele yöntemi olabileceği bilinmektedir. Hastalıkla mücadelede etkin bir yöntemin olmayışı bizi alternatif yöntemleri araştırmaya yönlendirmiş olup, bu kapsamda domates bakteriyel solgunluk hastalığının PGPR'lar ile mücadele olanakları araştırılmıştır. *Cmm* 'e karşı antagonist bakterilerin kullanım olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada; 79'u Aktinomiset, 9'u floresan *Pseudomonas* ve 2'si *Bacillus* olmak üzere toplam 90 adet antagonist bakteri izolatu elde edilmiştir. Bunlardan 27 tanesinin *in vitro* petri denemeleri sonucunda etkili olduğu bildirilmektedir (Tokgönül ve Çınar, 1999).

Domates rizosfer ve rizoplane 'inden izole edilen antagonistlerin *Cmm* enfeksiyonunu başarıyla engellediği ve bu antagonist bakterilerinin genelde flourosent *Pseudomonas* ' lar olduğu bildirilmektedir (Boudyach et al., 2001). Çalışmalarımızda kullandığımız 10 antagonist aday kökbakterisi flouresent *Pseudomonas* 'tır. Bu tez kapsamında, 24°C'de 3 izolat ortalama 3-17 mm arasında değişen engelleme zonları oluşturarak *Cmm* 'in koloniyal gelişimini başarıyla engellemiştir. Toplam 7 antagonist aday bakteri ise *in vitro* ' da *Cmm* 'e karşı hiçbir etki gösterememiştir. *Cmm* 'in koloniyal gelişimini başarıyla engellemede en etkili izolatın TR21/1 olduğu saptanmıştır. Bakteriyoloji laboratuvarımızda yapılan bir biyolojik savaş çalışmasında elde edilen sonuçlara göre, Gram (+) bakteri türlerinin *Cmm* 'e karşı daha etkili oldukları, optimal koşullarda yaklaşık 28- 37 mm' lik engelleme zonları oluşturdukları saptanmıştır. Flourosent *Pseudomonas* 'ların ise 35 en no.lu zeytinden izole edilen endofitik bakteri izolatu hariç, genelde, *in vitro* 'da 8- 12 mm' lik engelleme zonları oluşturarak ortalama bir etki spektrumuna sahip olduğu bildirilmektedir (Akat ve Özaktan, 2008). Çalışmada kullanılan antagonist aday bakterilerin düşük ve yüksek sıcaklıklarda *in vitro* ' da *Cmm* 'e karşı hiçbir etki gösteremediği saptanmıştır. Bu çalışma ile hastalık etmeninin gelişiminin engellenmesinde denenen aday PGPR izolatlarından optimum koşullarda üç izolatın antagonistik etki mekanizmasına sahip oldukları sonucuna varılmıştır.

***In vitro* Koşullarda Kökbakterilerinin FORL 'a Karşı Biyokontrol Etkileri:**

PGPR'ler çoğunlukla doğal olarak hastalıkları baskılayıcı topraklarda yetişen sağlıklı bitkilerin köklerinden izole edildikleri bilinmektedir. Doğal olarak hastalıkları baskı altına alan topraklardan izole edilen ırklar (genelde fluoresans *Pseudomonas* spp.) bitki gelişimini toprak kaynaklı patojenleri baskı altında tutarak düzenledikleri belirtilmektedir (Pieterse et al., 2001). Bu hastalığın kontrolünde kimyasal mücadelenin tam olarak etki etmemesi biyolojik savaşın hastalıkla mücadelede alternatif bir uygulama olarak uygulanabileceğini göstermektedir. İspanya'da ticari olarak domates üretimi yapılan bir tarladan izole edilen *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391'in *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici*'ye baskılamada başarılı olduğu bildirilmektedir (Chin-A-Woeng et al., 1998). Domates köklerinde kolonizasyonunu başarılı olan *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391'nin proteaz, kitinaz ve lipaz gibi çeşitli hidrolitik enzimleri salgıladığı, HCN ve antifungal bir bileşik olan fenazin karboksamid (phenazine-1-carboxamide, PCN) ürettiği saptanmıştır. PCN üretim yeteneği olmayan mutant *P. chlororaphis* PCL139'in, domates kök ve kök boğazı çürüklüğüne karşı biyokontrol yeteneğini kaybettiğinin belirlenmesi üzerine, PCN'nin biyokontrolde önemli bir rolü olduğu belirtilmektedir.

Bu çalışmada, *in vitro* koşullarda bakteriyel antagonistle farklı sıcaklık derecelerinde patojen *FORL* karşılaştırılmıştır. Böylece bakteriyel antagonistlerin farklı sıcaklık düzeylerinde fungal patojene karşı biyokontrol aktiviteleri değerlendirilmiştir. 24°C 'de hastalığı engellemede en yüksek etkiyi TR 17/1 nolu bakterinin gerçekleştirdiği saptanmıştır. Düşük ve yüksek sıcaklıklarda en yüksek etkiyi TR 21/1 nolu bakteri göstermiştir. Bunu TR 17/1 ve TR 18/1 nolu izolatlar izlemiştir. TR 17/1, TR 18/1 ve TR 21/1 nolu kökbakterileri farklı sıcaklıklarda patojenin miseloyal gelişimini engellemeyi başaran en etkili izolatlar olduğu saptanmıştır. 27.2 no.'lu patojen *FORL* izolatı düşük sıcaklıktan olumsuz etkilenirken, yüksek sıcaklık derecelerinde optimal sıcaklık derecesine yakın bir gelişme göstermiş, dolayısıyla yüksek sıcaklık stresinden etkilenmemiştir. Farklı sıcaklıklarda kök bakterilerinin *FORL* 'a karşı biyokontrol etkileri değerlendirildiğinde; düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında patojenin koloniyal gelişimi optimum sıcaklık değerlerine göre daha az olmuştur. Elde edilen sonuçlar

TR 17/1 nolu izolatin iyi bir biyokontrol elemanı olduğunu göstermiştir. Fakat yapılan tanılama testi sonuçlarına göre bu bakterinin bitki patojeni (*Pseudomonas marginalis*) olduğu sonucuna varılmıştır.

PGPR grubu bakterilerin genelde bitki gelişimini uyarmak ve biyokontrol sağlamak gibi önemli temel işlevleri olduğu belirtilmektedir (Kloepper., 1993). Bu sonuçlar doğrultusunda, TR 21/1 nolu kökbakterisinin hem *Cmm* 'nin gelişimini başarıyla engellemesi hem de 27.2 nolu patojen izolata karşı olan engelleyici etkisinden dolayı iyi bir biyokontrol ajanı olabileceği sonucuna varılmıştır. Siderofor üretimi, hem PGPR hem de biyokontrol aktivitesi için önemli belirleyici bir özellik olduğu bilinmektedir (Schwyn and Neilands, 1987). TR 21/1 nolu bakterinin, güçlü bir siderefor üretme yeteneği olduğu için iyi bir biyokontrol ajanı olabileceği saptanmıştır.

Bu çalışmanın amacı, domates bitkilerinden izole edilen kökbakterilerinin yanı sıra bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, çeşitli konukçu X patojen sisteminde biyolojik savaş açısından etkililiği kanıtlanmış 10 adet antagonist bakterinin bitki gelişimini artırıcı özellikleri ve *Cmm* ve *FORL*'a karşı biyolojik savaş potansiyelleri üzerine farklı sıcaklık rejimlerinin (16°C, 24°C ve 36°C) *in vitro* koşullarda etkisinin saptanmasıdır. Böylece, optimal sıcaklık koşullarında PGPR ve biyolojik savaş potansiyeli saptanan kökbakterilerinin, düşük ve yüksek sıcaklık stresi karşısında gelişme, PGPR ve biyolojik savaş potansiyellerindeki değişimleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır.

Elde edilen bu sonuçlar, antagonist bakterilerin biyokontrol etki mekanizmalarında bir veya birden fazla faktörün rol oynadığını göstermektedir. Bu şekildeki farklı mekanizmalarla patojen gelişiminin engellenmesi antagonist bakterilerin genel özellikleri olup, antagonist bakterilerin birden fazla etki mekanizmasına sahip olabileceği bildirilmektedir (Van Loon et al., 1998; Audenaert et al., 2002; Blanco and Bakker, 2007; Höfte and Bakker, 2007).

Bu tez çalışması sonucunda, kökbakterilerinin biyokontrol ve bitki gelişimini arttırıcı etkilerinden sorumlu olan salgıları için sıcaklık önemli bir faktör olarak karşımıza çıkmıştır. Özellikle kış aylarında ısıtmasız seralarda kökbakterilerinin PGPR ve biyokontrol özelliklerinde önemli gerilemeler olduğu kaçınılmazdır.

6. SONUÇ

Biyotik ve abiyotik stres faktörleri domates üretimini önemli boyutlarda etkilemektedir. Sıcaklık, serada domates üretiminde sorun olan en önemli abiyotik stres faktörüdür. Fungal etmenlerden *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) ve bakteriyel etmenlerden *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Cmm) domates üretimini sınırlayan iki önemli patojendir. Bu hastalıkların mücadelesine yönelik olarak tüm dünyada farklı yöntemler uygulanmasına rağmen tam olarak başarılı sonuçlar alınamamıştır. Kimyasal mücadele, çevre ve insan sağlığı problemini, ilaçlara karşı patojenlerin dayanıklılık geliştirmesi problemlerini de beraberinde getirmektedir. Bu da yeni alternatif uygulamaların önemini arttırmaktadır. PGPR, kimyasalların kullanımına bir alternatif olarak bitkisel gelişmeyi ve verimi artırıcı önemli bir role sahiptir. Mücadeledeki bu tür olumsuzluklar dikkate alınarak bu projeyle, antagonist bakterilerin bitki gelişimini artırıcı özellikleri ve Cmm ve FORL 'a karşı biyolojik savaş potansiyelleri üzerine farklı sıcaklık rejimlerinin *in vitro* koşullarda etkisi araştırılmış ve umutvar sonuçlar alınmıştır.

Bitkisel üretim ve zararlıların kontrolünde gelişigüzel kimyasal gübre ve pestisit kullanımı sonuçta toprak sağlığının bozulması, çevre kirlenmesi, patojen ve zararlı popülasyonlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Yetiştiricilik açısından çevre ile uyumlu ve güvenilir bir teknolojiyi olanaklı kılan biyolojik preparatlar benimsenmeli ve etkilerinin güvenilir olması gerekmektedir. Mikroorganizmaların, kimyasal gübreler ve pestisitlerin oluşturduğu problemleri çözmeye alternatif olmaları nedeniyle doğal çiftçilik ve organik tarımda kullanılmaları yaygınlaşmıştır. Yapılan bu çalışmada sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, antagonist bakteriler ile biyolojik mücadelenin etkili bir yöntem olduğu, kullanılan antagonist bakteri izolatlarının gerek biyokontrol gerekse bitki gelişimini teşvik edici etkide, farklı etki mekanizmaları ile hastalıkların gelişimini engellediği belirlenmiştir. Test edilen kökbakterilerinin PGPR aktivitesi ve hastalık etmenlerine karşı biyokontrol aktivitesinin düşük ve yüksek sıcaklık stresinden etkilendiği de bu tez çalışmasının tartışılması gereken bir sonucudur.

Sonuç olarak belirtmek gerekirse, 10 izolatla yapılan bu çalışmada;

- *In vitro* 'da farklı sıcaklıklarda IAA üretimi açısından yapılan testlerde, IAA üretiminin sıcaklık stresinden etkilenmediği saptanmıştır. Düşük ve yüksek sıcaklıklar, optimum sıcaklığa göre fosfataz enzimi üretimini olumsuz etkilediği saptanmıştır. Testlenen kökbakterilerinin optimal sıcaklığa oranla HCN üretimi de sıcaklık stresinden olumsuz etkilenmiştir. CAS agar ortamında 24°C 'de kökbakterilerinde siderofor üretimi gözlenirken, 16°C ve 36°C 'de kökbakterileri hiç siderofor üretememişlerdir. *In vitro* tohum çimlenme testinde ise TR 2/1 ve TR 21/1 numaralı kökbakterilerinin çimlenmeye etki yönünden ön plana çıktığı saptanmıştır.
- *Cmm* ve *FORL* 'a karşı biyokontrol özellikleri yönünden testlenen bakterilerin *in vitro* biyokontrol aktivitesi genel olarak düşük ve yüksek sıcaklıklardan olumsuz etkilenmiştir. TR 21/1 nolu kökbakterisinin *in vitro* 'da hem *Cmm* 'nin gelişimini başarıyla engellemesi hem de 27.2 nolu patojen izolatına karşı olan engelleyici etkisinden dolayı biyokontrol elemanı olarak artı değeri olduğunu ortaya koymuştur.

Bütünleşik ürün yönetimi açısından çalışmamızda kullanılan bakteriler önem taşımaktadır. Çalışmalarımızda etkili bulunan antagonist bakterilerin patojenlere karşı birçok etki mekanizmasına sahip olmaları, laboratuvar koşullarında kolaylıkla geliştirilebilmeleri, diğer kökbakterilerine göre daha yüksek oranda gelişme gösterebilmeleri gibi özellikleri sayesinde tarımda biyolojik savaş ajanı olarak kullanılmaya elverişlidirler.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abak, K., Daşgan, H.Y., Sarı, N.,** 2000, Güneydoğu Anadolu Bölgesinde Domates Yetiştiriciliği. Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları, Adana 4-18s.
- Agrios G.N.,** 2005, Plant Patology. Fifth Edition, Elsevier Academic Press, 922p.
- Akat, S., Özaktan, H.,** 2008, Domates Bakteriyel Leke veya Kanser (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) Hastalığı'na Karşı Biyolojik Mücadele Yöntemleri. Yüksek Lisans Tezi, E.Ü. Fen Bilimleri Ens., Bitki Koruma Anabilim Dalı.
- Akköprü, A., Demir, S. ve Özaktan H.,** 2005, Farklı Fluoresant *Pseudomonas* (Fp) İzolatları Ve Arbusküler Mikorhizal Fungus (Amf) *Glomus intraradices*'in Domates'teki Bazı Morfolojik Parametrelere ve *Fusarium* Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Sacc) Syd. Et Hans.) Etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.), 2005, 15(2): 131-138.
- Almonacit C., Quintero N., Martinez M., Vela M.,** 2000, Determination of Quality Parameters Of Bacterium Inocula Based on Liquid Formulation Elaborated with Strains Producing Indole Acetic Acid (Iaa). Proc.5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Brasil.
- Anonymous,** 2008, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Ark, P.A.,** 1944, Studies on Bacterial Canker of Tomato. Phytopathology, 33 (4): 394 -400.
- Asghar, H.N., Zahir, Z.A. Arshad, M. and Khaliq, A.,** 2002, Relationship between *in vitro* production of auxins by rhizobacteria and their growth-promoting activities in *Brassica juncea* L., Biol Fertil Soil. 35:231–237.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Audenaert, K., Pattery, T., Corneils, P. and Höfte, M.,** 2002, Induction of Systemic Resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: Role of Salicyclic Acid, Pyochelin, and Pyocyanin, *Molecular Plant Microbe Interaction*, 15(11):1147-1156.
- Backman, A. C., Bengtsson, M., and Witzgall, P.,** 1997, Pheromone release by individual Females of Codling Moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 23:807-815.
- 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 Biol. Biochem.* 19: 451-457.
- Berg, G., Kurze, S., Buchner, A., Wellington, E.M. and Smalla, K.,** 2000a, Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonistic to *Verticillium* wilt. *Canadian-Journal-of-Microbiology*. 46(12): 1128-1137.
- Blanco, M.J., and Bakker, Petter, A.H.M.,** 2007, Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp. :exploiting bacterial traits for crop protection, *Antonie van Leeuwenhoek*, 92:367-389.
- Bochow H., Dolej S.,** 1999, Mechanisms of Tolerance Induction in Plants by Root Colonising *Bacillus Subtilis* Isolates. *Modern Fungicides and Antifungal Compounds. 12th Int. Reinhardsbrunn Symposium*, Friedrichroda, Thuringia, Germany, 1998: 411-416.
- Bolwerk A.,** 2005, Cellular Interactions during Biological Control of Tomato Root and Root Rot. Phd Thesis, Leiden Univ., 128 p.
- Bolwerk A., Lugtenberg B.J.J.,** 2006, Visualization of Interactions of Microbial Biocontrol Agents and Phytopathogenic Fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* on Tomato Roots. In: *Pgpr Biocontrol and Biofertilization*. Springer Netherlands, P. 217-231.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Bora T., ve Özaktan H.**, 1998, Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş, Prizma Matbaası, İzmir, 205s.
- Boudyach, E. H., Fatmi, M., Akhayat, O., Benizri, E., Ait Ben Aoumar, A.**, 2001, Selection of Antagonistic Bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and Evaluation of their Efficiency against Bacterial Canker of Tomato, Biocontrol Science and Technology, 11: 141 -149.
- Bozkurt, İ.A., Özaktan, H.**, 2009, Fasulye Bakteriyel Yanıklık Hastalığına (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) karşı Antogonist Bakterilerle Mücadele Olanakları. E.Ü. Fen Bilimleri Ens., Bitki Koruma Anabilim Dalı. Doktora tezi.
- Brammall R.A., A.W. Mckeown**, 1989, An Occurence in Ontario of Fusarium Crown and Root Rot Disease in Field Growing Processing Tomatoes Originating from Multicelled Tray Transplants. Can. J. Plant Pathology, 11: 75-77.
- Bremer, H., G., Karel, K., Bıyıkoglu, N., Göksel ve F. Petrak**, 1952, Türkiye’ nin Parazit Mantarları üzerinde İncelemeler (Schizomycetes, Oomycetes, Ascomycetes 2). İ.Ü Fen Fakültesi Mecmuası, 17: 145 -160.
- Bryan, M. K.**, 1930, Studies on Bacterial Canker of Tomato. J. Agr., 41: 825-851.
- Burr T. J., Schroth M. N., Suslow T.** 1978, Increased Potato Yields by Treatment of Seed Pieces with Spesific Strains of *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. Pytopathology. 68, 1377-1383.
- Cakmakçı, R., Kantar, F., and Sahin, F.**, 2001, Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 164:527 – 531.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Can, C., S. Yucel, N. Korolev and T. Katan**, 2004, First Report of *Fusarium* Crown and Root Rot of Tomato Caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in Turkey. *Plant Pathology*, 96:77-79.
- Cattelan, A.J., Hartel, P. G., Fuhrmann, J. J.**, 1999, Screening for Plant Growth–Promoting Rhizobacteria to Promote Early Soybean Growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 63:1670–1680.
- Chang, R. J., Ries, S. M., and Pataky, J. K.**, 1992a, Effect of Temperature Plant Age, Inoculum Concentration, and Cultivar on the Incubation Period and Severity of Bacterial Canker of Tomato. *Plant Diseases*, 76: 1150-1155.
- Charles, W.B. and Harris, R.E.**, 1972, Tomato Fruit Seed at High and Low Temperature. *Can. J. Plant. Sci.* 52, 497.
- Chen Y., Mei R., Lu S., Liu L., Kloepper J.W.**, 1996, The use of Yield Increasing Bacteria as Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Chinese Agriculture. In: *Management Of Soil Borne Diseases*, R.S. Uthkede and W.K., Gupta (Eds), Ludhiana: Kalyani Publishers: 164-184.
- Chin-A-Woeng, T. F. C., Bloemberg, G. V., Van Der Bij, A. J., Van Den Drift, K. M. G. M., Schripsema, J., Kroon, B., Scheffer, R. J., Keel, C., Bakker, P. A. H. M., Tichy, H.-V., De Bruijn, F. J., Thomas-Oates, J. E., and Lugtenberg, B. J. J.** 1998, Biocontrol by Phenazine-1-Carboxamide- Producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of Tomato Root Rot Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 11:1069-1077.
- Clemente, G., Melegari, A. , Quadrelli, A., Bucki, P., Lemanceau, P., Escande, A.**, 2000, Effect of Geographical and Rhizosphere or Non-Rhizosphere Origins of Fluorescent Pseudomonads on their Suitability to Protect Tomato Seedlings cv 'Earlymech' from *Rhizoctonia solani* Ag-4 Infection. *Proc.5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria*, Brasil.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., and Ait Barka, E.,** 2005, Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. Applied and Environmental Microbiology, 71:4951-4959.
- Çakmakçı, R.,** 2005, Bitki Gelişiminde Fosfat Çözücü Bakterilerin Önemi. S.Ü.Ziraat Fakültesi Dergisi, 19: 93-108.
- Çınar, Ö.,** 1980, Bakteriyel Domates Solğunluğu Hastalığının (*Corynebacterium michiganense*. F.S Jens.)' nın Tanımı, Savaş Yöntemleri ve Etmene Karşı Dayanımlı Çeşitler Üzerine Araştırmalar. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 31, 36s.
- De Weger, L.A., Van Boxtel, R., Van der Burg, B., Gruters, R.A., Geels, F.P., and Schippers, B.,** 1986. Ben Lugtenberg Siderophores and outer membrane proteins of antagonistic, plant growth-stimulating, root colonizing *Pseudomonas* spp. Journal of Bacteriology Feb, 585-594.
- Dekkers L.C., Mulders I.H.M., Phoelich C.C., Chin-A-Woeng T.F.C., Wijffjes A.H.M., Lugtenberg B.J.J.,** 2000, The Sss colonization gene of the tomato- *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS365 can improve colonization of other wild-Type *Pseudomonas* spp. bacteria. Mol. Plant-Microbe Interact 13:1177-1183.
- Dempsey, W.H.,** 1970, Effect of temperature on pollen germination and tube growth. Tomato Genet. Coop. 20, p:15.
- Deniel, F., Renault, D., Tirilly, Y., Barbier, G., Rey, P.,** 2006, A dynamic biofilter to remove pathogens during tomato soilless culture. Agron. Sustain. Dev. 26, 185-193.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dickey, R. S. and Kelman, A.** 1988, Carotovora or Soft Rot Group. In: Laboratory Guide for Identification of the Genera of Bacteria, 2nd Ed. By N. W. Schaad, p: 44-59.
- Duffy B.K. and G. Defago,** 1997, Zinc Improves Biocontrol of by *Pseudomonas fluorescens* and Repress The Production of Pathogen Metabolites Inhibitory to Bacterial Antibiotic Biosynthesis. Phytopathology, 87:1250-1257.
- El Ahmadi, A.B., Stevens, M.A.,** 1979, Reproductive Responses of Heattolerant Tomatoes to High Temperatures. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 104(5): 686-691.
- Fao,** 2009, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org>, Tarımsal Üretim Verileri. (Erişim Tarihi: 20.09.2010)
- Fao,** 2010, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org>, Tarımsal Üretim Verileri. (Erişim Tarihi: 15.05.2011)
- Farley, J.D and Miller T.D.,** 1973, Spread and Control of in Tomato transplants during Clipping. Plant Dis. Repr., 57: 767-769.
- Fatmi, M. and N. W., Schaad,** 1988, Semiselective Agar Medium for İsolation of *Clavibacter michiganensis* subps. *michiganensis* from Tomato Seeds. Phytopathology 78: 121 -126.
- Gerhardson, B., Alstrom,S., and Ramert,B.,** 1985, Plant Reactions to inoculations of Roots with Fungi and Bacteria. Phytopathol.Z., 60: 1019-1025.
- Gleason, M.L., Gitaitis, R.D. and Ricker, M.D.,** 1993, Recent Progress in Understanding and Controlling Bacterial Cancer of Tomato in Eastern Northamerica. Plant Disease 77, 1069 -1076.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Glick, B. R., and Bashan, Y.,** 1997, Genetic manipulation of plant growth promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances*, 15:353-378.
- Grogan, R.G. and J.B. Kendrick,** 1953, Seed Transmission, Mode of Overwintering and Spread of Bacterial Cancer of Tomato Caused by *Corynebacterium michiganense*. *Phytopathology*, 43: 473 (Abstr).
- Gül, A., Tüzel, Y., Tüzel, İ.H., Eltez, R.Z.,** 2003, Ülkemiz Seracılığına Uygun Topraksız Yetiştirme Sistemlerinin Geliştirilmesi Üzerinde Araştırmalar. Türkiye IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Antalya, 416-418.
- Hall, J. A., Pearson, D., Ghosh, S., and Glick, B. R.,** 1996, Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Isr. J. Plant Sci.*, 44:37-42.
- Hartman Jr, Fletcher Jt,** 1991, Fusarium Crown and Root Rot of Tomatoes In The UK. *Plant Pathology* 40, 85±92.
- Hibar K., Daami-Remadi M., Hamada W., El-Mahjoub M.,** 2006, Bio-Fungicides as an Alternative for Tomato Fusarium Crown and Root Rot Control. *Tunisian J. of Plant Protection*, 1: 19-29.
- Hibar K., M. Daami-Remadi, H. Jabnoun-Khiareddine, M. El Mahjoub,** 2005, Effect Inhibiteur *in vitro* et *in vivo* Du *Trichoderma harzianum* Sur *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 9: 163-171.
- Horinouchi, H. A. Muslim, T. Suzuki and M. Hyakumachi,** 2007, *Fusarium equiseti* Gf191 as An Effective Biocontrol Agent against Fusarium Crown and Root Rot of Tomato in Rock Wool Systems. *Crop Protection* (In Press).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Höfte, M., and Bakker, A.H.M., Peter, 2007, Competition for Iron and Induced Systemic Resistance by Siderophores of Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Soil Biology, 12:121-132.

<http://www.fitogen.com>, (Erişim Tarihi:15.03.2011)

<http://www.tarim.gov.tr/Files/uretim/bitkisel/zararlilar/domateshastalikmucadele.pdf>, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, 2010. (Erişim Tarihi:15.03.2011)

Hugh R, Leifson E., 1953, The Taxonomic Significance of Fermentative Versus Oxidative Metabolism of Carbohydrates by Various Gram Negative Bacteria. J. Bacteriol, 66:24-60.

Jarvis, W. R. and R. A. Shoemaker, 1978, Taxonomic Status of *Fusarium oxysporum* Causing Foot and Root Rot of Tomato. Phytopathology 68:1679- 1680.

Jetiyanon, K., Kloepper, J.W., 2002, Mixtures of Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Induction of Systemic Resistance against Multiple Diseases, Biol. Control, 24, 258 -291.

Jones, J. B., J. P. Jones, R. E. Stall and T. A. Zitter, 1991, Compendium of Tomato Diseases. Aps Press, Minnesota, USA.

Kahveci, E. ve A. Gürcan, 1993, Antalya İlindeki Domates Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tespiti. Bitki Koruma Bülteni, Cilt 33, No 3- 4, s:147-151, Temmuz-Aralık.

Kaloo, G., 1988, Breeding Vegetable Crops for Tolerance to Stress Environments. In: Vegetable Breeding. Vol. Crc Press, Boca Raton, Florida, 165-202.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kaloo, G.**, 1991, Breeding for environmental stress resistance in tomato. In: Genetic improvement of tomato (ed. by Kaloo, G.). Monographs on Theoretical and Applied Genetics, Vol. 14. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 153-165.
- Karaca, İ. ve H., Saygılı**, 1977, Domateslerde Bakteriyel Hastalıklar. İzmir Bölge Zirai Mücadele ve Karantina Başkanlığı, Yayın No: 1, İzmir, 22.
- Karahan, O.**, 1965, Muhtelif Sebzelerde Zararlı Hastalık Amilleri ve Mücadeleleri. Tarım Bakanlığı Ankara Zirai Mücadele Enstitüsü Müdürlüğü Sayı: 42, Ankara, 52.
- Keel, C., Voisard, C., Berling, C. H., Kahr, G., and Defago, G.**, 1989. Iron sufficiency, a prerequisite for suppression of tobacco black root rot by *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO under gnotobiotic conditions. Phytopathology 79:584-589.
- Keskin, G., Pezikoğlu, F., Gül**, 2003, Sebze Durum ve Tahmin: Domates Durum 2002, Tae Yayınları, Yayın No: 108, Ankara.
- King, E.O, M.K. Ward and D.E. Raney.**, 1954, Two Simple Media for The Demonstration of Pyocyanin and Fluorescecin, J. Lab. Med. 44:301-307.
- Klement, Z., and Goodman, R. N.**, 1967, The Hypersensitive Reaction to Infection by Bacterial Plant Pathogens. Annual Review of Phytopathology 5:17- 44.
- Kloepper J.W. and Schroth, M.N.**, 1978, Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Radishes. In Proceeding of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Vol. 2, Pgs: 879-882.
- Kloepper J.W., Schroth M.N. and Miller T.D.**, 1980, Effect of Rhizosphere Colonization by Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Potato Plant Development and Yield. Phytopathology 70: 1078-1082.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kloepper, J.W., Beauchamp, C.J.**, 1992, A Review of Issues Related to Measuring Colonization of Plant Roots by Bacteria. *Can. J. Microbiol.* 38: 1219-1232.
- Kloepper, J.W., Reddy, M.S., Rodriguez-Kabana, R., Kenney, D.S., Kokalis-Burelle, N., Martinez-Ochoa, N., Vavrina, C.S.**, 2004a, Application for Rhizobacteria in Transplant Production and Yield Enhancement. *Acta Hort.* 631, 217-229.
- Kloepper, J.W., Schroth M.N.**, 1981a, Relationship of *in vitro* Antibiosis of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria to Plant Growth and Displacement of Root Microflora. *Phytopathology* 71:1020-1024.
- Kloepper, J.W.**, 1993, Plant Growth Promoting Rhizobacteria As Biological Control Agents. In: *Soil Microbiol. Ecology*, F.B., Metting (Ed.), Marcel Dekker Inc. Basel, pgs: 255-274.
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M., Zhang S.**, 2004b, Induced Systemic Resistance and Promotion of Plant Growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94, 11: 1259-1266.
- Knowles, C. J.**, 1976. Microorganisms and cyanide. *Bacteriological reviews* 40, 652-680.
- Komada H.**, 1994, Strategies and Prospects on Biocontrol of Soilborne Disease in Soilless Culture. *Plant Prot.*, 48:413-417.
- Koohakan, P., Ikeda, H., Jeanaksorn, T., Tojo, M., Kusukari, S., Okada, K., Sato, S.**, 2004, Evaluation of the Indigenous Microorganisms in Soilless Culture: Occurrence and Quantitative Characteristics in Different Growing Systems. *Scientia Hort.* 101, 179-188.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Koroleva, O.Y., Krause, G.H. and Bruggemann, W.** 2000, Effects of long-term chilling under excessive light on xanthophyll cycle activity and non-photochemical fluorescence quenching in *Lycopersicon* genotypes. *Journal of Plant Physiology*. 156: 341-349.
- Kovaks, N.**, 1956, Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the Oxidase Reaction. *Nature* (London). Pgs: 178:703.
- Lelliott, R.A., and Stead, D.E.**, 1987, *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Lemanceau, P.H., Steinberg,C., Thomas,D.J.I., Edel,V., Raajmaker, J.M., Alabouvette, C.**, 2000, Natural Soil Suppressiveness to Soil-Borne Diseases. In: *Proc.5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria*, Brasil.
- Levy, A., Rabinowitch, H.D., Kedar, M.**, 1978, Morphological and Physiological Characters Affecting Flower Drop and Fruit Set of Tomatoes at High Temperatures, *Euphytica* 27, pgs:211.
- Louter, J.H., L.V. Edgington**, 1990, Indication of Cross-Protection against *Fusarium* Crown and Root Rot of Tomato. *Can. J. Plant Pathol.*, 12: 283-288.
- Marois, J.J., Mitchell, D.J. and Sonoda, R.M.**, 1981, Biological Control of *Fusarium* Crown and Root Rot of Tomato under Field Condition. *Phytopathology*, 71: 1257-1260.
- Maurhofer M., Hase C., Meuwly P., Metraux J. P., Defago G.**, 1994, Induction of Systemic Resistance of Tobacco Necrosis Virus by the Root-Colonizing *Pseudomonas flourescens* Strain Chao: Influence of The Gaca Gene and Pyoverdine Production. *Phytopathology* 84, 139-146.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Milagres, A.M.F., Machuca, A., and Napoleao, D.,** 1999, Detection of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome Azurol S (CAS) agar plate assay. J. Microbiol. Meth. 37: 1-6.
- Montesinos, E., Bonaterra, A., Badosa, E., Frances, J., Alemany, J., Llorente, I., Moragrega., C.** 2002, Plant microbe Interactions and the New Biotechnological Methods of Plant Disease Control. Int. Microbiology, 5:169–175.
- Nautiyal Shekhar, C.,** 1999, An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms, FEMS Microbiology Letters, 170:265-270.
- Neilands, J.B.,** 1995, Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. J. Biol. Chem. 270(45): 26723-26726.
- Omar, I., T.M. O'Neill and S.Rossal,** 2006, Biological Control of Fusarium Crown And Root Rot of Tomato With Antagonistic Bacteria and Integrated Control when Combined with the Fungicide Carbendazim. Plant Pathhology, 55:92-99.
- Öktem, Y., E .,** 1984, Domates bakteriyel solgunluğu (*Corynebacterium michiganense*) 'nun Ankara İlindeki yayılışı, etmenin toprak ve bitkiden izolasyonu ile bitki artıklarında yaşama süresi üzerine çalışmalar. Türkiye' de Sertifikalı ve Kontrollü Tohumluk Üretim ve Dağıtım Sorunları Simpozyumu, 8 -10 Şubat, s:27, Ege Üniv. Atatürk Kültür Merkezi, İzmir.
- Özaktan, H., Bora, T.,** 1991, Domates Bakteriyel Solgunluğu (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al) ile Savaşım Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Sf:99.
- Özalp., R ve Aktaş., A.,** 2008, Ülkemizde ve Antalya 'da Sebzeciliğin Genel Durumu, Tarımın Sesi, Ziraat Mühendisleri Odası Yayınları, s:12-16.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pal, K.K., Dey, R., Bhatt, D.M. and Chauhan, S.M.,** 2000, Plant Growth Promoting Fluorescent *Pseudomonas* Enhanced Peanut Growth, Yield and Nutrient Uptake, 5th Int. Pgpr Workshop, Argentina.
- Parmar, N., Dadarwal, K.R.,** 2000, Pathogenic Suppressive Abilities of Rhizosphere Bacteria from Healthy Chickpea Plants. In: Proc. 5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Brasil.
- Patten, C.L. and Glick, B.R.,** 2000, Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid Biosynthesis Genes from Plant Growth Promoting Bacteria, 5th Int. PGPR Workshop, Argentina.
- Phae C.S., M. Shoda, N. Kita, M. Nakano, K. Ushiyama,** 1992, Biological Control of Crown and Root and Bacterial Wilt of Tomato by *Bacillus subtilis* Nb22. Ann Phytopathol. Soc. Jpn., 58: 329-339.
- Pieterse C.M.J., Van Pelt J.A., Van Wees S.C.M., Ton J., Leon-Kloosterziel K.M., Keurentjes J.J.B.,** 2001, Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. European Journal of Plant Pathology 107: 51-61.
- Pikovskaya R.E.,** 1948, Mobilization of Phosphorus in Soil in Connection with Vital Activity of Some Microbial Species. Microbiologia, 17: 362-370.
- Piotrowska S.Z., Kozdroj J.,** 1999, Indigenous Microflora Responses to Introduction of Cyanogenic Strains of *Pseudomonas fluorescens* into Soil. Acta Microbiologica Polonica, 48 (1): 73-78. Protection, 375-381.
- Raji, P. and Nair B. Lekha.,** 2003, *Pseudomonas fluorescens* for enhancing plant growth and suppressing sheat blight of rice. VI. PGPR Workshop, 208-211.
- Reddy P.R., Ahmed S.K.M.H. and Suresh D.,** 2003, Impact of Biofertilizer Application on Crop Growth and Yield of Different Crops, 6th Int. PGPR Workshop, India.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Reddy M. S., Ryu, C. M., Zhang, S., Yan, Z., Kenney, D. S., Rodriguez-Kabana, R., Kloepper, J. W.,** 2000, Approaches for Enhancing Pgpr-Mediated ISR on Various Vegetable Transplant Plugs. Proc.5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Brasil.
- Ricker, M. D. and Riedel, R. M.,** 1993, Effect of Secondary Spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on Yield of Northern Processing Tomatoes. Plant Diseases, 77:364-366.
- Rick, C.M. and Dempsey, W.H.,** 1969, Position of the Stigma in Relation to Fruit Setting of the Tomato. Bot. Gaz., 130:180.
- Romeiro, R.S.,** 2000, Preliminary Results of PGPR Research at the Universidade Federal De Viçosa, Brasil, Proc.In: 5th Int. Conf. Plant Path. Bact.
- Rudich, J., Zamski, E., and Ragev, Y.,** 1977, Genotypic Variation for Sensitivity to High Temperature on the Tomato Pollination and Fruit Set. Bot. Gaz., 138:448.
- Salisbury, F.B.,** 1994, The role of plant hormones, In plant-environment interactions, 39-81.
- Sands, D. C.,** 1990, Physiological Criteria-Determinate Tests in Methods in Phytobacteriology. (Edts. Klement, Z.; Rhudolp, K.; Sands, D. C.) Academia Kiado, Budapest, Hungary.
- Sarig S., Okon Y. and Blum A.,** 1992, Effect of Azospirillum brasilense inoculation on growth Dynamics and hydraulic conductivity of *Sorghum bicolor* roots. J. Plant Nutr. 15, 805-819.
- Sasaki, T.,** 1987, Studies on The Ecology of Bacterial Cancer of Tomato. 3. Dissemination of Causal Bacteria from Contaminated Seeds and Seedlings of Plant Protection of North Japan, 38: 40 -42.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sato, R. and T. Araki,** 1974, On the Tomato Root-Rot Disease Occurred under Vinyl- House Condition in Suthern Hokkaido. Ann. Rep.Soc. Plant Prot. N.Jpn. 25:5-13.
- Schippers B.,** 1992, Prospects for Management of Natural Suppressiveness to Control Soilborne Pathogens. Biological Control of Plant Diseases, Progress and Chalelenges for The Future. Nato Ası Series, Serie A: Life Sciences Vol. 230., 21-34., Plenum Press, New York.
- Schwyn,B., and Neilands,J.B.,** 1987, Universal Chemical Assay for Detection and Determination of Siderophores. Anal.Biochem. 160: 47-56.
- Sherf, A. F., and Macnab, A. A.,** 1986, Vegetable Diseases and their control. A Wiley Interscience Publication, New York, 711pp.
- Shoemaker, P. B. and F. Echandi,** 1976, Seed and Plant Bed Treatment for Bacterial Canker of Tomato. Plant Dis. Rep. 60: 163 -166.
- Sivan A., O. Ucko., I. Chet,** 1987, Biological Control of Fusarium Crown Rot of Tomato by *Trichoderma harzianum* under Field Conditions. Plant Dis., 71: 587–592.
- Strider, D.L.,** 1967, Survival Studies with the Tomato Bacterial Cancer Organism. Phytopathology, 57: 1067 -1071.
- Strider, D.L.,** 1969(a), Bacterial Cancer of Tomato Caused by *Corynebacterium michiganense*. A Literature Review and Bibliography. Tech. Bull. N. Carol. Agric. St; No: 193 -110 pp.
- Thomashow L. S., Weller D. M.,** 1988, Role of a Phenazine Antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in Biological Control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. J. Bacterial, 170: 3499-3508.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Thomashow L. S., Weller D. M.**, 1995, Current Concepts in the use of Introduced Bacteria for Biological Control: Mechanisms and Antifungal Metabolites. Plant-Microbe Interactions, Vol 1, 187-235.
- Thornley, M. J.**1960, The Differentiation of Pseudomonas from other Gram Negative Bacteria on the Basis of Arginine Metabolism. J. Appl. Baeteriol. 1: 37-52.
- Thyr, B. D., E., Webb, C. A., Jaworski and T. J., Rateliffe**, 1973, Tomato Bacterial Canker: Control by Seed Treatment. Plant Dis. Rep. 57: 974-977.
- Tigchelaar, E.C.**, 1986, Tomato Breeding. In: Breeding Vegetablecrops (Ed. By Basset, M.J.)Avı Publishing Company, Westport, Connecticut. 135-171.
- Tokgönül, S. ve Çınar, Ö.**, 1999, Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ile mücadelede antagonist bakterilerin kullanım olanakları. Türkiye 4. Biyolojik Mücadele Kongresi, 26-29 Ocak, 1999, Adana.
- Tuik**, 2006, Türkiye İstatistik Kurumu (www.tuik.gov.tr) (Erişim tarihi: 20.07.2010)
- Tuik**, 2009, Türkiye İstatistik Kurumu (www.tuik.gov.tr) (Erişim tarihi:20.07.2010)
- Turan M., Ataoğlu N., Sezen Y.**, 2004, Fosfor Çözücü Bakterinin (*Bacillus megaterium*) Domates (*Lycopersicon esculentum* L.) Bitkisinin Verimi ve Fosfor Alımı Üzerine Etkilesi. Türkiye 3. Ulusal Gübre Kongresi, Tarım-Sanayi-Çevre, 11-13 Ekim 2004, Tokat, Bildiri Kitabı I. Cilt, 939-944.
- Tüzel, Y., Gül, A., Eltez, R.Z.**, 2005, Seracılıkta Çevre Dostu Üretim Teknikleri. Bahçe Bitkileri Tarımında Çevre Dostu Üretim Teknikleri (Ed. A. Gül), Meta Basım, Bornova-İzmir, 111-140.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ulukuş, İ.**, 1982, Elazığ, Diyarbakır ve Mardin İllerinde Domates ve Biberlerde Bakteriyel Hastalıkların Surveyi , Belirtileri, Etmenlerin Tanısı ve En Önemlisine Karşı Korunma Çareleri Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi.
- Urashima, Y., and Hori, K.**, 2003. Selection of PGPR which promotes the growth of spinach. Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 74: 157-162.
- Van Loon, L.C., Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J.**, 1998, Systemic Resistance Induced by Rhizosphere Bacteria. Annu. Rev. Phytopathol. 36:453–483.
- Van Os, E., Alsanius, B.**, 2004, Workshop: Disinfestation of Recirculated Nutrient Solution towards New Approaches. Acta Hort. 644, 604-607.
- Vedder- Weiss D, Jurkevitch E, Burdman S, Weiss D and Okon Y.**, 1999, Root growth, respiration and beta-glucosidase activity in maize (*Zea mays*) and common bean (*Phaseolus vulgaris*) inoculated with *Azospirillum brasilense*. Symbiosis 26, 363-377.
- Venema, J.H., Eekhof, M. and Van Hasselt P. R.**, 2000, Analysis of low temperature tolerance of a tomato (*Lycopersicon esculentum*) cybrid with chloroplast from a more chilling-tolerant *L.hirsutum* accession, Annals of Botany, 85: 799-807.
- Vessey J.K.**, 2003., Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biyofertilizers. Plant and Soil, 255-571-586.
- Vidavera, K.**, 1967, Synthetic and Complex Media for the Rapid Detection of Fluorescence of Phytopathogenic Pseudomonads: Effect of the Carbon Source. Applied Microbiology 15, 1523-1524.
- Vural, H., Eşiyok, D. ve Duman, İ.**, 2000, Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümü Ders Kitabı.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Walker, M.A., Mckersie, B., D.,** 1993, Role of the ascorbate-glutathione antioxidant system in chilling resistance of tomato, *Plant Physiology* 141: 234-239.
- Weaver, M.L. and Timm, H.,** 1989, Screening Tomato for High Temperature Tolerance Through Pollen Viability Tests. *Hortscience* 24: 493-495.
- Wei, G., Kloepper, J. W., and Tuzun, S.,** 1996, Induction of Systemic Resistance to Cucumber Diseases and Increases Plant Growth by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria under Field Conditions. *Phytopathology*, 86:221-224.
- Wei G., Kloepper J.W., Tuzun S.,** 1991, Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81:1508–12.
- Weller, D. M.,** 1988, Biological Control of Soilborne Plant Pathogens in the Rhizosphere with Bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26:379-407.
- Woitke, M., Schnitzler, W.H.,** 2005, Biotic Stress Relief on Plants in Hydroponic Systems. *Acta Hort.* 697, 557-565.
- Yücel S.,** 1989, Domates Fusarium Solgunluğuna (*Fusarium oxysporum* Schlecht. f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyd. and Hans) Karşı Biyolojik Kontrolde Antagonistlerin ve Toprak Solarizasyon Uygulamasının Karşılıklı Etkileşimlerinden Yararlanma Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Adana Zir. Müc. Araş. Enst. Müd. Araştırma Yayınları Serisi Yayın No: 64, Adana, 108s.

ÖZGEÇMİŞ

01.11.1984 yılında Edirne’de doğdu. Orta öğrenimini Lüleburgaz Anadolu Lisesi’nde; lise öğrenimini Eskişehir Anadolu Lisesi’nde tamamladı. 2003 yılında Ege Üniversitesi Ziraat Mühendisliği Bölümüne başladı. 2008 yılında Bitki Koruma Alt Programından mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Bitki Koruma Anabilim Dalı Bakteriyoloji Laboratuvarında yüksek lisans eğitimine başladı.