

170642

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

Mustafa MİRİK

**BİBERDE BAKTERİYEL LEKE ETMENİ *Xanthomonas axonopodis* pv.
vesicatoria'nın TANILANMASI VE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ
RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARI**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA, 2005

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİBERDE BAKTERİYEL LEKE ETMENİ *Xanthomonas axanopodis* pv. *vesicatoria*'NIN TANILANMASI VE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARI

**Mustafa MİRİK
DOKTORA TEZİ**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu tez 02/05/2005 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....
Prof.Dr. Özden ÇINAR
DANIŞMAN

İmza.....
Prof.Dr. Hikmet SAYGILI
ÜYE

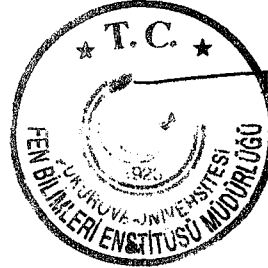
İmza.....
Doç.Dr. Fikrettin ŞAHİN
ÜYE

İmza.....
Doç.Dr. Yeşim AYSAN
ÜYE

İmza.....
Yrd. Doç.Dr. Soner SOYLU
ÜYE

Bu tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No: 907



Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ

Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

**Bu çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: ZF 2003 D-6**

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

ÖZ

DOKTORA TEZİ

BİBERDE BAKTERİYEL LEKE ETMENİ *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın TANILANMASI VE BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİ RİZOBAKTERİLER İLE BİYOLOJİK MÜCADELE OLANAKLARI

Mustafa MİRİK
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman: Prof. Dr. Özden ÇINAR
Yıl:2005, Sayfa:162
Juri : Prof. Dr. Özden ÇINAR
Prof. Dr. Hikmet SAYGILI
Doç. Dr. Fikretin ŞAHİN
Doç. Dr. Yeşim AYSAN
Yrd. Doç. Dr. Soner SOYLU

Doğu Akdeniz Bölgesi biber üretim alanlarındaki hasta bitkilerden izole edilen bakteri izolatları morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, DAS-ELISA, PCR ve yağ asit metil ester analizleri ile *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xav) olarak tanımlanmıştır.

Bu çalışmada, hastalığın kimyasal mücadeleye alternatif olarak bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerle biyolojik kontrol olanakları araştırılmıştır. Adana, Mersin, Osmaniye, Kahramanmaraş ve Hatay illerinde biber üretim alanlarından alınan toprak ve bitki köklerinden 189 adet bakteri izole edilmiştir. Bunlar içerisinde fosfatı indirgeyen 11 bakteri izolatu aday PGPR olarak seçilmiştir. Seçilen 3 bakteri izolatu ve onların kombinasyonları ile saksı ve tarla çalışmaları yapılmıştır.

Bitki büyüme düzenleyici rizobakteri izolatları ile uygulama yapılan bitkilerde hastalık şiddeti %65 oranında azalmış ve değişen oranlarda bitki büyümesi (bitki boyu, gövde çapı, bitki yaş ağırlığı, bitki kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök kuru ağırlığı, verim, meyve boyu ve meyve sayısı) artmıştır. Bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler yağ asit metil ester analizi ile *Bacillus megatarium* olarak tanımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: bakteriyel leke hastalığı, Das-ELISA, PCR, biyolojik kontrol, antagonist.

ABSTRACT

PhD THESIS

IDENTIFICATION OF *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, CAUSAL AGENT OF BACTERIAL SPOT DISEASE OF PEPPER, AND STUDIES ON BIOLOGICAL CONTROL OF THE DISEASE BY PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA

Mustafa MİRİK

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

Supervisor: Prof. Dr. Ozden CINAR

Year:2005, Page:162

Jury : Prof. Dr. Ozden CINAR

Prof. Dr. Hikmet SAYGILI

Associated Prof. Dr. Fikretin SAHIN

Associated Prof. Dr. Yesim AYSAN

Assistant Prof. Dr. Soner SOYLU

Bacterial strains, isolated from diseased pepper plants in commercial fields of the eastern Mediterranean region in Turkey, identified as *Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria* (Xav) by physiological, biochemical, DAS-ELISA, PCR and FAMES analysis.

In the present study, possibility of biological control of the disease by plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) was investigated as an alternative method to chemical applications. 187 bacterial strains were isolated from soil and pepper roots in Adana, Mersin, Osmaniye, Kahramanmaraş and Hatay cities. Eleven phosphate solubilizing bacteria were selected as candidate PGPR. Selected three bacterial strains and their combination as PGPR were used in pot and field experiments.

PGPR applications significantly reduced disease incidence on pepper plants (average 65%), and increased plant growth (plant length, stem diameter, plant weight, dried weight, root length, root dried weight, yield, fruit length and fruit weight) at different rates compared with control. PGPR strains used in this study were identified as *Bacillus megaterium* by FAME analysis.

Key words: bacterial spot disease, DAS-ELISA, PCR, biological control, antagonist.

ÖNSÖZ

Biber bakteriyel leke hastalık etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xav)'ın varlığı 1921 yılından beri bilinmektedir. Ülkemizde ise ilk olarak Karaca ve Saygılı (1982) tarafından domateslerde, Aysan ve Çınar (2001) tarafından biberlerde varlığı saptanan hastalık özellikle Doğu Akdeniz Bölgesi salçalık biber üretim alanlarında büyük sorun olmaktadır.

Hastalık etmeni biber ve domates tohumlarının yanı sıra, toprakta infekteli bitki kalıntıları ve bazı *Solanacea* familyasına ait bitki türlerinde epifitik ve endofitik olarak, yabancı otlarda ise epifitik olarak canlılığını sürdürmektedir. Kimyasal mücadelesi zor olan etmenin kısa sürede kimyasallara karşı dayanıklılık kazanması hastalık ile mücadelede başarı şansını azaltmaktadır. Bu olumsuzluklar göz önüne alındığında kimyasal mücadeleye alternatif yöntemlerin araştırılması zorunlu hale gelmiştir. Yapılan bu doktora çalışmasında tipik hastalık belirtileri gösteren biber bitkilerinden etmenin izolasyonu, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal, DAS-ELISA, PCR ve yağ asit metil ester analizi ile tanısı yapılmıştır. Topraktan izole edilen rizobakterilerin hastalık etmenini baskı altına almada biyolojik kontrol ajanları olarak kullanılma olanakları ve bu ajanların bitki büyümesine olan etkileri araştırılmıştır. Rizobakterilerin biber bakteriyel leke hastalığını baskı altına alabileceği ve bitki büyümesine olumlu etkilerinden dolayı ürün artırıcı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Mustafa MİRİK

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve bana “Biberde Bakteriyel Leke Etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*’nın Tanınması Ve Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler İle Biyolojik Mücadele Olanakları” konulu Doktora Tezini veren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özden ÇINAR’a teşekkür ediyorum.

Doktora Tez İzleme Komitesi üyelerinden Sayın Prof. Dr. Hikmet SAYGILI ve Sayın Doç. Dr. Yeşim AYSAN’a yapıcı ve yönlendirici fikirleriyle katkıda bulundukları için sonsuz teşekkürler.

Doktora çalışmam içerisinde bulunan yağ asit metil ester analizleri için Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve engin deneyimlerinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. Fikretin ŞAHİN’e ve Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığına şükranlarımı sunarım.

Doktora Tezimi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda tamamlamamı sağlayan Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi ve tüm bölüm olanaklarından yararlandırıan Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm Başkanlığı’na, maddi destek veren Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne (Proje no:ZF 2003 D6) ve Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)’na (Proje no:TOGTAG 2984) en içten teşekkürlerimi sunarım.

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

Kahramanmaraş İlinde biber tarlalarının incelenmesinde yardımlarını gördüğüm Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Öğretim Elemanlarından Arş. Gör. Mustafa KÜSEK’e, Kahramanmaraş Pamuk Araştırma Enstitüsünden Zir. Yük. Müh. Fatma VAKKASOĞLU’na ve Hatay İlinde biber tarlalarının incelenmesinde yardımlarını gördüğüm Hatay Tarım İl Müdürlüğüne teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında emeği geçen değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Nilüfer YILDIZ'a, Arş. Gör. Raziye ÇETİNKAYA-YILDIZ'a, Zir. Müh. Hacer TEKMAN'a, Zir. Müh. Hatice ÖRNEK'e ve Zir. Müh. Sencen ÜNLÜ'ye ve tarla denemelerim sırasında emekleriyle katkıda bulunan Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama Parseli alışanlarından Talip OKUTUCU, Bekir DAL, Cemal YILDIZ'a çok teşekkür ederim.

Manevi desteği ve sevgisiyle her zaman yanımda olduğunu hissettiğim ve benim için sonsuz motivasyon kaynağı olan sevgili eşim Suzan MİRİK ve oğlum Burak Gökberk MİRİK'e sonsuz teşekkürler...



İÇİNDEKİLER	<u>Sayfa No</u>
ÖZ	I
ABSTRACT	II
ÖNSÖZ	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
SİMGELER VE KISALTMALAR	XVI
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> (Xav) ile İlgili Çalışmalar	5
2.1.1.İsimlendirilmesi	5
2.1.2. Türkiye ve Dünyadaki Yaygınlığı	7
2.1.3.Tanısı	8
2.1.4.Irkları	10
2.1.5.Epidemiyolojisi	11
2.1.6.Mücadelesi	13
2.2.Bitki Büyüme Düzenleyici Rhizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) ile İlgili Çalışmalar	17
3.MATERYAL VE METOD	25
3.1.Materyal	25
3.2.Metod	25
3.2.1.Biber Üretim Alanlarının Surveyi	25
3.2.2. Biber Bakteriyel Leke Etmeninin İzolasyonu	25
3.2.3.Biber Bitkilerinin Yetiştirilmesi	26
3.2.4. Patojenin ml'deki Hücre Sayısının Belirlenmesi	26
3.2.5. Xav'nın Tanılama Testleri	26
3.2.5.1. Koloni Gelişimi	26
3.2.5.1.(1).YDC Besi Yerinde Gelişim	26
3.2.5.1.(2).Nutrient Agar Besi Yerinde Gelişim	27

3.2.5.1.(3).Tween B Besi Yerinde Gelişim	27
3.2.5.1.(4).CKTM Besi Yerinde Gelişim	27
3.2.5.2.Potasyum Hidroksit Testi (KOH).....	27
3.2.5.3.Oksidaz Testi.....	28
3.2.5.4.Oksidasyon/ Fermantasyon Testi (O/F)	28
3.2.5.5.Nişasta Hidrolizasyonu.....	28
3.2.5.6.Katalaz Testi.....	29
3.2.5.7.Hareketlik Testi	29
3.2.5.8.Levan Oluşumu	29
3.2.5.9.Pektolitik Aktivite Testi	30
3.2.5.10.Tüttünde Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu (Hypersensitive Reaction-HR).....	30
3.2.5.11.Patojenite Testleri.....	30
3.2.5.12.Xav İzolatlarının Streptomisin ve Bakır Sülfata Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi	31
3.2.6.Moleküller Tanı	31
3.2.6.1.Xav İzolatlarının DAS-ELISA Testi ile Tanısı.....	31
3.2.6.2.Xav İzolatlarının PCR Tekniğı ile Tanısı	32
3.2.6.3..Xav İzolatlarının Yağ Asit Profillerinin Belirlenmesi.....	35
3.2.7.PGPR'lerin İzolasyonu ve Tanısı.....	36
3.2.8.Seçilen PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etkilerinin Testlenmesi.....	38
3.2.9.PGPR'in Xav Üzerine Etkisi	39
3.2.10.PGPR İzolatlarının İnfekteli Bitkilerde Bitki Gelişimine Etkisi.....	41
3.2.11.PGPR'lerin Sağlıklı Biber Bitkilerinde Bitki Büyümesi Üzerine Etkisi.....	41
4.BULGULAR VE TARTIŞMA	44
4.1.Biber Üretim Alanlarının Survey Sonuçları	44
4.2.Bakteri İzolatlarını Tanılama Test Sonuçları	47
4.2.1. Koloni Gelişimi	52
4.2.1.1.YDC Besi Yerinde Gelişim.....	52
4.2.1.2.Nutrient Agar (NA) Besi Yerinde Gelişim.....	52

4.2.1.3.Tween B Besi Yerinde Gelişim	53
4.2.1.4.CKTM Besi Yerinde Gelişim.....	53
4.2.2.Potasyum Hidroksit Testi	54
4.2.3.Oksidaz Testi.....	54
4.2.4.Oksidasyon / Fermantasyon Testi (O/F)	55
4.2.5.Nişasta Hidrolizasyonu.....	55
4.2.6.Katalaz Testi.....	55
4.2.7.Hareketlilik Testi.....	56
4.2.8.Levan Oluşumu	56
4.2.9.Pektolitik Aktivite	57
4.2.10.Tüttünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction, HR) Testi.....	57
4.2.11.Patojenite Testleri.....	58
4.2.12.Xav İzolatlarının Streptomisin ve Bakır Sülfata Karşı Dayanıklılık.....	62
4.2.13.Moleküler Tanı	66
4.2.13.1.Xav İzolatlarının DAS-ELISA Testi.....	66
4.2.13.2.Xav İzolatlarının PCR Testi.....	68
4.2.13.3.Xav İzolatlarının Yağ Asit Analizleri	70
4.3.PGPR'lerin İzolasyon ve Tanı Sonuçları	73
4.4.Seçilen PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etki Testlerinin Sonuçları.....	80
4.5.PGPR'in Xav Üzerine Etki Sonuçları.....	82
4.6.PGPR İzolatlarının İnfekteli Bitkilerde Bitki Gelişimine Etki Sonuçları	85
4.7.PGPR İzolatlarının Sağlıklı Biber Bitkilerinde Bitki Büyümesi Üzerine Etki Sonuçları	103
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	131
KAYNAKLAR.....	134
ÖZGEÇMİŞ	156
EKLER.....	157

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1	PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımının içeriği.....	33
Çizelge 3.2	PCR işlemi için kullanılan programı.....	34
Çizelge 4.1	2002 üretim yılında Doğu Akdeniz Bölgesi biber üretim alanlarına yapılan survey sonuçları.....	44
Çizelge 4.2	2002, 2003 ve 2004 üretim yıllarında Adana biber üretim alanlarına yapılan survey sonuçları.....	46
Çizelge 4.3	Çalışmada kullanılan bakteriyel leke <i>Xav</i> izolatlarının listesi.....	47
Çizelge 4.4	Elde edilen <i>Xav</i> izolatları ve bunlara yapılan testlerin sonuçları.....	59
Çizelge 4.5	<i>Xanthomonas axanopodis</i> pv <i>vesicatoria</i> izolatlarının streptomisin ve bakır sülfata karşı dayanıklılıkları.....	63
Çizelge 4.6	ELISA plate okuyucusunda <i>Xav</i> izolatlarının okunan absorbans değerleri (ölçümler 405 nm'de yapılmıştır).....	67
Çizelge 4.7	Yağ asit analizi sonucu izolatlarının yağ asitleri ve bulunma oranları (%).....	72
Çizelge 4.8	Topraktan elde edilen aday PGPR izolatları ve yapılan testlerin sonuçları.....	73
Çizelge 4.9	PGPR özellikteki <i>Bacillus megaterium</i> izolatlarının yağ asit analizi sonucu oluşan yağ asit profilleri.....	77
Çizelge 4.10	NBRIP ortamında gelişen PGPR izolatlarının spektrofotometrede absorbans değerleri (400nm).....	80
Çizelge 4.11	PGPR izolatlarının <i>Xav</i> 'ya karşı petride oluşturukları antagonistik ve siderefor testinde engelleme zonları (cm)....	80
Çizelge 4.12	PGPR izolatlarının biberde bakteriyel leke hastalığının şiddetine etkisi	83
Çizelge 4.13	PGPR izolatlarının infekteli biber bitkilerinin saksıda bitki boyuna, bitki yaş ağırlığına, kök kuru ağırlığına, kök, uzunluğuna ve gövde çapına etkisi	85

Çizelge 4.14	PGPR izolatlarının infekteli bitkilerde tarlada bitki büyümesine etkisi	93
Çizelge 4.15	Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde bulunan sağlıklı biber bitkilerinde bitki büyümesine etkisi	104
Çizelge 4.16	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin meyve sayısına etkisi.....	112
Çizelge 4.17	Tarlada bulunan sağlıklı biber bitkilerine kök uygulaması olarak verilen PGPR izolatlarının bitki büyümesine etkisi ..	120



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1	Biber üretim alanlarında toprak örneklerinin alındığı bitki.....	36
Şekil 3.2	Aday PGPR izolatlarının ve hastalık etmeninin petri kabında ekim deseni.....	39
Şekil 4.1	Mersin, Adana ve Hatay illerinde biberin karığa ekim şekli....	45
Şekil 4.2	Kahramanmaraş ilinde biberlerin tavalara ekim şekli.....	45
Şekil 4.3	Xav'ın oluşturduğu yaprak simptomları.....	49
Şekil 4.4	Xav'ın oluşturduğu yaprak simptomları.....	49
Şekil 4.5	Xav'ın oluşturduğu yaprak (a) ve gövde (b) simptomları.....	50
Şekil 4.6	Xav'ın oluşturduğu gövde simptomu.....	50
Şekil 4.7	Xav'ın oluşturduğu meyve simptomu.....	51
Şekil 4.8	Güneşe maruz kalan meyvelerde sekonder meyve çürüklükleri	51
Şekil 4.9	XCVA1-2 bölge izolatının YDC besi yerindeki koloni gelişimi	52
Şekil 4.10	XCVA1-2 bölge izolatının NA besi besi yerinde koloni gelişimi.	52
Şekil 4.11	XCVA1-2 bölge izolatının Tween B besi yerinde oluşturduğu koloni morfolojisi	53
Şekil 4.12	XCVA1-2 bölge izolatının CKTM besi yerinde oluşturduğu koloni morfolojisi	53
Şekil 4.13	KOH testinde Gram negatif kültürlerinin oluşturduğu sümüksü yapı	54
Şekil 4.14	Solda oksidaz pozitif (+), sağda negatif (-) olan reaksiyon	54
Şekil 4.15	Referans kültür (GSPB 224) (a) ve XCVA4-4 (b) nişastayı hidrolize etmesi.....	55

Şekil 4.16	<i>Xav</i> izolatu (a) ve <i>Erwinia amylovora</i> 'nın (b) levan oluşumu...	56
Şekil 4.17	Patateste pektolitik aktivite (+: <i>Erwinia caratovora</i> subsp <i>caratovora</i> (GSPB 1405), -:XCVA2-1).....	57
Şekil 4.18	<i>Xav</i> test izolatının (a) ve referans kültürün (GSPB 224) (b) tütün yaprağında oluşturduğu aşırı duyarlılık semptomu	57
Şekil 4.19	Bursa Yağlık Biber çeşidinde yapılan patojenite testi sonucu oluşan yaprak lekeleri	58
Şekil 4.20	Salbaş 2003-2 ve XCVA4-1 kodlu test izolatlarının SPA besi yerinde bakır sülfat dayanıklılık testi	65
Şekil 4. 21	<i>Xav</i> izolatlarına yapılan DAS-ELISA sonucu ELISA plakalarının görüntüsü.	66
Şekil 4.22	<i>Xav</i> izolatlarına yapılan DNA izolasyonu sonucu %1'lik agaroz jelde bantların görüntüsü	68
Şekil 4.23	RST 9 ve RST 10 primerleri kullanılarak yapılan PCR testi sonucunda elde edilen ürünlerin agaroz jelde görüntüsü.....	69
Şekil 4.24	RST 9 ve RST 10 primerleri kullanılarak yapılan PCR sonucu elde edilen ürünlerin agaroz jelde görüntüsü.....	69
Şekil 4. 25	Yağ asit analizinin cluster analizi sonucu izolatların benzerlik oranları	71
Şekil 4.26	PGPR izolatlarının NBRIP besi yerinde fosfat indirgemesi sonucu oluşan renk değişimi (Sağda negatif kontrol, solda bakteri ile aşılınmış besi yerleri).....	79
Şekil 4.27	Petride ikili kültür antagonistik etki denemesinde M3-1 izolatının oluşturduğu engelleme zonu.....	81
Şekil 4.28	Petride ikili kültür siderefor etki denemesinde H8-8 izolatının oluşturduğu engelleme zonu.....	81
Şekil 4.29	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda ve tarla koşullarında biber bakteriyel leke hastalığının şiddetine olan etkisi	83

Şekil 4.30	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin bitki boyuna olan etkisi.....	85
Şekil 4.31	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi.....	87
Şekil 4.32	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin bitki yaş ağırlığına olan etkisi.....	88
Şekil 4.33	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin bitki kuru ağırlığına olan etkisi.....	89
Şekil 4.34	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin kök uzunluğuna etkisi.....	90
Şekil 4.35	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin kök kuru ağırlığına olan etkisi.....	91
Şekil 4.36	2003 yılı tarla denemesinin görüntüsü	92
Şekil 4.37	2003 yılı tarla denemesinde bir parselin görüntüsü.....	92
Şekil 4.38	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin bitki boyuna olan etkisi....	94
Şekil 4.39	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi.....	95
Şekil 4.40	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin bitki yaş ağırlığına olan etkisi.....	95
Şekil 4.41	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin bitki kuru ağırlığına olan etkisi.....	96
Şekil 4.42	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin kök uzunluğuna olan etkisi.....	97
Şekil 4.43	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin kök kuru ağırlığına olan etkisi.....	98

Şekil 4.44	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin verime olan etkisi.....	99
Şekil 4.45	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin meyve boyuna olan etkisi...	100
Şekil 4.46	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin meyve sayısına olan etkisi...	101
Şekil 4.47	Klima odasında 2002 Ocak-Mayıs ayları arasında yapılan viyol denemesinin görünüşü.....	103
Şekil 4.48	Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde bitki boyuna olan etkisi.....	105
Şekil 4.49	Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde gövde çapına olan etkisi.....	106
Şekil 4.50	Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde yaprak sayısına etkisi.....	107
Şekil 4.51	Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde yaprak alanına olan etkisi.....	108
Şekil 4.52	Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatların viyolde bitki kuru ağırlığına etkisi.....	109
Şekil 4.53	Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde kök kuru ağırlığına olan etkisi.....	110
Şekil 4.54	Klima odasında 2002 Mayıs Ağustos ayları arasında yapılan saksı denemesinin görünüşü.....	111
Şekil 4.55	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin bitki boyuna olan etkisi.....	114
Şekil 4.56	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi.....	115
Şekil 4.57	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin bitki yaş ağırlığına olan etkisi.....	115
Şekil 4.58	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin bitki kuru ağırlığına olan etkisi.....	117

Şekil 4.59	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin kök uzunluğuna olan etkisi..	118
Şekil 4.60	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin kök kuru ağırlığına olan etkisi.....	119
Şekil 4.61	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin boyuna olan etkisi.....	121
Şekil 4.62	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi.....	122
Şekil 4.63	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin yaş ağırlığına olan etkisi.....	123
Şekil 4.64	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin kuru ağırlığına olan etkisi.....	124
Şekil 4.65	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin kök uzunluğuna olan etkisi.....	125
Şekil 4.66	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin kök kuru ağırlığına olan etkisi.....	126
Şekil 4.67	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin verime olan etkisi.....	127
Şekil 4.68	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin meyve boyuna olan etkisi.....	128
Şekil 4.69	Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin meyve sayısına olan etkisi.....	128

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

DAS-ELISA: Double Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

DNA: Deoksiribonukleik asit

ECW: Early Carwonder

EPS: Ekstraselular polisakkarit

FAME: Fatty acid methyl ester

g: Gram

GSPB: Göttingen Sammlung Phytopathogener Bakterien

HR: Hypersensitive reaction (Aşırı duyarlılık reaksiyonu)

ISR: Induced systemic resistance

JA: Jasmonoik asit

KB: King's medium B

KOH: Potasyum hidroksit

l: Litre

LPS: Lipopolisakkarit

M: Molar

Mg: Magnezyum

mg: miligram

ml: Mililitre

mM: Milimolar

N: Normalite

NaCl: Sodyum Klorür

NaOCl: Sodyum Hipoklorit

NaOH: Sodyum Hidroksit

NBRIP: National Botanical Research Institute's phosphate growth medium

nm: nanometre

°C: Santigrat derece

PBS: Phosphate buffered saline

PCR: Polymerase chain reaction

PGPR: Plant growth promoting rhizobacteria (Bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler)

PR: Pathogenesis Related (Patojenite ile ilgili)

pv: pathovar

rpm: Rounds per minute (dakikada dönüş hızı)

SA: Salisilik asit

SAR: Systemic Acquired Resistance

SDS: Sodyum Dodecyl Sülfat

SPA: Sukroz Peptone Agar

spp.: species (türler)

Xav: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*

Xcv: *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*

XCVA4-4: *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* 'nın bölge izolatu

YDCA: Yeast extract kalsium karbonat agar.

µg: Mikro gram

µm: Mikro litre

1.GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.) gerek serada gerekse açık alanda taze tüketim ve çeşitli sofralık yan ürünlerin üretimi amacıyla çok yaygın olarak yetiştirilen, iç tüketim ve ihracata yönelik önemli bir ürünümüzdür. 2002 verilerine göre, ülkemizde 1.750.000 ton biber üretimi yapılmaktadır. Meyvesi yenen sebzeler içerisinde biber, %9'luk bir üretim payına sahiptir (Anonymous, 2002).

Ülkemiz için önemli bir gelir kaynağı olan biberin fitopatolojik açıdan en önemli sorunlarından birisi, *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Xav)'nın neden olduğu bakteriyel leke hastalığıdır (Aysan ve Şahin, 2003).

Hastalığın biber bitkisinin yaprak, gövde ve meyvelerinde dairesel küçük çaplı (1-5mm) lekelerin oluşmasına neden olduğu, genç yaprak ve meyvelerin, olgun yaprak ve meyvelere göre daha duyarlı olduğu saptanmıştır. Biberde bakteriyel leke hastalığının ilk belirtilerinin yaprak kenarlarında ortaya çıktığı, yaprak ve meyve sapı, taç yaprakların hastalığa en duyarlı yerler olduğu, yaprakta önce küçük sarı-yeşil, etrafı sarımsı bir hale ile çevrili lekelerin, nemli koşullarda su emmiş alanlar şeklini aldığı, daha sonra lekelerin birleşerek merkezi kahverengi-siyah olan genel bir sarılık belirtisi meydana getirdiği gözlenmiştir. Bazı durumlarda nekrotik alanları kuruyarak dökülmekte ve yapraklar sanki saçma ile delinmiş bir görünüm almaktadır. Yapraklar erken dönemde infektelendiğinde deforme olur ve çoğunlukla etkilenmiş yaprakların kenarları ince bir nekrotik doku bandı ile çevrilir. Biber yaprağındaki düzensiz ve şekilsiz nekrotik alanlara lekeler karşın gövde ve meyve lekeleri dairesel ve düzenli lekeler şeklindedir. Hastalık gövdede önce hafif sulu ve sarımsı, zamanla koyu kahverengi ve üzeri derin çatlaklar oluşmuş nekrotik alanlar şeklinde ortaya çıkar. Meyvedeki bakteriyel lekeler başlangıçta küçük, kabarcık benzeri ve düzenlidir, daha sonra kahverengileşir ve siğilli bir görünüm alarak meyvede şekil bozukluklarına neden olurlar. Hastalık etmeni genç meyvelerde symptom oluşturmada meyve dökümüne neden olabilir (Nayudu ve Walker, 1960; Goode ve Sasser, 1980; Bashan ve Okon, 1986; Lelliott ve Stead, 1987; Stall, 1993; Ritchie, 1996; Şahin, 1997; Aysan ve Çınar, 2001).

Xav'nin biberlerde patojen olduğu ilk kez 1921 yılında Güney Afrika'da saptanmıştır (Gardner ve Kendrick, 1923). Hastalığın varlığı daha sonra yazları yağmurlu ve sıcak iklime sahip biber yetiştirilen pekçok ülkede rapor edilmiştir (Cook ve Stall, 1982)

Ülkemizde ilk kez domateste Çanakkale ilinde (Karaca ve Saygılı, 1982), biberde ise Adana, Osmaniye (Aysan ve Çınar, 2001; Aysan ve Şahin, 2003), Antalya, Erzurum, Erzincan ve Artvin illerinde (Şahin, 2001).

Biber bakteriyel leke hastalığı bitki büyümesini yavaşlatıp, meyve verimini ve kalitesini düşürerek zarar meydana getirir. Hastalığın yoğun olarak ortaya çıktığı durumlarda, meyve ağırlığında %52'ye varan ürün kayıplarına neden olduğu, hastalık şiddetine ve bitki yaşına bağlı olarak verim kaybının genç bitkide olgun bitkiye göre daha fazla olabileceği bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Cook ve Stall, 1982; Cook ve Baker, 1983; Jones ve ark, 1986; Pohronezny ve ark, 1992).

Bitki hastalıkları; konukçu, çevre ve patojen arasındaki ilişkilere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Biber bakteriyel leke hastalığının ortaya çıkmasında ve yayılmasında bitki yüzeyindeki nemin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Hastalık tohum ve toprak kökenlidir. Hastalık çevrede kendiliğinden büyüyen konukçu bitkiler üzerinde, toprakta ve bitki artıklarında canlılığını sürdürmektedir. Hastalıkla mücadelede hastaliksız tohum kullanımı şart olmasına rağmen konukçu bitkilerden gelen hastalık kaynağının da elimine edilmesi gereklidir (Saygılı ve ark, 1985; Stall, 1993). Tohumları patojenden arındırmada Bronopol, NaOCl ve sıcak su uygulamalarının, topraktan eliminasyonu veya baskı altına alınmasında ise toprak solarizasyonu etkili olmaktadır (Çınar ve Aysan,1995). Biber yetiştiriciliğine elverişli bölgelerde biberin her yıl aynı yere ekim yapıldığından inokulum sürekli olarak toprakta artmaktadır. Bu nedenle hastalıkla mücadelede en az 3 yıllık bir ürün rotasyonu yapılması gerekmektedir (Stall, 1993).

Her ne kadar kimyasal mücadele amacıyla bakır içerikli kimyasalların kullanımı önerilse de hastalığın kontrolünde yeterli bir başarı sağlanamamaktadır. Ayrıca kimyasallara karşı patojenin dayanıklılık geliştirebilme olasılığı kimyasal mücadele uygulamasını zorlaştırmaktadır (Ward ve O'Garro, 1992). Bakteriyel

hastalıklarla mücadelede ekim nöbeti, hastalıksız tohum ve fide kullanımı, sanitasyon, rotasyon, dayanıklı varyetelerin yetiştirilmesi, kimyasal mücadele ve biyolojik mücadele yöntemlerinin kombine olarak kullanılması başarı şansını artırmaktadır (Stall, 1993; Kotan, 1998). Ancak yüksek inokulum ve hastalığın gelişimi için uygun çevre koşulları bu etkiyi azaltmaktadır. Bu nedenden alternatif yöntemlerin ortaya konması ve bunların pratiğe aktarılması gerekmektedir.

Son yıllarda araştırmacılar tarafından bitki hastalıklarına karşı bitki dayanıklılığının artırılabilceği düşüncesi ortaya atılmıştır. Bitkilerde fungus (hücre duvarı parçaları, ölü spor kültürü, patojenik olmayan ırklar) (Dempsey ve Klessig, 1995) ve bakteri (EPS, LPS, siderefor, hücre duvarı parçaları, patojenik olmayan izolatlar) (Burr ve ark, 1978; Kloepper ve ark, 1992) gibi biyotik veya salisilik asit (Malamy ve Klessig, 1992), jasmonoik asit (van Loon ve ark, 1998), etilen (Pieterse ve ark, 2001), bazı herbisitler (Yang ve ark, 1997) gibi abiyotik uyarıcılarla hastalıklara karşı dayanıklılığın teşvik edildiği belirlenmiştir. Biyotik ve abiyotik etmenlerle hastalıklara karşı üretim materyallerinin korunması üzerine yapılan laboratuvar, kontrollü koşullarda saksı ve sera denemelerinde başarı oldukça yüksektir. Ancak arazi çalışmalarında kontrol edilemeyen çevre koşullarından dolayı başarı şansı azalmakla beraber ümit var sonuçlar elde edilmiştir (Wei ve ark, 1996). Ayrıca bitkilerde dayanıklılığı teşvik etmek için kullanılan yöntemlerin maliyetinin kimyasallara göre düşük olması ve yetiştirilen üründe fitotoksite ve kalıntı gibi olumsuz etkilerinin olmaması bir avantaj olarak değerlendirilmelidir (Ozeretskovskaya, 1995). Biyotik etmenler ile kazandırılan sistemik dayanıklılık hastalık etmeni ile bitki temas etmeden önce uygulandığında bakırlı bileşiklerin uygulanmasından daha yüksek ve daha uzun süren bir koruma sağlamaktadır (Kuc, 2001). Sistemik kazanılmış dayanıklılık, dayanıklılık süresinin uzun olması, fungal, bakteriyel ve viral hastalıkların tamamına uygulanabilir olması ve aynı anda birçok mekanizmayı harekete geçirmesi gibi pek çok avantajları sayılabilir (Lui ve ark, 1995). Ayrıca hastalık etmenlerinin kimyasallara karşı dayanıklılık kazanmaları söz konusu olmasına rağmen sistemik kazanılmış dayanıklılıkta böyle bir durum söz konusu değildir.

PGPR'ler hastalıklara dayanıklılık sağladığı gibi bitkide de büyümeyi artırır.

Bu bakteriler toprakta bulunan fosfatı bitkinin olabileceği forma dönüştürüler. Bitkiler toprakta bulunan fosfatı indirgeyip bünyelerine alamazlar. Toprağa fosfat içerikli gübreler uygulandığında bitki bunu alır ancak kısa bir süre sonra kalan fosfat tekrar alınamayacak forma dönüşür. Toprakta bulunan fosfatı indirgeyen mikroorganizmalar fosfatı bitkinin kullanabileceği forma dönüştürerek büyümesinde artış sağlanır (Nautiyal, 1999). Fosfatı indirgeyen bu bakteriler ayrıca bitkide hastalıklara karşı da dayanıklılığı teşvik eder (de Freitas ve ark, 1997). Bu bağlamda çalışmamızda topraktan izole edilen bakteriler içinde NBRIP besi yeri yardımıyla fosfatı indirgeyen bakteriler seçilmiş ve PGPR olarak kullanılmıştır. Bu hastalığın mücadelesinde fosfatı indirgeme özelliğindeki bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerin (Plant Growth Prommoting Rhizobacteria-PGPR) kullanım olanakları laboratuvar, saksı ve tarla çalışmalarıyla araştırılmıştır.

Ayrıca çalışmada; Doğu Akdeniz Bölgesinde salçalık biberin yoğun olarak geliştirildiği Adana ve Osmaniye illerinde *Xav*'nın neden olduğu bakteriyel leke hastalığına bakırlı preparatların etkisiz olduğu ve yeterli kontrolü sağlamadığı gözlenmiştir. Ayrıca bölgeden izole edilen patojen bakteri izolatlarının bakıra ve streptomisine dayanıklılık düzeyleri saptanmıştır. İzole edilen bu izolatlar morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testleri içeren klasik testlerin yanında serolojik (DAS-ELISA), moleküler (PCR) ve yağ asit metil ester (FAME) analizleriyle tanıları yapılmıştır. Başarılı PGPR izolatları da LOPAT (L: levan oluşumu, O: oksidaz reaksiyonu, P: patatestte pektolitik aktivite, T: tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu) ve FAME analizleriyle tanılanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1.*Xanthomonas axonopodis* pv *vesicatoria* (Xav) ile İlgili Çalışmalar

2.1.1.İsimlendirilmesi

Biberde bakteriyel leke hastalığı ilk kez 1921 yılında Doidge tarafından Güney Afrika'da saptanmış ve etmen *Bacterium vesicatorium* olarak isimlendirmiştir. Aynı yıllarda Gardner ve Kendrick (1921)'de hastalığı Amerika Birleşik Devletleri'nde saptamışlar ve etmeni *Bacterium exitiosum* olarak isimlendirmişlerdir. Daha sonra kendi bakteri izolatının, Doidge'nin izolatına göre güçlü bir amylolitik özellik göstermesine rağmen etmenin ismini *Bacterium vesicatorium* olarak kabul etmişlerdir. Gardner ve Kendrick (1923) biberde bakteriyel lekeye neden olan etmenin ve domateste de benzer belirtiler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarda etmen biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri göz önüne alınarak bu türü *Xanthomonas* sınıfı içerisine alınmış ve *Xanthomonas vesicatoria* olarak isimlendirilmiştir (Dowson, 1939).

Sutic tarafından 1957 yılında domateste saptanan ve *Pseudomonas gardneri* olarak isimlendirilen etmenin 1966 yılında Dye tarafından yapılan morfolojik ve biyokimyasal testler sonucunda *Xanthomonas* cinsine dahil edilmiştir. Patojen *Xanthomonas vesicatoria*'nın bir sinonimi olan *Xanthomonas gardneri* olarak isimlendirilmiştir (Dye, 1966). Son olarak Dye tarafından yapılan sistematik çalışmalarda etmen yine *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* olarak isimlendirilmiştir (Dye, 1978). 1960'ların başında organizma içerisinde çok fazla fenotipik farklılıkların olduğu ortaya çıkmış, 1990'ların başında ise 3 farklı türün biber ve domateste bakteriyel yaprak leke hastalığından sorumlu olduğu bildirilmiştir (Jones ve ark, 2000).

DNA-rRNA hibridizasyon testleri ile de bu sınıflandırma desteklenmiştir. Bununla birlikte DNA-DNA hibridizasyon testleri *X. gardneri* ile *X. campestris* pv. *vesicatoria* arasında çok düşük değerde akrabalık ilişkisi olmasına rağmen *X.*

gardneri ve *X. vesicatoria* arasında %60'ın üzerinde bir benzerlik olduğunu göstermiştir (Hildebrand ve ark, 1990).

Vauterin ve ark, (1990) *Xanthomonas vesicatoria* içerisinde iki farklı genetik grubun varlığını belirlemişler ve bunları grup A ve B olarak isimlendirmişlerdir. Vauterin ve ark. (1995) yaptıkları moleküler çalışmalar sonucunda *Xanthomonas* cinsine dahil olan bakterileri tekrar sınıflandırmışlar ve *Xanthomonas vesicatoria*'yı *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (Grup A) ve *Xanthomonas vesicatoria* (Grup B) olarak iki türe ayırmışlardır. Schaad ve ark, (2001) ise Grup A içerisinde bulunan türlerin *Xanthomonas axonopodis*'in değil *Xanthomonas campestris*'in patovarı olduğunu kabul etmiştir.

Bouzar ve ark, (1994a) çeşitli bölgelerden topladıkları izolatlarla bir kütüphane oluşturmuşlar ve elde ettikleri tüm izolatların fenotipik farklılıklarını ortaya koymuşlardır. Bouzar ve ark, 1999 yılında yaptıkları çalışmada izolatların karbon kaynaklarından yararlanma, serovar ve yağ asit profillerinin farklılıkları değişikliklerini belirlemişlerdir. Farklı ülkelerden topladıkları 252 izolatın fenotipik bir özellik olan nişastayı hidrolize etme yeteneklerini karşılaştırmışlardır. *X. vesicatoria* (grup B) grubu içersine giren izolatları nişastayı 2 günden daha az sürede hidrolize ederken *Xav* (grup A) grubuna dahil olan izolatların nişastayı hidrolize edemedikleri görülmüştür.

O'Garro (1998) yaptığı çalışmada Grup A'nın nişastayı ve pektatı indirgeme yeteneğine sahip olmadığını ve cis-aconitate kullanmadığını, Grup B'nin ise nişastayı ve pektatı indirgeme yeteneğine sahip olduğunu ve cis-aconitate kullanabildiğini saptamıştır.

Jones ve ark, (1998) *Xav*'nın A ve B olarak iki grubunun olduğunu ve bu grupların ayırımında amylolitic aktiviteye bağlı olarak oluşan tek bir protein bandını, farklı konukçu reaksiyonlarını, monoklonal reaksiyonu ve DNA:DNA hibridizasyon testi sonuçlarını kullanmışlardır. Yaptıkları çalışmalarda grup A (*Xav*) ve grup B (*X. vesicatoria*)'den serolojik olarak ayrılan ve farklı bir DNA yapısına sahip olan patojenik izolatları grup C olarak isimlendirmişlerdir. Yine aynı şekilde DNA:DNA hibridizasyon testlerine göre Grup D olarak isimlendirilen ve *X. gardneri* izolatlarını kapsayan yeni bir grup saptamışlardır.

Jones ve ark, (2000) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın beş farklı alt grubunun [*Xav* (grup A, A1 ve C), *X. vesicatoria* (grup B) ve *X. gardneri* (grup D)] olduğunu belirlemişlerdir. Bu gruplandırmayı izolatların nişastayı ve pektatı indirgeme özelliklerindeki farklılıklara dayandırmışlardır.

Jones ve ark, (2004) biber, domates ve her iki kültür bitkisinde bakteriyel leke hastalığına neden olan dört farklı fenotipik *Xanthomonas* grubunun bulunduğunu ve bunların Grup A ve C (*Xav*), grup B (*X. vesicatoria*) ve grup D(*X. gardneri*) olduğunu bildirmişlerdir. DNA homolojisine göre hastalığa neden olan etmenleri *X. euvesicatoria* (grup A), *X. vesicatoria* (grup B), *X. perforans* (grup C) ve *X. gardneri* (grup D) olarak isimlendirmişlerdir.

2.1.2. Dünya ve Türkiye'deki Yaygınlığı

Dünyada ticari olarak biber ve domates yetiştirilen her yerde bakteriyel leke hastalığının görülebileceği, çok yağmur alan ve aynı zamanda yüksek sıcaklığa sahip iklimlerde şiddetli bir hastalığa neden olabileceği bildirilmiştir (Stall, 1993). Biberde bakteriyel leke hastalığı İsrail (Volcani, 1969), ABD, Yeni Zelanda, İtalya, Hindistan, Macaristan, Guadelop, El Salvador, Brezilya, Avustralya ve Arjantin'de bulunduğu Cook ve Stall (1982) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca Tayvan (Hartman ve Yang, 1990), Sudan (Bouzar ve ark, 1994), Barbados (Heather ve ark, 1992), Sudan (Bouzar ve ark, 1994a), Kore (SeungDon ve YoungSup, 1996), Grenada (Gore ve O'Garro, 1999), Caribbean (Okey ve O'Garro, 1999), Filipinler (Şahin ve ark, 1999), Yugoslavya (Obradovic ve ark, 2000), Çin (Fuzai ve ark, 2000) Etiyopya, Kenya, Malawi, Mozambik, Tanzania, Güney Afrika (Black ve ark, 2001) ve Brezilya (Quezado-Duval ve ark, 2004)'da da biberde (*Capsicum annuum* L.) bakteriyel leke hastalığının bulunduğu rapor edilmiştir.

Xav Ülkemizde, domateslerde Çanakkale ilinde Karaca ve Saygılı (1982), biberlerde ise, Doğu Akdeniz Bölgesinde (Adana ve Osmaniye) sofralık ve salçalık biber üretimi yapılan alanlarda hastalık Aysan ve Çınar, (2001), Aysan ve Şahin (2003) tarafından rapor edilmiştir. Şahin (2001) ise Batı Akdeniz'de (Antalya) ve

Doğu Anadolu (Erzurum, Erzincan ve Yusufeli) bölgesinde biber üretim alanlarında bu hastalığın varlığını saptamıştır.

2.1.3.Tanısı

Xav; Gram negatif, çubuk şeklinde 0.6x1.0-1.5 µm büyüklüğünde tek kamçıya sahip, sarı renkli, ve King B besi yerinde flouresan pigment oluşturmeyen bir bakteridir. Glikoz içeren ortamlarda xanthan isimli ekstraselular polisakkarit üretir. Oksidaz negatif, nitrat redüksiyonu negatif ve katalaz pozitif reaksiyonuna sahiptir. Jelatini hidrolize eder ve 4-37°C'de gelişir, optimum gelişimi 25-30°C'dir. Patojen glikoz, arabinase, mannase, trehalase ve sellobiozdan asit üretir (Gitatis ve ark, 1986; EPPO, 1988; Schaad ve Stall, 1988; Ward ve O'Garro, 1992; Stall, 1993; Saygılı, 1995; Şahin, 1997; Schaad, 2001).

McGuire ve Jones (1984) izolasyonda sarı renkli diğer bakterilerin gelişimini tamamen, lypolitik bakterilerin gelişimini %60 önleyen ve içeriği 10g bacto pepton, 10gr KBr, 0.25g CaCl₂, 15g agar olan ve otoklavdan sonra 10ml Tween 80, 25mg cephalixin, 6mg 5-fluorauracil, 0.4mg tobramicin ve 75mg cycloheximide antibiyotiklerini içeren yarı seçici bir besi yeri geliştirmişlerdir. Tween adı verilen bu besi yerinde *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* kolonilerinin görünümü dairesel kabarık sarı renkte ve etrafları beyaz kristal bir zonla kaplı yağda kızarmış yumurta şeklindedir.

Sijam ve ark, (1991 ve 1992) CKTM adlı yarı seçici bir besi yerinde *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın 2-3 günlük kolonilerinin etrafında sarı temiz bir halka oluştuğunu ve bu temiz halka içinde 4 günde minik kristallerin geliştiğini, domates izolatları 2-4 gün içinde koloniler etrafında donuk beyaz hale geliştirirken, biber izolatlarında bu hale gelişmediğinden bu ortam ile biber ve domates izolatlarının ayırt edilebileceğini bildirmişlerdir.

Xanthomonas cinslerinin tanısının biyokimyasal ve fizyolojik karakterine göre yapıldığı (Dye, 1980) ancak bakterilerin her cinsinin veya türünün bulundurduğu yağ asit içeriğinin farklı olma özelliğinden yararlanılarak tanımlamanın daha iyi yapılacağı (Sasser, 1990) bildirilmiştir

Şahin ve Miller (1996) izole edilen *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* izolatının tanısını biyokimyasal testlerin yanısıra gaz kromatografi sistemi kullanılarak yağ asidi metil ester analizi (FAMES) testlerine göre yapmışlardır. Tütün (*Nicotiana tabacum* cv Samsun) bitkisi üzerinde yapılan aşırı duyarlılık testlerinde izole edilen izolatların hepsinin pozitif reaksiyon verdiğini ve bunların 76'sının duyarlı biber çeşidi (Marengo) üzerinde patojenik olduğunu saptamışlardır. Aynı zamanda bu izolatların çoğunluğunun (%89) biber bitkisinin yanısıra duyarlı domates çeşidi OH 8245 üzerinde de patojenik olduğunu belirlemişlerdir. İzole ettikleri izolatların %80'ninin biber ırkı 3, diğer izolatların %2.6'si ırk 0, %12'si ırk 1, %4'ünün ırk 2 ve ancak bir tanesinin ırk 6 olduğunu bildirmişlerdir.

Şahin ve Miller (1995) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* izolatlarının belirlenmesi ve tanılanmasında spesifik poliklonal ve monoklonal antiserumların uygun olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca bu bakterinin bütün izolatlarının monoklonal antiserumların hepsiyle reaksiyona girmediklerini saptamışlardır.

Bouzar ve ark, (1994b) dünya çapında koleksiyonlardan alınan farklı *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* izolatlarını amylolitik aktivite ve β protein bantlarının varlığına göre test ederek A ve B grubu olarak ayırmışlardır. Grup A ve grup B izolatlarının arasında yer aldığı gruplar serolojik, karbon substrat kullanımı ile yapılan grup analizleri ve yağ asitleri ile ilgili elde edilen verilerle, herbir grup içerisinde bulunan izolat grubunun heterojen olduğunu göstermişlerdir. İki monoklonal antibadi sadece grup A izolatı ile, iki grup ise sadece B izolatı ile reaksiyona girmiştir. Yağ asit kompozisyonuna göre grup A ve grup B izolatlarının ayrımının grup A izolatlarındaki 15:0 ante-iso'nun düşük miktarına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. İki grubun izolatları arasında ayırım yapan tek substrat sadece grup A izolatı için kullanılan cis-aconinate'dır. Bakteriyel patojen *Pseudomonas gardneri* grup A ve grup B izolatlarının her ikisinin özelliklerini taşımasından dolayı *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ile ilgili olduğunu, ayrıca farklılık gösteren izolatların ırk 1 izolatlarına yakınlığının avrRxv içerisindeki 680 bp'lik dizinin PCR-amplifikasyonu ile belirlenebileceğini bildirmişlerdir.

Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria*'yı da içene alan pek çok bitki patojen bakterinin saptanmasında ve tanılanmasında polimer zincir reaksiyonunun (PCR)

başarı ile kullanılabileceği (Leite ve ark, 1994; Leite ve ark, 1995), yağ asit analizlerinin kullanılmasının yanı sıra *Xanthomonas campestris* pathovarları arasından *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın ayrılmasında yeterli bir metot olduğu (Şahin ve Miller, 1995; Bouzar ve ark, 1999; Obradovic ve ark, 2004) bildirilmiştir.

2.1.4.İrkları

Hastalık etmeninin Walter domates çeşidi ve Early Calwonder (bu çeşit ve isogenik hatları ECW-10R, ECW-20R ve ECW-30R) biber çeşitlerinde bulunan dayanıklılık genlerine bağlı olarak farklı ırklar içerdiği belirlenmiştir. Domates grubunda üç farklı ırk (T1, T2, ve T3) bulunurken biber grubunda on bir farklı ırk (P0, P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7, P8, P9 ve P10) bulunduğu belirlenmiştir (Minsavage ve ark, 1990; Ritchie ve Dittapongpitch, 1991; Bouzar ve ark. 1994b; Kousik ve Ritchie, 1995; Şahin ve Miller, 1995; Şahin ve Miller, 1996; Şahin ve Miller, 1998).

Pernezny ve ark, (1999) ABD'nin Florida eyaletinde yaptıkları surveyde bölgede yetiştirilen biber çeşitlerinin *Xcv* (*X. vesicatoria*)'nın ırk 1 ve ırk 3 ile infekteli olduğunu saptamışlardır. 27 bölgeden topladıkları izolatlarla Early Calwonder biber çeşidi ve 3 yakın izogenik (ECW-10R, ECW-20R, ECW-30R) hatı üzerinde yaptıkları çalışmada izolatların %73'ü ırk 6 ve %10'nunun ırk 4 olduğunu belirlemişlerdir.

Xanthomonas campestris pv. *vesicatoria*'nın 20 izolatu ile ilgili son zamanlarda yapılan taksonomik çalışmalarda, genetik olarak iki ayrı grup (A ve B) belirlenmiştir. A ve B grupları arasındaki DNA homolojisi (benzerliği) %50'den daha fazla bir oranda bulunduğu için bunların iki ayrı tür olduğu, A ve B izolatları arasındaki fenotipik farklılıkların, karbon bileşiklerinin kullanılması, monoklonal antitadilere karşı (MAbs) reaksiyonu, yağ asit kompozisyonu, domates hatları üzerindeki hipersensitif reaksiyonlar (HR) ve amilolitik aktivite ile belirlenmiştir. Domateste patojenik *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* izolatları ile ilgili çalışmada, her bir grup içerisinde tek bir protein bandı saptanmıştır. Çoğu A grubu izolatının 32-35kDa büyüklüğünde protein bandına (alfa) sahipken, buna karşılık B grubu

izolatlarının ise 25-27kDa büyüklüğünde protein (beta) banda sahip olduğu, alfa ve beta protein bantlarının varlığının, patojenite ve daha önemlisi amilolitik aktivite ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Grup A izolatının nişastayı hidrolize etme yeteneğinde olmadığını, buna karşın B izolatlarının güçlü amilolitik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Bouzar, ve ark, 1994b).

İtalya'da üretimi yapılan biberlerde sırasıyla ırk 1 (%39), ırk 2 (%16) ve ırk 3 (%45) olarak belirlenen izolatların %45'inin bakır sülfata (200µg/ml) dayanıklı iken streptomisin sülfata (100µg/ml) ise duyarlı bulunmuştur. ırk 2'lerin tamamı ve ırk 1'in %73'ü bakıra dayanıklı, ırk 3 izolatlarının tümü ise bakıra duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Buonaurio ve ark, 1994)

Şahin ve Miller (1998) biber bakteriyel leke etmeninin yeni ırklar meydana getirdiğini ve yaptıkları çalışmalarda biber grubu içerisinde yeni farklı fizyolojik ırkları (P7, P8 ve P10) belirlemişlerdir.

Şahin ve ark, (2004) ülkemizin Batı Anadolu ve Akdeniz Bölgesinden elde ettikleri 72 *Xav* izolatının 69 adedinin ırk 4 ve geriye kalan 3 izolatın ırk 5 olduğunu belirlemişlerdir.

2.1.5.Epidemiyolojisi

Hastalık etmeni *Xav*'ın konukçuları arasında domates (*Lycopersicon esculentum*) ve biber (*Capsicum spp.*) gibi kültür bitkilerinin yanı sıra *Solanaceae* familyasından *Nicotiana rustica*, *Physalis minima*, *Solanum nigrum*, *S. dulcamara*, *S. rostratum*, *S. tuberosum*, *S. melongene*, *Solanum spp.*, *Hyoscyamus niger*, *H. aureum*, *Lycium chinense*, *L. halimifolium* ve *Datura spp*, *Nicotiana rustica* ve *Ohysalis spp.* bitkileri bulunur (Lelliott ve Stead, 1987; EPPO, 1988; Şahin, 1997).

Crosan ve Morehart (1963) *Xav*'ı biber bitkilerinin iletim demetlerinden, sekonder köklerinden, gövdesinden, ovaryumundan ve tohumlarından izole etmişlerdir.

Sağlıklı görülen bitkilerden elde edilen tohumların patojenle bulaşık olabileceği, hastalık etmeni *Xav*'ın kurutulmuş biber tohumlarında 10 yıl, domates tohumlarında 20 yıl canlılığını sürdürebildiği, primer inokulum kaynağı olarak

infekteli tohumlarının önemli rol oynadığı ve hastalığın uzun mesafelere infekteli tohumlarla yayıldığı birçok araştırmacı (Goode ve Sasser, 1980; Bashan ve ark, 1982a; Diab ve ark, 1982; Bashan ve Okon, 1986; Ritchie, 1996; Aysan ve Çınar, 2001; Mirik ve ark, 2004) tarafından bildirilmiştir.

İtalya'da farklı ırkların ortaya çıkmasında önemli primer inokulum kaynaklarının bulaşık biber tohumları ve/veya fideler olduğu, ayrıca infekteli biber ve domates bitki kalıntılarının bulunduğu topraklardan da hastalığın bulaştığı rapor edilmiştir (Buonaurio ve ark, 1994).

Hastalık etmeni *Xav* konukçu bitkilerde, hastalıklı bitkilerden elde edilen tohumlarda (Bashan ve ark, 1982b), bitki kalıntılarında (Peterson, 1963) ve yabancı otlar üzerinde epifitik olarak yaşayabilmesinin yanı sıra topraktaki bulaşık bitki artıklarında canlılığını 18 ay sürdürebilmektedir (Jones ve Scott, 1986). *Xav*'nın kışı buğday, domates ve soya bitkilerinin rizosferinde geçirirken bu tip infekteli toprakta gelişen bitkiler için inokulum kaynağı oluşturur (Stall, 1993; Ritchie, 1996). Infekteli topraklarda bakterinin canlı kalma süresi toprağın yapısı ve kullanılan gübrelere bağlı olarak değişir (Saygılı ve ark, 1985).

Hastalık için yoğun yağmur, yüksek nem ve 30°C civarında sıcaklık optimum koşulları oluştururken, 35°C üzerindeki sıcaklığın hastalık gelişimine uygun olmadığı bildirilmiştir (Diab ve ark, 1982)

Nisbi nem, biber bitkilerinde bakteriyel yaprak leke hastalığının gelişimini etkiler. Uzun periyotlarda yapraklardaki serbest suyla birlikte yüksek nemin infeksiyon için uygun olduğu ancak hastalığın ortaya çıkabilmesi için yüksek nisbi nemle birlikte ılıman bir iklimin gerekliliği vurgulanmıştır. Patojen infeksiyonundan sonra kısa periyotta uygun olmayan düşük nispi nem hastalık oluşumunu geçici olarak durdurmasına karşın bunu izleyen yüksek nispi nemin hastalık gelişimini teşvik ettiği, ayrıca sürekli yağışın ve yüksek sıcaklığın hastalık şiddetini artırdığı saptanmıştır (Diab ve ark, 1982; Şahin, 1997).

Biber bakteriyel leke hastalığının etmeni kolaylıkla hastalıklı bitkiden yakınındaki sağlıklı bitkilere, yapraktan yağmur damlalarının sıçraması, yağmurlama sulama ve ıslak bitkiye değme gibi her türlü su hareketiyle yayılmaktadır. Bakteri yaprak stomalarından, yaprak kenarındaki hidatodlardan ve zarar görmüş epidermal

hücrelerden giriş yaparak yeni lekeler neden olur. Rüzgar veya yüksek basınç püskürtmesi sonucu oluşan yaralar patojenin girişini kolaylaştırır, uzun süre bitkilerin ıslak kalması infeksiyonların oluşumuna elverişli bir ortam sağlar. Tarla içerisinde seyreltme, fide dikimi, budama, bağlama ve meyve toplama gibi kültürel işlemler sırasında hızla yayılır (Volcani, 1969; Goode ve Sasser, 1980; Pohronezny ve ark, 1990; Pohronezny ve ark, 1992; Ward ve O'Garro, 1992; Stall, 1993; Ritchie, 1996).

Azaizeh ve Bashan (1984) biberlerdeki bakteriyel leke hastalığının İsrail'de önemli bir bakteriyel hastalık olduğunu ve %44'den fazla ürün kaybına neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Bashan ve ark, (1990) *Xav*'ın infekteli biber bitkilerinde %23-44 arasında değişen oranlarda ürün kaybına neden olduğunu, ürün kaybının yapraklardaki leke sayısına ve bitkinin infektelenme yaşına bağlı olarak değişeceğini belirtmişlerdir.

2.1.6.Mücadelesi

Standart bakırlı preparatlarla ilaçlamalar yaprak lekelerinde azalmaya ve buna bağlı olarak üründe artışa neden olur. Eğer bitki yüzeyinde bakırlı fungusla bir film sağlanırsa bakterinin yaprak ve meyvelere girmeden ölebileceği, bu nedenle yağmurlu periyotta ve öncesinde bakırlı bir kimyasal uygulamanın çok önemli olduğu ancak ilaçlamanın doku içerisindeki bakteriye karşı etkili olmadığı bildirilmiştir (Goode ve Sasser, 1980; Pernezy ve ark, 1995; Ritchie, 1996; Wright ve Miller, 2000).

Adaskaveg ve Hine (1984)'nin biberden elde ettikleri Meksika izolatları bakır (Bakır sülfat, Kocide 101, Count-N ve Cosmocel 200) uygulamalarına karşı dayanıklı iken Arizona izolatlarının bütün bakır formülasyonlarına ve tarlada önerilen dozlarına duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca her iki bölgeden elde edilen tüm izolatların antibiyotiklere (streptomisin, tetracycline, neomycin, penicilin G ve erythromycin) karşı değişik oranlarda duyarlı olduğunu saptamışlardır.

Stall ve ark, (1986) bakıra dayanıklılık genleri içeren bakteriyel plazmitin bu özelliğini kendi kendine bir sonraki nesle geçirme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Dittaponapitch ve ark, (1989) biber ve domatesten izole edilen *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'nın 200µg/ml bakır sülfata duyarlılıklarını testlemişler ve testlenen izolatların %60'ının dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir.

Ward ve O'Garro (1992) Barbados'da son 20-25 yıldır yaygın olarak bakteriyel leke kontrolünde kullanılmakta olan bakır ve/veya çinko içeren kimyasalların başarı sağlayamamasını etmenin bu kimyasallara karşı dayanıklılık kazanmasına bağlamışlardır.

Pernezny ve ark, (1999) yaptıkları çalışmada ABD'nin Florida eyaletinden elde ettikleri *Xav* izolatlarının 250mg/ml CuSO₄ H₂O'ta karşı %91 oranda tolerant olduğunu belirlemişlerdir.

Buonaurio ve ark, (1994) İtalya'daki biber üretim alanlarından elde ettikleri izolatlar bakır sülfata (200µg/ml) dayanıklı bulurken streptomisin sülfata (100µg/ml) duyarlı bulmuşlardır.

Biber bakteriyel leke hastalığına karşı Kocide + Mancozeb ile yapılan standart kimyasal kontrol uygulamalarının verimi artırdığını gözlemişlerdir (Wright ve Miller, 2000).

Martin ve ark, (2004) Avustralya'da bu hastalığa karşı bakır kullanımı etkili olmasına karşın, *Xav* izolatlarının bakıra karşı kısa dönemde direnç kazandığını rapor etmişlerdir.

Üretim sezonu boyunca yüksek nem ve sıcaklık biber bakteriyel leke hastalığının mücadelesini güçleştirmektedir (Nayudu ve Walker, 1960). Etmene karşı antibiyotik kullanımı etkili olmasına karşın, *Xav* izolatlarının streptomisine kısa dönemde direnç kazandıkları bildirilmiştir (Goode ve Sasser, 1980).

Dittaponapitch ve ark, (1989) ile Ritchie ve Dittapongpitch (1991) bakır ve streptomisine dayanıklı *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ırklarını domates ve biber bitkilerinde belirlemişlerdir. Bakır içerikli kimyasalların genellikle bu hastalığın kontrolünde kullanılması sonucu bakterinin bakır içerikli bileşiklere karşı dayanıklılık kazandığını bildirmişlerdir.

Minsavage ve ark, (1990) bakır ve streptomisine dayanıklılık ve avirülensliğin *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* ırkları içerisinde bulunan plasmid tarafından kodlandığını belirlemişlerdir.

Pohronezny ve ark, (1992) yaptıkları bir çalışmada ABD'nin Florida eyaletinden elde ettikleri *Xav* izolatlarının 200µg/ml streptomisine (%82) ve bakır sülfata (%97) tolerant olduklarını belirlemişlerdir.

Şahin ve ark, (2004) Batı Anadolu ve Akdeniz Bölgesinden elde ettikleri 72 *Xav* izolatının streptomisine (%98) ve bakır sülfata (%15) dayanıklı olduklarını bildirmişlerdir.

Şahin ve Miller (1998) üretimi yapılan kültüre alınmış yabani biberlerde *Xav*'a dayanıklılık sağlayan 4 adet gen (*Bs1*, *Bs2*, *Bs3*, *Bs4*) bulmuşlardır. Kousik ve Rithchie (1998) *Bs1*, *Bs2* ve *Bs3* dayanıklılık genlerini kültür bitkilerine aktararak ticari olarak üretimini sağlamışlardır.

Bakteriyel hastalıklara karşı biyolojik ajanların kullanımına dayanan biyolojik kontrol ile ilgili ilk çalışmalar, bakırlı preparatlarla mücadelesi mümkün olmayan veya çok zor olan bitki patojen etmenlere karşı yapılmıştır (Meadows ve Stall, 1981; Xu ve Gross, 1986; Çınar ve Aysan, 1995).

Byrne ve ark, (2005) *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'ye karşı *P. syringae* ve *P. putida* ile uygulama yapılmış domates bitkilerinde standart bakır uygulamasına göre %45 oranında bakteriyel leke hastalığını engellediğini bildirmişlerdir.

Flaherty ve ark, (2000) domateslerde *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*'ye karşı bakteriyofaj ve bakır mancozeb karışımının etkinliğini araştırmışlardır. Bakteriyofaj ile uygulama görmüş bitkilerde hastalık şiddeti %2.7 olurken bakır-mancozeb karışımında %5.5 olduğunu saptamışlardır. Ayrıca ürün ve meyve büyüklüğünde birinci yıl bakteriyofajlarda %14.9 bakır-mancozebde %37.8 ikinci yıl ise sırasıyla %24.4 ve %23.9 oranlarında artırdığını bildirmişlerdir.

Wright ve Miller (2000) *Xav*'nın kontrolünde dayanıklılığı teşvik eden bir kimyasal olan Actigard'ın meyve lezyonlarını azalttığını ancak yaprakta meydana gelen hastalığı engelleyemediğinden verim kayıplarına neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Bitkide biyotik (patojenin avirülent izolatları, inaktive edilmiş patojenler, patojen olmayan bakteri türleri, patojenin hücre duvarı bileşenleri) ve abiyotik (etilen, UV ışını, bazı sentetik bileşikler, bazı herbisitler, fungusitler, salisilik asit, jasmonoik asit ve indol asetik asit vb) uyarıcılar aracılığı ile bitkide dayanıklılık mekanizması harekete geçirilebilir (Kuc, 2001).

Acibenzolar-S-methyl (CGA 245704 veya Actigard50 WG) bir çok farklı üründe çok sayıda patojene karşı sistemik kazanılmış dayanıklılığı (SAR)'ı teşvik eder. Acibenzolar-S-methyl domateste bakteriyel kara lekeye (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) karşı 7 ve bakteriyel lekeye (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) karşı 15 farklı alanda kontrol için denenmiştir. Uygulama 35g/ha Actigard50 WG bakteriyel leke için denen 15 farklı alanın 14'ünde ve bakteriyel kara lekeye karşı denen 7 alanın tümünde hastalık şiddetini azaldığı görülmüştür. Acibenzolar-S-methyl meyvelerdeki bakteriyel leke ve kara leke simptomlarını azaltmasına karşın domates fidelerinin kuru ağırlığına olumsuz etki yapmıştır. Acibenzolar-S-methyl'in özellikle bakıra karşı dayanıklı populasyonların baskın olduğu yerlerde bakteriyel leke ve kara lekenin arazi kontrollerinde temel bakırlı bileşiklere karşı alternatif olabileceği belirlenmiştir (Louws ve ark, 2001; Romero ve ark, 2001; Buonauro ve ark, 2002).

Biberde Bion, uygulaması *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'e karşı %75 oranında etkili olduğu, dayanıklılığın ortaya çıkmasında oksidatif antioksidatif ve PR proteinlerin rol oynadığı bildirilmiştir (Soylu ve ark, 2003, Baysal ve ark, 2003).

Bitki hastalıkları konukçu, çevre ve patojen arasındaki ilişkilere bağlı olarak ortaya çıkar. Bakteriyel hastalıklar göz önüne alındığında hastalığın meydana gelmesinde ve yayılmasında bitki yüzeyindeki nem önemli rol oynar. Hastalıkla mücadelede başarı şansı; ekim nöbeti, hastalıksız tohum ve fide kullanımı kadar konukçu bitkilerden gelen inokulum kaynağının da elimine edilmesi, sanitasyon, rotasyon, dayanıklı varyetelerin yetiştirilmesi, kimyasal mücadele ve biyolojik mücadele yöntemlerinin kombine edilmesiyle sağlanabilir. Patojenin konukçu bitkiler üzerinde, toprak ve bitki artıklarında yaşamını sürdürmesi nedeniyle

hastalıkla mücadelede 3 yıllık bir ürün rotasyonunun yapılması gerekir (Stall, 1993; Kotan, 1998).

Yapılan çalışmalarda antagonist bakterilerin tohumdaki inokulumu %12.5-87.5 oranında azalttığı, Bronopol, NaOCl ve sıcak su uygulamalarının etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca patojenin topraktan eliminasyonu veya baskı altına alınmasında ve ikincil infeksiyonları engellemede toprak solarizasyonunun başarılı olduğunu ve bu yolla hastalık çıkışında %71 oranında bir azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Çınar ve Aysan, 1995; Aysan ve Çınar, 2001)

2.2.Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria-PGPR) İle İlgili Çalışmalar

Hastalığa karşı dayanıklılık bitkide teşvik edici bir etmenin aktivitesi sonucunda meydana gelir. Bitkilerde hastalığa karşı dayanıklılığın teşviki, biyotik ve abiyotik teşvik ediciler tarafından aktive edilen konukçu bitkideki fiziksel ve kimyasal engeller olarak tanımlanabilir (van Loon, 1997).

Salisilik asit (SA), jasmonoik asit (JA), ve asibenzolar-S-methyl gibi abiyotik faktörler birçok bitkide oluşan fenolik yapıda sekonder metabolitlerdir ve günümüzde bu tür fenolik bileşiklerin bitki büyümesini ve gelişimini teşvik etmede ve bitkilerin diğer organizmalarla interaksiyonunda önemli bir rol oynadığı belirlenmiş olan bitki aktivatörleridir. Bu sekonder bileşikler bitkide patojen saldırılarına karşı doğal biyolojik savunma tepkisi olan sistemik kazanılmış dayanıklılığı teşvik ederek patojene karşı koruyucu dayanıklılıkta rol oynayan elementleri aktive ederler (Mauch ve ark, 1988; Malamy ve Klessig, 1992; Dempsey ve Klessig, 1995; van Loon, 1997; van Loon ve ark, 1998; Pieterse ve ark, 2000; Metraux, 2001; Özaktan ve ark, 2001; Ellis ve ark, 2002).

Rizobakteriler bitki gelişiminde faydalı etkilerinden dolayı Bitki Büyüme Düzenleyici Rizobakteriler (PGPR) olarak isimlendirilmiştir. Çünkü bunların uygulanması ile bitki büyüme oranlarında gözle görülür bir artış gözlenmiştir (Kleoppe ve ark, 1980). PGPR ile ilgili ilk çalışmalar 1950'li yıllarda eski Sovyetler Birliğinde ve daha sonraları batı ülkelerinde başlamıştır (Backman ve ark, 1997).

Çin’de “Ürün Arttırıcı Bakteriler” (YIB) olarak isimlendirilen PGPR preparatları 20 yılı aşkın bir süredir yaklaşık 20 milyon hektarlık bir üretim alanında kullanılmaktadır (Chen ve ark, 1996).

PGPR’ler kullanılabilir azot ve fosfat miktarını arttırması ve toprak patojenlerine karşı baskılayıcı bir etkiye de sahip olmaları nedeniyle ürün gübrelemesine olumlu etki sağlamaktadır. Bu etkilerinden dolayı PGPR bakterileri biyolojik ajan olarak kullanılabilir (Dunleavy, 1955; Broadbent ve ark, 1971; Schippers ve ark, 1987).

Actinoplanes (Filonow ve Lockwood, 1979; Sutherland ve Lockwood, 1984), *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Cellulomonas*, *Pasteuria* (Weller, 1988), *Alcaligenes* (Elad ve Chet, 1987), *Amorphosporangium* (Filonow ve Lockwood, 1979), *Arthrobacter* (Mitchell ve Hurwitz, 1965), *Bacillus* (Capper ve Campbell, 1986), *Enterobacter* (Kwok ve ark, 1987), *Erwinia* (Sneh ve ark, 1984), *Flavobacterium* (Chen ve ark, 1987), *Hafnia* (Sneh, 1981) *Micromonospora* (Filonow ve Lockwood, 1979), *Pseudomonas* (Genesan ve Ginanamanickam, 1987), *Rhizobium* ve *Bradyrhizobium* (Tu, 1980), *Serratia* (Sneh ve ark, 1985), *Streptomyces* (Merriman ve ark, 1974), *Xanthomonas* (Chen ve ark, 1987) cinsi içinde yer alan çok sayıda bakteri türü biyokontrol özelliğine sahiptir.

Biyolojik kontrolü sağlama yeteneğindeki bakteriler rizosfer bakterilerin %10’ndan daha azını baskıda tutabilmektedir. Etkili izolatların elde edilme şansı hastalığın bulunduğu ortamdan bakterilerin izole edilmesi ile arttırılabilir. Patojenin baskın olarak bulunduğu topraklarda biyolojik ajan olarak etkili izolatların izole edilme şansı artabilir (Cook ve Baker, 1983).

Ahmed ve Baker (1987) rizosfer içinde biyokontrol etmenlerinin gelişme ve fonksiyon kabiliyetlerini tarif etmek için “rizosfer yeterliliği” terimini kullanmışlar ve bir ırkın “rizosfer yeterliliği” kolonize edilmiş köklerin sayısı veya uzunluğu ya da bir kök üzerinde ulaşılan popülasyonu ölçerek tayin edilebileceğini belirtmişlerdir.

Ekolojik yeterlilik bakterinin doğada yaşama ve rekabet etme kabiliyeti ile ölçülür. Rizosferdeki ekolojik yeterliliğe pek çok bakteriyel özellik yardım eder ve herhangi birinin kaybı bakterinin yaşam yeteneğini azaltabilir. Böyle mutantlar bir

biyokontrol etmenleri olarak kullanıldığında yaşama kabiliyetleri daha az olabilir. *In vitro* da flouresan *Pseudomonas*'ların kültürleri yenilendikçe tarla etkinliklerinin kaybolduğunu bildirmişlerdir (Schroth ve ark, 1984; Weller, 1988).

Floresan *Pseudomonas*'lar özellikle besinsel olarak kolay bakterilerdir, bir besinden diğerine dönebilirler ve rizosferde hızlı olarak gelişirler. Genellikle kök patojenlerinin biyokontrolü için toprağa verilen bakterilerin kökü kolonize etmeleri gerekir ve köke verilen bakterilerdeki populasyon artışları hastalık kontrollünü artırır. Bir kök üzerine verilen bakterinin populasyonunun miktarı, bir kökün uzunluğu boyunca değişir. Genellikle en fazla sayı inokulum kaynağı yakınında meydana gelir ve kök ucuna doğru azalır. PGPR'ler bir bitkiden diğerine hatta bir bitki içerisinde kökten köke geçebilir bir kök kolonizasyonu meydana getirebilir. Genelde bir kök kolonizeri bitkiye verildiği zaman doğal toprakta kök boyunca dağılmalı, çoğalmalı ve doğal rizosfer mikroflorasında rekabet varlığında belli bir süre yaşayabilme yeteneğine sahip olması gerekir (Weller, 1988).

Weller (1986) ile Bahme ve Schroth (1987), PGPR'lerin kök kolonizasyonunun yeterli düzeyde olmadığını saptamışlardır. Araştırmacılar kök kolonizasyonunun yeterli seviyede olmamasını su aracılığıyla toprakta bakterilerin hareketi, toprak pH'sı, sıcaklığı, su içeriği, por ölçülerinin dağılımı, toprak tipi tarafından olduğu kadar elektrostatic değişim, hücre biçimi, ölçüsü, yüzme kabiliyeti, hareketliliği gibi bakteriyel özelliklerin yanı sıra bitki genotipinin de etkileyeceğini ortaya koymuşlardır.

P. fluorescens ile buğday köklerinin kolonizasyonu iki fazda oluşur. Bunlar birinci fazda bakteri verilir ve sonra sivrilmiş kök ucu üzerine taşınır, ikinci fazda bakteriler lokal olarak yayılır ve rizosferdeki organizmalar ile rekabet içinde uygun limitlere ulaşır ve yaşarlar (Howie ve ark, 1987).

PGPR bakterilerinin köke yeterli miktarda kolonize olmasını sağlamak için ya fideler şaşırtılmadan önce bakteriyel süspansiyona batırılmalı ya da yüksek miktarda bakteri ile tohumu bulaştırmalıdır (Kloepper, 1996).

PGPR'ler bitki gelişimini doğrudan veya dolaylı biçimde etkiler. PGPR'ın bitki gelişimine doğrudan etkisi ya çevredeki bazı besinlerin artması ile veya bakteri tarafından bir bileşiğin sentezlenmesi ile ortaya çıkar. PGPR'ler atmosferik azotu

fikse ederek bitkiler tarafından kullanılmasına olanak sağlar (Brown, 1974). Düşük moleküler ağırlıktaki siderefor ve indolasetik asit (IAA) gibi birçok farklı bitki hormonlarını sentezler. Ayrıca bitkiler için gerekli fosfat gibi bazı minarelleri toprakta çözerek kullanışlı hale getirirler. Böylece bitkide büyüme artışı ortaya çıkarken pek çok hastalık da engellenir (Glick ve ark, 1998; James ve ark, 2002).

Rizosfer bölgesinde bulunan ve kökleri kolonize etme kabiliyetindeki rizobakteriler patojenlerin saldırısına karşı kökler için bir ön savunma hattı meydana getirirler. Primer enfeksiyondan önce, primer enfeksiyon sırasında veya köklerdeki ikincil yayılma esnasında patojenler, rizosfer mikroorganizmaların antogonizmi ile karşı karşıya gelirler. Bu etkileşim sonucunda hastalığın gelişmesi engellenir ve yavaşlar. Eğer bir bakteriyel kontrol etmeni yalnızca patojenlerden birini bastırır diğeri de predominant olur ise uygulama etkisiz sonuç verir (Weller, 1988).

Bütün bitkiler patojen saldırılarına karşı aktif savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bir patojen tarafından bitki infektelendiğinde bu mekanizma aktif hale geçer. Herhangi bir patojenin saldırısından önce bitki çeşitli şekillerde uyarılarak savunma kapasitesi artar. Teşvik edilmiş dayanıklılık patojenin avirülent ırkı, patojen olmayanlar, patojenlerin uyumsuz ırkları, uygun olmayan çevre koşullarında virülent bir patojen veya bazı kimyasallar tarafından tetiklenir. Bir patojeni baskılamak için verilmiş bir biyolojik ajanda birden fazla mekanizma etkin olabilir ve özel bir mekanizmanın etkinliği rizosferdeki fiziksel veya kimyasal koşullar ile değişkenlik gösterir (Weller, 1988).

Rizosferden seçilen ve sistemik dayanıklılığı teşvik eden (ISR) rizobakterilerin bitkilerde dayanıklılık mekanizmasını aktive ederek hastalığı azalttığı ve patojenlerin ISR benzeri sistemik kazanılan dayanıklılığı (SAR) teşvik ettiği ve her iki dayanıklılığında birden fazla bitki patojenine karşı bitkileri dayanıklı hale getirdiği bildirilmiştir. Bazı rizobakteriler salsisilik asite (SA) bağımlı ISR oluşumunda kök yüzeyinde SA üretimiyle tetiklerler, bazı rizobakterilerin tetiklemesinde ise SA gerektirmeden ISR oluşumu başlayabilmektedir. Jasmonoik asit (JA) ve etilen de SAR benzeri savunma durumunu tetiklemektedir. Rizosfer bakterilerin neden olduğu SAR'da bitkide herhangi bir simptom oluşumu gözlenmez ancak bitki gelişiminde

bir artış meydana gelir. (Kloepper ve ark, 1992; Pieterse ve ark, 1996; Ryals ve ark, 1996; Pieterse ve ark, 2001).

van Loon (1997)'a göre PGPR'ler bitkileri hastalık etmenlerine karşı korumada ideal bir araçtır. Çünkü bunlar hem tohum hem de fide yastıklarındaki topraklara kolayca uygulanabilir. Auburn Üniversitesi ve Gustafon firmasının yaptığı araştırmalarda, gelişim düzenleyicileri ile sistemik hastalıklara karşı korumanın yanı sıra toprak patojenlerine karşı koruma sağladığını ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarla yaprak patojenlerine karşı sistemik koruma için kimyasal pestisitlere karşı bir alternatif olarak PGPR'ların kullanıldığı bildirilmiştir. PGPR'nin bir avantajı da bir defa sistemik dayanıklılığı teşvik etmesi ve bu doğal savunma mekanizmalarının uzun süre etkinliğini sürdürmesidir.

1985 yılında Gustafon Firması ilk ticari rizobakter biyolojik ajanı *Bacillus subtilis* A-13 izolatının GBO7 ve GBO3 izolatlarıyla birlikte (ticari olarak Quantum, Kodiak ve Epic) Amerika'da üretmiştir. Bu ürünlerin tohuma uygulanan fungusitler ile birlikte kullanıldığında toprak patojenlerine karşı tohumları koruyabildiği rapor edilmiştir. Pamukta toprak patojenlerinden *Rhizoctonia* ve *Fusarium*'u baskı altına almak için *B. subtilis* etkili maddeli Kodiak Amerika'da pamuk üretim alanlarının %60-75'inde kullanılmaktadır. Çin'de de yer fıstığı, soya, mısır, sebze ürünlerinde 18 tane ticari PGPR izolatı kullanıldığı ve bunların çoğunda *Bacillus* cinsinin spor formundan üretildiği bildirilmiştir (Backman ve ark, 1997).

Görlach ve ark, (1996) ile Tally ve ark, (1999) PGPR ürünleri tek başına kullanıldığında hastalık kontrollerinde kabul edilir bir seviyede kontrol sağladığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar PGPR uygulamaları dayanıklı ürün varyetelerinin kullanılması, virüs vektör böcekleri ile mücadele edilmesi, kültürel işlemlerin yapılması, diğer hastalıkları baskı altına alan benziotiadiazole benzeri kimyasal uyarıcılar ve ajanların uygulaması gibi diğer hastalıkları kontrol yöntemleri ile kombine edilmesi durumunda başarı oranının artacağını bildirmişlerdir.

Broadbent ve ark, (1977) tarafından *Bacillus subtilis* A-13 ırkı lysis edilmiş *Sclerotium rolfsii*'den izole edilmiştir. *B. subtilis* A-13 major ve minör patojenleri bastırarak ve aynı zamanda da bitki gelişimini direkt teşvik ederek bitki büyümesini sağlamaktadır. Tohum uygulaması sonucunda havuçlarda %48, yulaflarda %33 ve

yerfistığında %37'nin üzerinde ürün artışı sağlanmıştır.

Hıyarda *Erwinia tracheiphila* (Smith)'nin neden olduğu bakteriyel solgunluk hastalığının yayılmasında ve inokulasyonda benekli (*Diabrotica undecimpunctata* (Howardi Barber) ve çizgili (*Acalymma vittata* (Fabricius)) hıyar böcekleri önemli rol oynamaktadır. Bu nedenden dolayı hastalık şiddeti ve böceğin yoğunluğu arasında paralel bir ilişki olduğu bilinmektedir. Hıyar böceğinin beslenmesinde ve zararının artmasında *Cucurbitaceae* bitki familyası bitkilerindeki cucurbitacin çok etkili olmaktadır. PGPR izolatlarından *P. putida* izolat 89B-61, *Serratia marcescens* izolat 90-166, *Flavomonas oryzae* izolat INR-5 ve *Bacillus pumilis* izolat INR-7 ile yapılan uygulamalar sonucunda hıyar böceklerinin yoğun olarak bulunduğu tarlalarda bakteriyel solgunluk hastalığına karşı çok iyi koruma sağlanmıştır. PGPR bakterileri tarafından oluşturulan sistemik kazanılmış dayanıklılıkta bitkinin sekonder olarak ürettiği metabolitlerinden cucurbitacin birikimi engellenmektedir. Metabolik düzeyde meydana gelen değişikliklerle ISR ile hıyarda cucurbitacin oluşumunda azalma meydana gelmektedir. Buradan PGPR'in teşvik ettiği ISR ile hıyarlardaki bakteriyel solgunluğa karşı korumada iki seviye bulunmaktadır. Bunlardan birincisi: cucurbitacin sentezinin PGPR ile azaltılması sonucu hıyar böceklerinin hıyarda beslenmelerinin azalması, böylece patojenin taşınma oranının düşmesi, diğeri ise PGPR'ler bitkiler tarafından algılandıktan sonra patojene karşı diğer savunma mekanizmalarının (mesela fitoaleksinin üretimi ve ISR içindeki diğer bileşikler) oluşumunun sağlanmasıdır (Weller, 1988).

PGPR'lar tarafından üretilen antibiyotikler bazı bakteriler tarafından hastalığı baskıda tutmada büyük bir role sahiptirler. Weller (1988) *A. radiobacter* izolat K84 tarafından üretilen Agrocin 84'ün *A. tumefaciens*'i baskı altına aldığını bildirmiştir.

Krishnamurthy ve Gnanamanickam (1998) *P. fluorescens* Pf7-14 ırkı kullanılarak çeltik tohumlarında yaptıkları çalışmada tohum uygulamasını takiben 3 defa yaprak uygulaması yapıldığı zaman çeltik yanıklığının tohum yataklarında %68.5 baskılandığını tarla denemelerinde ise %59.6 oranında azaldığını belirlemişlerdir.

Bitki büyüme düzenleyici rizobakterilerden *Bacillus pumilus*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Curtobacterium flaccumfaciens* ve

Burkholdera gladioli PR1 proteinini aktive ederek β -glucuronidase oluşumunu sağlamış ve sonuçta *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun domateste meydana getirdiği simptomların azalmasına neden olmuştur (Park ve Kloepper, 2000).

Nejad ve Johnson (2000) izole ettikleri PGPR izolatlar ile yaptıkları çalışmada uygulamanın tohum çimlenmesinde ve fide uzunluğunda azalmaya neden olduğunu buna karşın tohum uygulaması yapıldığında iletim demeti yanıklık patojenlerinden olan *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) ve *Verticillium dahliae*'nin neden olduğu hastalık simptomlarında önemli azalmalara neden olduğunu saptamışlardır.

Chen ve ark, (2000) *Pythium aphanidermatum* neden olduğu hıyarda taç çürüklüğünün çeşitli PGPR tarafından baskı altına alınabileceğini saptamışlardır. *P. corrugata* 13 veya *P. aureofaciens* 63-28 uygulamalarında hıyarda peroksidase (PO) ve polyphenol oxidase (PPO) aktivitelerinin köklerde arttığını ve hıyar kökü bakteri ile kolonize olduktan sonra *P. aphanidermatum* karşı bu enzimlerin artışının sağlanarak hastalık gelişiminde bir azalma olduğunu gözlemişlerdir.

P. fluorescens 5014 izolatı ve 2,4-diacetylphloroglucinol üretme yeteneğindeki 5-2/4 mutandı ile *Phythium ultimum*'a karşı tohum uygulaması yapıldığında bitki ağırlığı artarken hastalık şiddeti ve fungal kolonizasyonunu azalmıştır (Hultberg ve ark, 2000)

Biberde ve domateste *Ralstonia solanacearum*'a karşı ASM ve rizobakteri uygulamalarının etkisi denenmiştir. Rizobakter izolatlarının uygulanması ile en başarılı sonuc elde edilirken Actigard uygulamasının hastalığı engelleyemediği rapor edilmiştir (Anith ve ark, 2004).

Kılıç-Ekici ve Yuen (2004) *Pseudomonas fluorescens* WCS417r rizobakterisinin *in vitro* koşullarda *Bipolaris soskiniana*'nın konidial gelişimini engellediğini bildirmiştir.

Serratia sp. (J2), *Bacillus* sp. (BB11) ve floresan pseudomonas (J3)'ün domateste *Ralstonia solanacearum*'un neden olduğu bakteriyel solgunluğu azalttığı ve üründe %180-237 oranlarında bir artış sağladığı gözlenmiştir (Guo ve ark, 2004).

Biyolojik çalışmalarda genelde bir biyolojik ajan tek bir patojene karşı kullanılır. Birden fazla rizobakteri izolatının karıştırılması ile çok sayıda patojene

karşı kontrol sağlanabilir. Çünkü her bir rizobakteri izolatı farklı mekanizma kullanarak hastalıklara karşı bitkileri koruyacaktır (Silva ve ark, 2004).

Son zamanlarda *Pseudomonas* türleri biyokontrol etmenleri olarak daha fazla dikkat çekmektedir. Burr ve ark, (1978) *P. fluorescens* ve *P. putida* ırklarını patates tohumu, şekerpancarı ve turpta da uygulandıklarında bitki gelişiminin daha iyi olduğunu bildirmişlerdir.

Khalid ve ark, (2003) rizosferden elde edilen rizobakteri izolatları ile yaptıkları çalışmada bitki boyunun (%9.9), kök sayısının (%32.3), başak uzunluğunun (%6.8), samanının (%16.1) ve dane ağırlığının (%29) artırdığını rapor etmişlerdir.

Asghar ve ark, (2004) Brassica türlerinin rizosferinden izole ettikleri rizobakteri izolatlarının *Brassica napus* L.'un kök uzunluğunu (%139), sürgün uzunluğunu (%78) ve sürgün ağırlığını (%72) artırdığını rapor etmişlerdir.

Buğday rizosferinden elde edilen rizobakteri izolatlarının yapılan uygulamalar sonucu kök uzunluğunu (%17.3), kök kuru ağırlığını (%13.5), sürgün uzunluğunu (%37.7) ve sürgün kuru ağırlığını (%36.3) artırdığı, ayrıca saksı denemelerinde dane ağırlığını %14.7 oranında artırırken tarla denemesinde dane ağırlığında %27.5 oranında bir artışa oluşturdıkları belirlenmiştir (Khalid ve ark, 2004).

Floresan *Pseudomonas*'ların hektar başına patatesten %5-33 oranında verim artışı sağlarken, şekerpancarında hektarda ürünü 4-8 tonluk arttırabilmiştir. Turp köklerinde ise floresan *Pseudomonas*'lar %60-144 arasında değişen oranlarda artış sağlandığı saptanmıştır (Schroth ve Hancock, 1982)

3.MATERYAL VE METOD**3.1.Materyal**

Survey alanı, bölge izolatları, Dr. Rudolph'da temin edilen (Göttingen, Almanya) referans kültürler (GSPB 224 ve GSPB 1645), Bursa yağlık ve Karaisalı salçalık biber çeşitleri tohumları ve fideleri, besi yerleri, çeşitli kimyasallar, ELISA antiserum ve PCR malzemeleri bu çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

3.2.Metod**3.2.1.Biber Üretim Alanlarının Surveyi**

Adana, Mersin, Osmaniye, Hatay ve Kahramanmaraş illeri ve ilçelerindeki biber üretim alanlarına, biber fideleri tarlaya şaşırtıldıktan iki hafta sonra başlamak üzere 2002, 2003 ve 2004 yıllarında her 15 günde bir arazi çıkışları düzenlenmiştir. Arazi çıkışlarında en az 5 dönüm olan üretim alanları surveylenmiş ve alanın %1-5'ni temsil edecek şekilde örnekleme yapılmıştır. Örnekleme yapılan üretim alanlarında en az 100 bitki sayılmak üzere hastalıklı ve sağlıklı bitkiler belirlenerek hastalık yoğunluğu hesaplanmıştır (Bora ve Karaca, 1970).

3.2.2.Biber Bakteriyel Leke Etmeninin İzolasyonu

Adana, Mersin, Osmaniye, Hatay ve Kahramanmaraş illeri ve ilçelerindeki biber üretim alanlarından tipik hastalık simptomsu gösteren biber bitkilerinden yaprak, meyve ve gövde örnekleri alınmıştır. Alınan bitki örnekleri gazete kâğıtlarına sarıldıktan sonra naylon torbalara yerleştirilmiş ve buz kutusu içerisinde muhafaza edilerek laboratuara getirilmiştir. Hastalıklı ve sağlıklı doku kısımlarını içeren bitki parçaları % 70'lik alkol ile yüzeyden dezenfekte edilmiş ve içinde 2 ml steril su bulunan havanlarda ezilmiştir. Elde edilen ekstraktan bir öze dolusu süspansiyon alınarak Yeast dekstrozu kalsiyum karbonat (YDC) besi yerine (Ek 1) çizimler yapılmıştır. 25°C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra gelişen sarı renkli koloniler

saflaştırılmış ve gelecekteki çalışmalarda kullanılmak üzere eğik olarak hazırlanmış YDC ortamında +4°C'de buzdolabında saklanmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

3.2.3.Biber Bitkilerinin Yetiştirilmesi

Patojenite testinde Bursa yağlık biber (*Capsicum annuum* L.) bitkileri kullanılmıştır. İçinde 3:1 oranında toprak ve torf karışımı bulunan 25cm çapında plastik kaplar içerisine tohum ekimi yapılmıştır. Fideler 15-20 günlük olduğunda aynı harç karışımı içeren saksılara (8.5x8.5cm) şaşırtılmıştır. Bitkiler 25°C sıcaklık, %60-70 nem ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık koşullardaki klima odasında tutulmuştur.

3.2.4.Patojenin ml'deki Hücre Sayısının Belirlenmesi

YDC besi yerinde geliştirilen 48 saatlik bölge izolatları ve orijinal kültürler spektrofotometrede 600nm 0.2 ölçüm değerine ayarlanarak süspansiyonlar hazırlanmıştır. Elde edilen süspansiyonlardan 100µl alınarak içerisinde 0.9 ml steril su bulunan tüplerde -7'e kadar seri sulandırmalar yapılmıştır. Her bir sulandırmadan içerisinde YDC besi yeri bulunan petrilere 100µl süspansiyon koyulmuş ve bir bağıt yardımı ile ortam üzerine yayılmıştır. Her seyreltme için üç adet petri kullanılmıştır. 25°C'de 48 saat inkübasyondan sonra petriler gelişen koloniler sayılarak ml'deki hücre yoğunluğu hesaplanmıştır (Klement ark, 1990).

3.2.5.Xav'nın Tanı Testleri

3.2.5.1.Koloni Gelişimi

3.2.5.1.(1).YDC Besi Yerinde Gelişim

YDC besi yerine çizilen biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürleri 48-60 saat 25°C'de inkübasyondan sonra sarı koloni gelişimine göre değerlendirilmiştir (Lellito ve Stead, 1987).

3.2.5.1.(2).Nutrient Agar Besi Yerinde Gelişim

Nutrient Agar (NA) besiyerine (Ek 1) çizilen biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürleri 48-60 saat 25°C'de inkübasyondan sonra açık sarı koloni gelişimine göre değerlendirilmiştir (Schaad, 2001).

3.2.5.1.(3).Tween B Besi Yerinde Gelişim

Tween B besiyerine (Ek 1) çizilen biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürleri 7-14 gün 25°C'de inkübasyondan sonra dairesel tümsek beyaz kristalize bir alanla çevrili sarı koloni gelişimine göre değerlendirilmiştir (McGuire ve Jones, 1986).

3.2.5.1.(4).CKTM Besi Yerinde Gelişim

CKTM besiyerine (Ek 1) çizilen biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürleri 7-14 gün 25°C'de inkübasyondan sonra dairesel tümsek çevresinde temiz bir hale bulunan sarı koloni gelişimine göre değerlendirilmiştir (Sijam ve ark, 1991, 1992).

3.2.5.2. Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

Taze hazırlanan %3'lük potasyum hidroksit solüsyonundan lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra biber bakteriyel yaprak leke izolatlarının 48 saatlik kültüründen platin özeyle alınan bakteri, solüsyona dairesel hareketlerle karıştırılmıştır. 15-20 saniye sonra öze yukarı kaldırıldığında viskoz, yapışkanimsi bir sünenin oluşması gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990). Pozitif kontrol olarak *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* (GSPB 382) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.3.Oksidaz Testi

Taze hazırlanan %1'lik N; N; N; N' - Tetramethyl- 1.4 phenylene diammonium diclorid eriği steril filtre kağıdına damlatılmıştır. Biber bakteriyel leke izolatlarının 48 saatlik kültürü platin öze ile ıslak kurutma kağıdına çizildiğinde 10 saniye içinde oluşan koyu mor renk pozitif olarak değerlendirilmiştir (Kovaks, 1956). Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas cichorii* (GSPB 2097) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.4.Oksidasyon/ Fermantasyon Testi (O/F)

Litrede 2g pepton, 5g NaCl, 0.3g KH₂PO₄, 3g agar, 3ml %1'lik bromothymolblue içeren ortam hazırlandıktan sonra tüplere 5'er ml konulmuştur. Otoklavdan sonra 50°C'ye kadar soğutulan tüplerin her birine soğuk sterilizasyon yapılan %10'luk glikoz solüsyonundan 0.5 ml ilave edilmiştir. Taze geliştirilmiş 48 saatlik biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürleri ile nokta aşılama yapılmıştır. Her izolat için 6 tüp kullanılmıştır. Bu tüplerden üçüne 1 ml steril ılık vaspar (Bir ölçü vaselin üç ölçü parafin karışımı) konarak yüzeyi kapatılmış diğer üçüne hiçbir ekleme yapılmamıştır. 25°C'de 5-6 günlük bir inkübasyondan sonra ortam renginin sarıya dönmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Sands, 1990). Pozitif kontrol olarak *Erwinia amylovora* kültürleri, negatif kontrol olarak aşılammamış besi yerleri kullanılmıştır.

3.2.5.5.Nişasta Hidrolizasyonu

Nişastanın hidrolizasyonu için litrede 23gr nutrient agar içeren besi yeri içerisine %2 oranında eriyebilir nişasta ilave edilmiştir. Bunun için 10-20ml distile suda eritilen nişasta ısıtılarak çözüldükten sonra nutrient agara ilave edilmiş ve 121°C'de 15 dakika otoklav edilip steril petrilere dökülmüştür. Besi yerine çizilen biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürleri 7-14 gün 25°C'de inkübasyondan sonra kültürler üzerine lugol eriği (1g iyot ve 2g KI 300ml distile suda eritilmiştir) dökülmüştür. Nişastanın hidrolizasyonu şerit şeklindeki bakteri

kolonisinin etrafında meydana gelen boyanmamış alanın izlenmesiyle saptanmıştır. Pozitif kontrol olarak *Xcv* (GSPB 224) ve negatif kontrol olarak *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (GSPB 1405) kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

3.2.5.6.Katalaz Testi

Litrede 23g nutrient agar ile hazırlanan ortam 121°C'de 15 dakika otoklav edildikten sonra petrilere dökülmüştür. 36-48 saatlik biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürleri ile zigzag şeklinde aşılanan petrilere 25°C'de 24 saat tutulduktan sonra üzerlerine 1ml %3'lük hidrojen peroksit dökülmüştür (solüsyon taze olarak hazırlanmamış ve koyu renkli cam şişelerde muhafaza edilmiştir). Pozitif reaksiyonda birkaç saniye içinde katalaz aktivitesi sonucu açığa çıkan oksijen kabarcıkları gözle görülmüştür. Pozitif kontrol olarak *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (GSPB 224) kullanılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987).

3.2.5.7.Hareketlilik Testi

Litrede 10g tryptone, 5g NaCl ve 5g agar (pH:6.8-7.2) içeren ortam tüplere 5'er ml konulmuş ve 121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Ortam yarı katı formdadır. Öze ile çizgi şeklinde yapılan inokulasyondan sonra 25°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyonun 8, 24 ve 48 saatlerinde değerlendirme yapılmıştır. İnokulasyon bölgesinden çevreye doğru yayılmış bir koloni gelişimi gözlenmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (GSPB 1405) izolatı kullanılmıştır (Schaad ve ark, 2001)

3.2.5.8.Levan Oluşumu

Nutrient Agar ortamına %5 oranında Sakkaroz eklenerek hazırlanan Sakkaroz nutrient agar (SNA) besi yerine (EK 1) biber bakteriyel leke ve aday PGPR izolatları çizildikten sonra 25°C'de 3-4 gün inkübe edilmiştir. Kalın, beyaz, konveks, mukoid

koloniler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987). Pozitif kontrol olarak *Erwinia amylovora* kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.9.Pektolitik Aktivite Testi

Patateslerin yüzeysel sterilizasyonu için önce deterjanlı suda fırçalanarak yıkamış ve daha sonra %1'lik NaOCI'da 3 dakika bekletilmiştir. NaOCI'yi uzaklaştırmak için 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Bu işlemde 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 ve Stead, 1987).

3.2.5.10.Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi

Tütün (*Nicotiana tabacum* cv Samsun N) bitkisi yaprağının alt yüzeyine damar aralarına biber bakteriyel leke izolatlarının 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 ve Goodman, 1967). Pozitif kontrol olarak *P. cichorii* (GSPB 2097) kültürü kullanılmıştır.

3.2.5.11.Patojenite Testi

Elde edilen bakteri izolatları ile 3-5 yapraklı dönemdeki Bura yağlık çeşidi biber bitkileri kullanılarak patojenite testleri yapılmıştır. Bunun için 36-48 saatlik bakteri kültürlerinden hazırlanan 10^6 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon yaprak alt yüzeyinden epidermise enjekte edilmiştir. Pozitif kontrol olarak GSPB 224 ve GSPB 1645 kültürleri, negatif kontrol olarak ise saf su kullanılmıştır. İnokule edilen

bitkiler klima odasına yerleştirilmiş ve yüksek nem sağlamak amacıyla 24 saat süreyle ıslak polietilen torba içerisinde tutulmuştur. Değerlendirme inokulasyondan 7-10 gün sonra yapraklardaki tipik leke oluşumuna göre yapılmıştır (Jones ve ark, 1981).

3.2.5.12.Xav İzolatlarının Bakır Sülfat ve Streptomisine Karşı Dayanıklılıklarının Belirlenmesi

Taze hazırlanan SPA besi yeri (Ek 1) otoklav edildikten sonra 50°C'ye kadar soğutulmuş ve içerisine bakır sülfat (30, 100, 150 ve 300 ppm) ve streptomisin (25 ve 100 ppm) ilave edilerek ve petrilere dökülmüştür. Besi yerine çizilen biber bakteriyel leke izolatları ve orijinal bakteri kültürlerinin 7-14 gün 25°C'de inkübasyonundan sonra gelişimine bakılarak değerlendirilmiştir (Ritchie ve Dittapongpitch, 1991).

3.2.6.Moleküler Tanı

3.2.6.1.Xav İzolatlarının DAS-ELISA Testi İle Tanısı

Das-ELISA testi Febres ve ark, (1996)'na göre yapılmıştır. Yapılan ELISA testlerinde kullanılan plakaların her birinde ticari ELISA kiti ile hazır gelen negatif ve pozitif kontrol kullanılmıştır. Negatif kontrolün iki katı ve daha fazla absorbans değerini (>2x) veren sonuçlar pozitif olarak değerlendirilmiştir.

Arazi çıkışları sonucu toplanan hastalıklı bitki örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu elde edilen izolatlar Loewe marka ticari kit (Katalog No: 07131) ile testlenmiştir. Bu amaçla yapılan DAS-ELISA yönteminde firmanın belirttiği şartlara da dikkat edilmiştir. DAS-ELISA testinde izlenen prosedür aşağıda verilmiştir

Kaplama tamponu (Ek 2) içinde sulandırılan gama globülinden ELISA plakasındaki her çukuruna 200µl konmuş ve plakanın üzeri kapatılarak 37°C'de 4 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyondan sonra yıkama tamponu (Ek 2) ile tüm çukurlar üç kez yıkanmıştır. Yıkama tamponu 3 dakika süre ile çukurda bekletilmiş ve aniden ters çevrilerek plaka boşaltılmış ve 6-8 kat kağıt havlu üzerine vurularak kuruması sağlanmıştır.

Her bir çukura örnek tamponu içinde hazırlanan testlenecek bakteri süspansiyonundan 3 tekrarlı olmak üzere 200µl yerleştirilmiştir. Plaka üzeri kapatılarak 37°C'de 4-6 saat veya 4°C'de bir gece boyu inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası plaka, çukurlar arası karışma olmayacak şekilde dikkatlice yıkama tamponu ile üç kez yıkanmıştır.

Konjugate tamponu (Ek 2) ile optimum kullanılacak konsantrasyona göre sulandırılmış konjugattan her bir çukura 200µl konmuş ve plaka 30°C'de 4-6 saat veya 4°C'de gece boyu inkübasyona bırakılarak yıkanmıştır

Subtrat tamponu (Ek 2) ile taze olarak hazırlanan substrattan (0.75-1.0 mg/ml p-nitrophenyl phosphate) her bir çukura 200µl konmuş ve 30-60 dakika veya gerekli olduğunda daha uzun süre oda sıcaklığında karanlıkta inkübe edilmiştir.

Titertek Multiscan marka ELISA plate okuyucusunda 405 nm dalga boyunda plaka çukurlarının absorbans değerleri belirlenmiştir. Daha sonra devam eden reaksiyon 50µl 3N NaOH ile durdurulmuştur.

3.2.6.2.Xav İzolatlarının PCR Tekniği İle Tanısı

Elde edilen Xav şüpheli izolatlar ve GSPB 224 ile GSPB 1645 kodlu referans izolatların DNA'sı De Boer ve Ward (1995)'a göre izole edilmiştir. Bu yöntemde izlenen prosedür aşağıda verilmiştir.

1. Bakteri izolatları 9 ml Nutrient broth sıvı besi yerine (Ek 1) aşılanarak 24 saat geliştirilmiştir.

2. Bakteri süspansiyonundan 1ml steril ependorf tüpüne alınmış ve tüplerin ağırlıkları dengelenerek 14.000rpm'de 20dak. santrifüj edilmiştir.

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

4. Tüpler 50°C'deki su banyosunda 3 saat bekletilmiştir.
 5. 7.5M Amonyum asetat (Ek 3) (1 ölçeğe yarım ölçek olacak şekilde) eklenerek karıştırılmıştır.
 6. 14.000rpm'de santrifüj yapılarak amonyum asetat artıklarının altta toplanması sağlanmıştır. Üste kalan DNA kesik bir pipet ucu ile alınmış (yaklaşık 130µl) ve yeni bir eppendorf tüpüne aktarılmıştır.
 7. Buna eşit miktarda (yaklaşık 130µl) derin dondurucuda soğutulmuş isopropanol eklenmiştir. Tüpler derin dondurucuda 45dak. bekletilmiştir.
 8. 10.000rpm'de 10dak. santrifüj yapılarak pellet alınmıştır.
 9. Soğutulmuş %70'lik alkolden 100µl eppendorf tüplerine eklenmiş ve 10.000rpm'de 10 dak. santrifüj yapılarak alkolle yıkama yapılmıştır.
 10. Eppendorf tüplerinden alkol dökülmüş ve steril kabinde bir saat kurumaya bırakılmıştır.
 11. Eppendorflar içerisine 40 µl bidistile su (ddH₂O) konarak tüp karıştırıcısında karıştırılmıştır.
 12. Daha sonra bu DNA'lar %1'lik hazırlanan agarose jele (Ek 3) verilerek izole edilip edilmedikleri tespit edilmiştir. Hazırlanan agaroz jel 70 miliamperde yarım saat yürütüldükten sonra etidyum bromid (10mg/ml) ile boyama yapılmış ve transliminatörde bantlar incelenmiştir.
- PCR çalışması Leite ve ark, (1995)'e göre yapılmıştır. Çalışma, reaksiyon tüpü adı verilen 0.5ml'lik ince duvarlı eppendorf tüplerde toplam hacmi 25µl olan reaksiyon karışımının kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımının içeriği Çizelge 3. 1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1.PCR işleminde kullanılan reaksiyon karışımın içeriği

<u>Reaksiyon Karışımının İçeriği</u>	<u>Miktarı (µl)</u>
PCR Master Mix (Promega, M7502)	12.5
20pmole RST9 primer	2.0
20pmole RST10 primer	2.0
H ₂ O (Nuclease free water)	6.5
g-DNA	2.0
Toplam	25

Kullanılan Primerlerin dizilişleri şöyledir:

RST9 : 5'-GGCACTATGCAATGACTG-3'

RST10 :5'-AATACGCTGGAAGCTGCTG-3'

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

Çizelge 3.2.PCR işlemi için kullanılan programı

	<u>Program adımlar</u>	<u>Sıcaklık (°C)</u>	<u>Süre(dak)</u>
1	İlk denatürasyon	93	2
2	Denatürasyon	94	1
3	Primer annealing	55	1.5
4	Extention	72	1
5	(2,3,4)x30 Döngü		
6	Final extention	72	10
7	Beklemede	4	Süresiz

Elde edilen bakteri DNA'sının ve PCR ürünlerinin Agarose jel elektroforezine yönelik çalışmalar Sambrook ve ark, (1989)'a göre yapılmıştır. Bunun için 0.9g agarose 90ml 1XTAE (Ek 3) tamponuna konularak mikrodalga fırında eriyinceye kadar kaynatılmıştır. Yaklaşık 50°C'ye kadar soğutulan solüsyon, taraklar yerleştirilen jel tepsisine dökülmüştür. Agaroz jelin donmasından sonra jel tankı içerisine jeli örtünceye kadar 1XTBE buffer (Ek 3) konmuştur. Daha sonra örnek koymak için kullanılan tarak dikkatlice çekilerek çıkarılmıştır. Bu şekilde hazırlanan agaroz jel çukurlarına 3µl loading buffer (Ek 3) ve 12µl PCR ürünü karışımı bir mikropipet yardımı ile dikkatlice verilmiştir. Moleküler ağırlık işaretleyici (Marker) olarak 100bp DNA işaretleyici (Marker, Fermentos SM 0623) kullanılmıştır. Elektroforez tankında agaroz jeldeki örnek hücrelerin bulunduğu yer güç kaynağının negatif (-) kutbuna denk gelecek şekilde yerleştirilmiş ve PCR ürünleri 100V elektrik akımında yaklaşık 1 saat süre ile yürütülmüştür. Bantların görülmesi için ethidium bromür ile (10mg/ml) 10 dak. boyama yapılmış ve bunu takiben 15 dak. saf su ile jel yıkanarak transliminatörde (302nm) bantlar incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.

3.2.6.3.Xav İzolatlarının Yağ Asit Profillerinin Belirlenmesi:

Çalışmanın bu kısmı Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde (Erzurum) Doç. Dr. Fikretin ŞAHİN danışmanlığında yapılmıştır. Çalışmada kullanılan PGPR izolatları De Boer ve Sasser (1986)'in yöntemine göre hazırlanmış ve yağ asit metil ester profilleri gaz kromatografisi (HP6890, Hewlettpackard, Palo Alto, CA) ile birbirinden ayrılarak tanımlanmıştır. İzolatların yağ içeriklerini tanılamak için 4 farklı çözelti kullanılmıştır. Türlerin tanısında Mikrobiyal Identifikasyon Sistemin (MIS version 4.5, Microbial ID, Inc., Newark, DE) bilgisayar programı kullanılmıştır. Elde edilen yağ asit oranları ile yapılan küme analizi ile izolatlar arasında bulunan akrabalık dereceleri belirlenmiştir. Çalışmada aşağıdaki prosedür izlenmiştir.

Tryticase soy agar (TSBA) besi yerine (Ek 4) 4 fazlı şekilde çizilen izolatlar 25°C'de 24 saat geliştirilmiştir. Geliştirilen bakterinin 3. ve 4. fazından toplanarak ağzı teflon kapaklı steril cam tüplere konmuştur. Hücreleri parçalamak için her bir test tüpüne 1ml çözelti 1'den (Ek 4) eklenmiştir. Tüpler 10 saniye çalkalandıktan sonra 100°C'deki su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir. Çıkarılan tüpler tekrar 10 saniye daha çalkalanmıştır. Daha sonra 100°C'deki su banyosunda 25 dakika bekletilmiştir. Bu işlemle bakteri hücreleri parçalanarak yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmıştır. Test tüplerine 2ml çözelti 2'den (Ek 4) eklenip 10 saniye çalkalandıktan sonra tüpler 80°C'deki su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir. Bunu takiben tüpler -20°C'de 10 dakika tutulmuştur. Bu işlem ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenerek yağ asitlerinden yağ asit metil esterleri elde edilmiştir. Bu durum yağ asitlerine yüksek sıcaklıkta buharlaşma özelliği kazandırmaktadır. Soğutulmuş tüplere 2.5ml çözelti 3 (Ek 4) eklenerek 5 dakika tüpler çalkalanmıştır. Bu aşamada tüplerin alt kısmında asidik, üst kısmında da organik sıvı fazları olmak üzere iki ayrı faz oluşmuştur. Pastör pipet kullanılarak tüplerin alt kısmındaki asidik faz atılmış ve organik faz toplanmıştır. En son aşamada ise her tüpe 3ml çözelti 4 (Ek 4) ilave edilerek 5 dakika çalkalanmıştır. Daha sonra tüpler 10 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Çözelti 4 bazik bir solusyon olup serbest yağ metil esterlerinin daha fazla saf olarak elde edilmesini sağlar. Bu

aşamadan sonra tüpler içerisinde yine iki farklı faz oluşmuştur. Üst fazda toplanan yağ asit metil esterlerini içeren faz, pastör pipet ile alınarak 2ml'lik gaz kromatografisi tüplerine aktarılmış ve ağızları sıkıca kapatılmıştır. Tüpler MIS cihazı (HP6890, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA) üzerindeki örnek depolama birimine yerleştirilmiş ve daha sonra Mikrobiyal Identifikasyon Sistemin (MIS) bilgisayar paket programı kullanılarak (Shelock MIS version 4.5 Microbial ID, Inc. Newark, Delaware) her izolat tanımlanmıştır. İzolatların yağ asit türleri ve % oranlarına bakılarak istatistikî analizler yapılmış ve aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

3.2.7.PGPR İzolasyonu ve Tanısı

PGPR İzolasyonu: PGPR'lerin izolasyonu için Adana, Mersin, Osmaniye, Hatay ve Kahramanmaraş illerinde biber üretimi yapılan alanlarda, bitki kök bölgesi toprağından örnekler alınmıştır. Biber üretim alanlarında örnek alırken üretim alanında diğer bitkilere göre daha iyi gelişmiş bir görünümde olan bitkiler dikkate alınmıştır (Şekil 3.1.). Seçilen bitkilerin kök boğazından kılcal kökler de dâhil olmak üzere toprak örnekleri alınmıştır. Bir üretim alanından örnekleme yapılırken, üretim alanında bir zigzag yapılarak alanın tamamını temsil etmesine özen gösterilmiştir. Toplanan örnekler önce kese kağıdına sonra plastik torbalara konularak buzluk içerisinde laboratuara getirilerek bunlardan bakteri izolasyonları yapılmıştır.



Şekil 3.1.Biber üretim alanlarında toprak örneklerinin alındığı bitki

Toprak ve kök izolasyonu Freitas ve ark, (1997) ile Rangarajan ve ark, (2003)'e göre yapılmıştır. Toplanan toprak örnekleri laboratuvar koşulunda iyice kurutulmuş ve daha sonra 0.2mm delik büyüklüğüne sahip toprak eleğinden geçirilmiştir. Bu şekilde hem yabancı maddeler topraktan uzaklaştırılmış hem de üretim alanından alınan topraklar homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Homojen olarak karıştırılan elenmiş toprak örneklerinden 10gr alınarak 90ml fosfat buffer-tuz tamponu (PBS)(Ek 2) içerisinde oda sıcaklığında iki saat çalkalanmıştır. Süspansiyondan 1ml alınarak içerisinde 9ml saline buffer (% 0.85 NaCl) bulunan tüplerde seyreltme serileri hazırlanmıştır ve -4, -5 ve -6 seyreltmelerden 100µl alınarak 3 tekerrürlü olarak King B besi yerine (King ve ark, 1954) (KB) (Ek 1) ekimler yapılmıştır. 25°C'de 48 saat inkübasyondan sonra petrillerdeki koloni gelişmeleri incelenerek farklı morfolojik gelişim gösteren kolonilerden saflaştırma yapılmıştır.

Saflaştırılan izolatların King B besi yerinde gelişimi, potasyum hidroksit testi, oksidaz reaksiyonu, levan oluşumu, patates dilimlerinde pektolitik aktiviteleri, tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu 3.2.5'de anlatıldığı gibi PGPR izolatları içinde aynı testler uygulanmıştır. Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu ve patates dilimlerinde pektolitik aktiviteleri pozitif olan izolatlar deneme dışı bırakılmıştır. Elde edilen izolatlar sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere 4°C'de YDC besi yerinde saklanmıştır

Çalışmanın bir sonraki adımı olan fosfatı indirgeyen bakteriler seçilmiş ve onların tanıları 3.2.6.3'de anlatıldığı gibi FAME analizleri yapılmıştır.

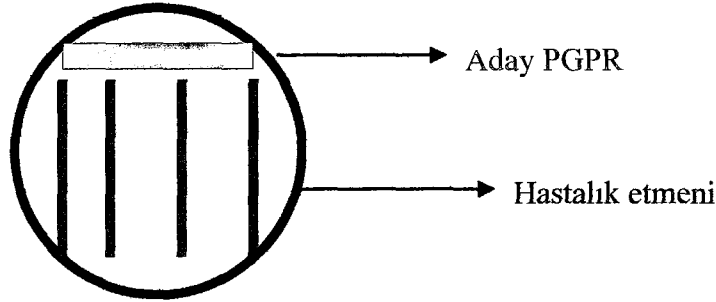
Aday PGPR İzolatlarının Seçimi: Elde edilen aday PGPR izolatları arasında seçim fosfatı indirgeme özelliklerine göre yapılmıştır. Tüplere hazırlanan NBRIP (National Botanical Research Institute's phosphate growth medium) sıvı besi yerine (Ek 1) (Nautiyal, 1999) izolatlar üç tekerrürlü olarak aşılanmış, 14 gün 25°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Spektrofotometrede 400nm'de absorbans değerleri ölçülerek kaydedilmiştir. İnkübasyon sonunda koyu mavi renkte olan sıvı besi yerinde renk açılmasına neden olan ve absorbans değerleri en küçük olan izolatlar aday PGPR olarak seçilmiştir.

Ayrıca en düşük absorbans değerini gösteren 3 izolatın Freitas ve ark, (1997)'na göre fosfatı çözme miktarları belirlenmiştir. Bakteri izolatları 125 ml sıvı patates dekstroz yeast sıvı besi yerine aşılama yapılmış ve 125devir/dakika 27°C'de 24 saat çalkalanarak geliştirilmiştir. Buradan 1 ml alınarak 125 ml RPAM (0.4 gr K_2HPO_4 , 0.5g $(NH_4)_2SO_4$, 0.05g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.1g $MgCl_2$, 0.01g $FeCl_3$, 0.1g $CaCl_2$, 1g peptone, 1g yeast ekstrakt, 1g glikoz, %0.5 (w/vol-1) bromtylmol blue) besi yerine üç tekrar olarak aşılama yapılmıştır. Karanlık ortamda 27°C ve 125dev/dak besi yeri çalkalanmıştır. 0., 2., 3., 6., 8., 9., ve 15. günlerde 10 ml alınarak 5000g'de 15 dakika santrifuj edilmiş ve süpernatant alınmıştır. Elde edilen supernatant 0.45µm filtreden geçirilmiştir. Bunu için 1ml kültür 1ml 25mM p-nitrophenyl phosphate ve 4.0ml buffer eklenmiş ve 1 saat beklenmiştir. Daha sonra 1.0ml 0.5M $CaCl_2$ ve 4 ml 0.5M NaOH eklenerek karışım Whatman No:2 filtre kağıdından geçirilerek oluşan sarı renk 410 nm'de ölçüm yapılarak çözünen fosfat miktarı belirlenmiştir.

3.2.8.Seçilen PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etkilerinin Testlenmesi

Adana, Mersin, Hatay, Osmaniye ve Kahramanmaraş'tan elde edilen 189 adet aday PGPR izolatları KB besi yerinde bakteriyel leke etmeni *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'ya karşı antibiosis etkileri Krishnamurthy ve Gnanamarickam (1998) ve siderefor etkileri ise Kloepper ve ark, (1980) ile Bora ve Özaktan (1998)'a göre testlenmiştir (Şekil 3.2).

KB besi yerine aday PGPR izolatları çizilmiş ve 25°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonra aday PGPR'ye dik olacak şekilde dört farklı noktadan bakteriyel leke etmeninin çizimi yapılmış ve petri tekrar 25°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan 96 saat sonra aday PGPR izolatlarının *Xav* gelişimine olan etkileri engelleme zonları ölçülerek değerlendirilmiştir. Bu deneme üç tekerrürlü olarak yürütülmüştür.



Şekil 3.2. Aday PGPR izolatlarının ve hastalık etmeninin petri kabındaki ekim deseni

Antibiyosis etkinin belirlenmesinde olduğu gibi izolatlar aynı yöntemle Xav'a testlenmiştir. Ancak besi yeri olarak litreye 80µM Fe⁺³ eklenmiş KB besi yeri kullanılmıştır.

3.2.9.PGPR'lerin Xav Üzerine Etkisi

Fosfatı indirgeme yeteneğine göre seçilen 3 aday PGPR izolatlarının (M1-3, M3-1 ve H8-8) tekli, ikili ve üçlü kombinasyonları kullanılarak saksı ve tarla denemeleriyle bu izolatların bakteriyel leke hastalığına etkisi araştırılmıştır.

Saksı Çalışması: Deneme 2002 yılının Mayıs Haziran ayları arasında 3.2.3'de belirtilen koşullardaki klima odasında yapılmıştır. Çalışmada fideleri tarafımızdan yetiştirilen "Bursa Yağlık" çeşidi biber bitkileri kullanılmıştır. Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş, 6 tekrarlı ve her tekrarda bir bitki olacak şekilde planlanmıştır.

Aday PGPR izolatlarının 24-36 saatlik kültüründen 10¹¹ hücre/ml (A₆₀₀:0.1) yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmıştır. İzolatların ikili ve üçlü karışımları hazırlanırken her birinden eşit hacimde alınmıştır. 4-5 yapraklı dönemdeki biber fideleri saksılarından çıkarılmıştır. Hazırlanan PGPR süspansiyonu içerisinde 15 dakika daldırıldıktan sonra fideler tekrar saksılara aktarılmıştır. Kontrol olarak 6 bitki çeşme suyu içerisine 15 dakika daldırılmıştır. Uygulamadan bir hafta sonra XCVA4-4 kodlu patojenin 36-48 saatlik kültüründen hazırlanan 10⁸ hücre/ml (A₆₀₀:0.2) yoğunluğundaki süspansiyondan 1ml alınıp steril bir enjektörle kontrol uygulaması

dahil tüm bitkilerin yapraklarından inokulasyon yapılmıştır. Patojen inokulasyonundan sonra fideler 24 saat nemli polietilen torbalarda muhafaza edilerek nem çemberi oluşturulmuştur. Negatif kontrol olarak 6 bitkiye hiçbir uygulama yapılmamıştır. Bitkiler her gün kontrol edilmiş ve hastalık çıkışı takip edilmiştir. Hastalık çıkışı 0-5 skalasına (0:Herhangi bir simptom yok, 1:Birkaç nekrotik leke, 2:Birleşmiş birçok leke, 3:Şiddetli hastalık simptomu, 4:Ölü yaprak ve yaprak dökümü, 5:Bitki ölümü) göre değerlendirilmiş ve izolatlar arasındaki farklar ANOVA (Duncan $p \leq 0.05$) testine göre belirlenmiş, uygulamaların etkinliği ise % Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

Tarla Çalışması: Tarla denemeleri Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama Parselinde 500m²'lik alanda 2003 ve 2004 yıllarının Mayıs-Eylül ayları arasında yürütülmüştür. Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre 6 tekrarlı ve her tekrarda 9 bitki olacak şekilde planlanmıştır. Çalışmada "Karaisalı salçalık" biber çeşidi kullanılmıştır. Fidler ticari bir fidelikten satın alınmış ve hepsinin hemen hemen aynı boyda ve gelişim düzeyinde olmasına özen gösterilmiştir. Viyoller içerisinde gelen fideler 15 dakika 10¹¹ hücre/ml yoğunluğundaki aday PGPR süspansiyonunda daldırılmış ve tarlaya şaşırtılmıştır. Kontrol parselindeki bitkiler ise çeşme suyuna daldırılmıştır. Bir hafta sonra tüm bitkiler 1ml 10⁸ hücre/ml yoğunluğundaki patojen süspansiyonuyla yapraklardan enjeksiyon yöntemiyle inokule edilmiştir. PGPR uygulaması yapılmadan çeşme suyuna daldırılan bitkilere patojen inokulasyonu yapılarak pozitif kontrol parseli olarak değerlendirilmiştir. Bir parseldeki bitkilere ise hiçbir uygulama yapılmamış ve negatif kontrol olarak bırakılmıştır. İnokulasyondan sonra bitkiler günlük olarak incelenmiş ve pozitif kontrol parselindeki bitkilerde hastalık belirtileri gözlenince 0-5 skalasına göre değerlendirilmiş ve izolatlar arasındaki farklar ANOVA (Duncan $p \leq 0.05$) testine göre belirlenmiş, uygulamaların etkinliği ise % Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

3.2.10.PGPR İzolatlarının İnfekteli Biber Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi

Saksı denemesi ve iki yıllık yapılan tarla çalışmalarında PGPR izolatlarının bitki büyümesine etkisini saptamak için kontrol parselindeki bitkilerle, PGPR uygulaması yapılmış bitkilerin boyları, gövde çapları, bitki yaş ağırlıkları, bitki kuru ağırlıkları, kök uzunlukları, kök kuru ağırlıkları, verimleri, meyve boyları ve meyve sayıları ölçülerek değerlendirilmiştir. Kuru ağırlık verileri alınırken bitkiler kese kağıtlarına koyularak 80°C'deki etüvde bir gece kurutulmuştur (Nejad ve Johnson, 2000).

Tarla çalışmasında fidelerin boyları 15 günde bir ölçülerek kaydedilmiştir. PGPR uygulamasından 150 gün sonra bitkiler sökülerek bitkilerin; yeşil aksam ağırlıklarına, kuru ağırlığına, kök yaş ağırlıklarına, kök kuru ağırlıklarına, kök uzunluklarına, gövde çapı ve verime olan etkisi değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar ANOVA (Duncan $p \leq 0.05$) istatistiki analizlerle değerlendirilmiş ve uygulamalar arasındaki fark saptanmıştır.

3.2.11.PGPR İzolatlarının Sağlıklı Biber Bitkilerinde Bitki Büyümesine Etkisi

Fosfatı indirgeme yeteneğine göre seçilen 3 aday PGPR izolatlarının (M1-3, M3-1 ve H8-8) tekli, ikili ve üçlü kombinasyonları kullanılarak viyol, saksı ve tarla denemeleriyle bu izolatların bitki büyümesine etkisi araştırılmıştır.

Viyol Çalışması: Deneme 2002 yılının Ocak-Mayıs ayları arasında 3.2.3'de belirtilen koşullardaki klima odasında yapılmıştır. Viyollere steril torf koyulmuş ve her bir çukura iki adet "Bursa yağlık" biber tohumu ekilmiştir. Her viyol çukurlarından çıkan fidelerden farklı boyda olanlar sökülmüş ve benzer gelişim gösterenler denemeye dahil edilmiştir. 24-36 saatlik aday PGPR izolatlarından 10^{11} hücre/ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmış ve fidelerin yapraklarına püskürtülmüştür. Uygulama haftada bir aynı gün aynı saatte olmak üzere 10 hafta süreyle tekrarlanmıştır. Kontrol olarak kullanılan bitkilere ise çeşme suyu

püskürtülmüştür. Bu süre sonunda bitkiler sökülerek bitkilerin; bitki boyuna, gövde çapına, yaprak sayısına, yaprak alanına, bitki kuru ağırlığına ve kök kuru ağırlığına etkisi belirlenmiştir (Zhang ve ark, 1997; Garcia ve ark, 2004). Kuru ağırlık verileri alınırken bitkiler kese kağıtlarına koyularak 80°C'deki etüvde bir gece kurutulmuştur (Nejad ve Johnson, 2000). ANOVA (Duncan $p \leq 0.05$) istatistik testi ile izolatlar arasındaki farklar belirlenmiştir

Saksı Çalışması: Deneme 2002 yılının Mayıs-Haziran ayları arasında 3.2.3'de belirtilen koşullardaki klima odasında yapılmıştır. Çalışma fideleri tarafımızdan yetiştirilen "Bursa Yağlık" çeşidi biber bitkileri kullanılmıştır. Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş, 6 tekrarlı ve her tekrarda bir bitki olacak şekilde planlanmıştır. Aday PGPR izolatlarının 24-36 saatlik kültüründen 10^{11} hücre/ml ($A_{600:0.1}$) yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmıştır. İzolatların ikili ve üçlü karışımları hazırlanırken her birinden eşit hacimde alınmıştır. 4-5 yapraklı dönemdeki biber fideleri saksılarından çıkarılmıştır. Hazırlanan PGPR süspansiyonu içerisinde 15 dakika daldırıldıktan sonra fideler tekrar saksılara aktarılmıştır. Kontrol olarak 6 bitki çeşme suyu içerisinde 15 dakika daldırılmıştır.

Tarla Çalışması: : Tarla denemeleri Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama Parselinde 500m²'lik alanda 2003 ve 2004 yıllarının Mayıs-Eylül ayları arasında yürütülmüştür. Çalışma tesadüf blokları deneme desenine göre 6 tekrarlı ve her tekrarda 9 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Çalışmada "Karaisalı salçalık" biber çeşidi kullanılmıştır. Fideler ticari bir fidelikten satın alınmış ve hepsinin hemen hemen aynı boyda ve gelişim düzeyinde olmasına özen gösterilmiştir. Fideler tarlaya şaşırtılmadan önce 15 dakika 10^{11} hücre/ml yoğunluğundaki aday PGPR süspansiyonunda daldırılmış ve tarlaya şaşırtılmıştır. Bir parseldeki bitkilere ise hiçbir uygulama yapılmamış ve negatif kontrol olarak bırakılmıştır. İzolatlar arasındaki farklar ANOVA (Duncan $p \leq 0.05$) testine göre belirlenmiş, uygulamaların etkinliği ise % Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

Saksı denemesi ve iki yıllık yapılan tarla çalışmalarında PGPR izolatlarının bitki büyümesine etkisini saptamak için kontrol parselindeki bitkilerle, PGPR uygulaması yapılmış bitkilerin boyları, gövde çapları, bitki yaş ağırlıkları, bitki kuru ağırlıkları, kök uzunlukları, kök kuru ağırlıkları, verimleri, meyve boyları ve meyve sayıları ölçülerek değerlendirilmiştir. Kuru ağırlık verileri alınırken bitkiler kese kağıtlarına koyularak 80°C'deki etüvde bir gece kurutulmuştur (Nejad ve Johnson, 2000).

4.BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1.Biber Üretim Alanlarının Survey Sonuçları

Doğu Akdeniz Bölgesinde Mersin ili Kazanlı, Silifke ve Aydıncık ilçelerinde örtü altı biber yetiştiriciliği, Adana ili Merkez, Karaisalı, Ceyhan ve Karataş ilçelerinde, Osmaniye ili Sunbas ve Kadirli ilçelerinde, Kahramanmaraş ili Merkez, Narlı, Pazarcık ve Türkoğlu ilçelerinde, Hatay ilinde ise Merkez, Serinyol, Kırkhan, ve Erzin ilçelerinde açık alanda biber üretimi yapılmaktadır ve bu alanlar çalışmada surveylenmiştir.

Tarlada üretim yapan çiftçiler Şubat-Mart aylarında hazırlanan fide yastıklarına tohum ekimini yapmaktadırlar. Fideler Nisanın ikinci yarısında tarlaya şaşırtılmaktadır. Ürün hasadı Temmuzun ikinci yarısında başlamakta Eylül-Ekim aylarına kadar sürmektedir. Mersin, Adana ve Hatay illerinde tarlaya hazırlanan karıkların sırtlarına ekim yapılırken (Şekil 4.1) Kahramanmaraş ilinde tohumlar direk hazırlanan tavalara ekilmektedir (Şekil 4.2). Yapılan gözlemlerde bu ekim farklılığından dolayı özellikle fungal bir hastalık olan biber yanıklığı hastalığı (*Phytophthora capsici*) Kahramanmaraş bölgesinde daha yoğun olarak ortaya çıkmaktadır. Bir tavada hastalık ortaya çıktığında sulama ile beraber hastalık diğer tavalara bulaşmaktadır.

Adana'nın Karaisalı ilçesindeki biber üretim alanları 2002, 2003 ve 2004 yıllarında Haziran ayından itibaren 15 gün ara ile sürekli kontrol edilmiştir. Hatay, Osmaniye, Kahramanmaraş ve Mersin illerine ise 2002 yılında birer kez olmak üzere arazi çıkışları düzenlenmiş ve elde edilen bulgular Çizelge 4. 1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2002 üretim yılında Doğu Akdeniz Bölgesi biber üretim alanlarına yapılan survey sonuçları

Yer	Üretim Alanı(da)	Survey Yapılan Tarla Sayısı	Üretim Alanı (da)	Xav İle Bulaşık Tarla Sayısı
Mersin	2500	7	40	0
Adana	6000	50	426	41
Osmaniye	1100	5	70	3
Hatay	40000	14	4000	0
Kahramanmaraş	15000	11	200	0



şekil 4.1. Mersin, Adana ve Hatay illerinde biberin karışa ekim şekli



şekil 4.2. Kahramanmaraş ilinde biberlerin tavalara ekim şekli

Çizelge 4.2.2002, 2003 ve 2004 üretim yıllarında Adana biber üretim alanlarına yapılan survey sonuçları

Yıl	Yer	Tarla Sayısı	Toplam Alanı (Da)	Survey Alan(Da)	Hasta Tarla Sayısı	Hasta Bitki %'si	Bulaşık Tarla %'si
2002	Salbaş	13	300	82	7	16	54
	Pirili	10	450	219	5	4	50
2003	Salbaş	23	380	155	22	32	92
	Pirili	17	500	230	14	8	82
	Kuyucu	4	50	28	4	23	100
	Güvenç	2	25	8	2	17	100
2004	Salbaş	8	250	145	8	42	100
	Pirili	6	350	228	6	25	100

Çizelge 4.1'de de görüldüğü üzere Mersin bölgesinde survey yapılan 40 dönümünde hastalık görülmezken Adana bölgesinde gezilen 426 dönümün %82'sinin *Xav* ile bulaşık olduğu saptanmıştır. Osmaniye ilinde 70 dönüm üretim alanının %60'ında hastalık belirlenmiştir. Hatay ve Kahramanmaraş ilinde hastalığa rastlanılmamıştır. Hatay ve Kahramanmaraş bölgelerinde bakteriyel leke hastalığının gözlenmemesi klima koşullarına ve özellikle Hatay bölgesinde hibrit çeşitlerin kullanılmasına bağlanmaktadır. Gerek Kahramanmaraş'ta ve gerekse Hatay illerinde sürekli bir esintinin bulunması ve dolayısıyla hava neminin ortadan kalkması sonucu, bakteriyel leke hastalığının ortaya çıkışına engel olduğu da düşünülmektedir. Adana bölgesinde ise, hem iklim koşullarının bakteriyel lekenin oluşması için uygun olması hem de üreticilerin tohumluklarını kendi üretim alanlarından sağlamalarından dolayı hastalık her yıl artan oranda ortaya çıkmaktadır (Çizelge 4.2). Adana Karaisalı bölgesinde kurulan salça fabrikasına bölgedeki biber üretimi yeterli olmamaktadır. Bu nedenle Osmaniye ili Sunbas ilçesine biber tohumları Karaisalı salça fabrikası tarafından üretimi yapılmak üzere gönderilmiş ve böylece tohum kökenli hastalık olan bakteriyel yaprak leke hastalığı Sunbas bölgesine giriş yapmıştır. Bu tarihten itibaren bu bölgede de hastalık Karaisalı üreticilerin yaptığı gibi, kendi tohumlarını kendi üretim alanlarından sağlamalarından dolayı artan yoğunlukta ortaya çıkmaya başlamıştır.

4.2.Bakteri İzolatlarının Tanılama Test Sonuçları

Yapılan arazi incelemelerinde bakteriyel leke simptomu gösteren bitkilerden örnekler alınmıştır. Yaprak, meyve sapı ve taç yaprakları hastalığa en duyarlı yerler olduğu gözlenmiştir. Biberdeki yaprak lekeleri iri düzensiz ve şekilsiz olabilmektedir (Şekil 4.3 ve 4.4). Gövde simptomları önce hafif suşu ve sarımsı zamanla koyu kahverengi ve üzeri derin çatlaklar oluşmuş nekrotik lekeler şeklindedir (Şekil 4.5 ve 4.6). Meyvedeki bakteriyel lekeler başlangıçta küçük, düzensiz, kabarcık şeklindedir ve daha sonra kahverengi sığilli bir görünüm aldığı belirlenmiştir (Şekil 4.7). Güneşe maruz kalan meyvelerde güneş yanığı ve sekonder meyve çürüklüklerin meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 4.8). Tipik hastalık simptomları gösteren bitki örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucu 67 adet bölge izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların izole edildiği yer ve izolasyon tarihi Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Çalışmada kullanılan bakteriyel leke Xcv izolatlarının listesi

	İzolatların Kod Adları	İzole Edildiği Yer	İzolasyon Tarihi
1	GSPB224-1*	Almanya (Referans izolat)	-
2	GSPB 2645*	Almanya(Referans izolat)	-
3	XCVME1-1	Mersin	2001
4	XCVME1-2	Mersin	2001
5	XCVME1-3	Mersin	2001
6	XCVME1-4	Mersin	2001
7	XCVA1-1**	Karaisali-Adana	2000
8	XCVA1-2**	Karaisali-Adana	2000
9	XCVA1-3**	Karaisali-Adana	2000
10	XCVA1-4**	Karaisali-Adana	2000
11	XCVA1-5**	Karaisali-Adana	2000
12	XCVA1-6**	Karaisali-Adana	2000
13	XCVA1-7**	Karaisali-Adana	2000
14	XCVA1-8**	Karaisali-Adana	2001
15	XCVA2-1	Karaisali-Adana	2001
16	XCVA2-2	Karaisali-Adana	2001
17	XCVA2-3	Karaisali-Adana	2001
18	XCVA2-4	Karaisali-Adana	2001
19	XCVA2-5	Karaisali-Adana	2001
20	XCVA3-1**	Ceyhan-Adana	2001
21	XCVA3-2**	Ceyhan-Adana	2001
22	XCVA3-3**	Ceyhan-Adana	2001
23	XCVA3-4**	Ceyhan-Adana	2001
24	XCVA3-5**	Ceyhan-Adana	2001
25	XCVA4-1	Pirili-Karaisali-Adana	2002

Çizelge 4.3'ün devamı

	İzolaların Kod Adları	İzole Edildiği Yer	İzolasyon Tarihi
26	XCVA4-2	Pirili-Karaisalı-Adana	2002
27	XCVA4-3	Pirili-Karaisalı-Adana	2002
28	XCVA4-4	Pirili-Karaisalı-Adana	2002
29	XCVA4-5	Pirili-Karaisalı-Adana	2002
30	XCVA5-1**	Salbaş-Karaisalı-Adana	2001
31	XCVA5-2**	Salbaş-Karaisalı-Adana	2001
32	XCVA5-3**	Salbaş-Karaisalı-Adana	2001
33	XCVA5-4	Salbaş-Karaisalı-Adana	2001
34	XCVA5-5	Salbaş-Karaisalı-Adana	2002
35	XCVA5-6	Salbaş-Karaisalı-Adana	2002
36	XCVA5-7	Salbaş-Karaisalı-Adana	2002
37	XCVA5-8	Salbaş-Karaisalı-Adana	2002
38	XCVA5-9	Salbaş-Karaisalı-Adana	2002
39	XCVA6-1	Kuzgun-Karaisalı-Adana	2002
40	XCVA6-2	Kuzgun-Karaisalı-Adana	2002
41	XCVA8-1	Karaisalı-Adana	2002
42	XCVA8-2	Karaisalı-Adana	2002
43	XCVO1-1	Osmaniye	2001
44	XCVO1-2	Osmaniye	2001
45	XCVO2-1	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	2002
46	XCVO2-2	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	2002
47	XCVO2-3	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	2002
48	XCVO3-1	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	2002
49	XCVO3-2	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	2002
50	XCVO3-3	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	2002
51	XCVO3-4	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	2002
52	XCVO4-1	Mehmetli-Sunbas-Osmaniye	2002
53	XCVO4-2	Mehmetli-Sunbas-Osmaniye	2002
54	XCVO4-3	Mehmetli-Sunbas-Osmaniye	2002
55	Kuyucu 1	Karaisalı-Adana	2001
56	Kuyucu 2	Karaisalı-Adana	2001
57	Kuyucu 3	Karaisalı-Adana	2001
58	Pirili 2003-1	Karaisalı-Adana	2003
59	Pirili 2003-2	Karaisalı-Adana	2003
60	Pirili 2003-3	Karaisalı-Adana	2003
61	Pirili 2003-4	Karaisalı-Adana	2003
62	Pirili 2003-5	Karaisalı-Adana	2003
63	Salbaş 2003-1	Karaisalı-Adana	2003
64	Salbaş 2003-2	Karaisalı-Adana	2003
65	Salbaş 2003-3	Karaisalı-Adana	2003
66	Salbaş 2003-4	Karaisalı-Adana	2003
67	Salbaş 2003-5	Karaisalı-Adana	2003
68	Örçün Köyü 1	Karaisalı-Adana	2003
69	Örçün Köyü 2	Karaisalı-Adana	2003

*Referans Kùltürler Göttingen Almanya'dan Dr. Rudoulph'dan temin edilmiştir.

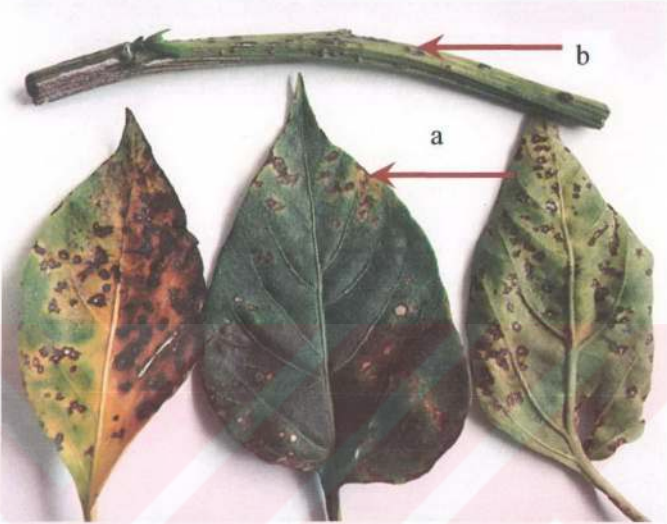
**Doktora tez çalışmasına başlamadan önce bölgeden izole edilmiş izolatlar



şekil 4.3. *Xav*'ın oluşturduğu yaprak belirtileri



şekil 4.4. *Xav*'ın oluşturduğu yaprak belirtileri



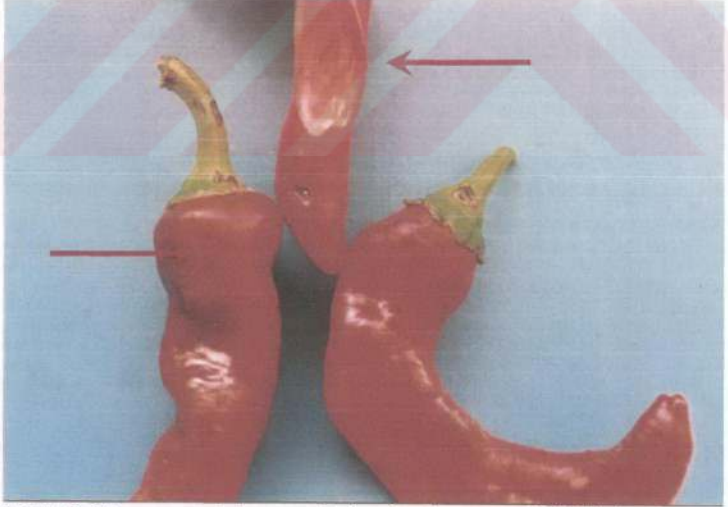
şekil 4.5. *Xav*'ın oluşturduğu yaprak (a) ve gövde (b) belirtileri



şekil 4.6. *Xav*'ın oluşturduğu gövde belirtileri



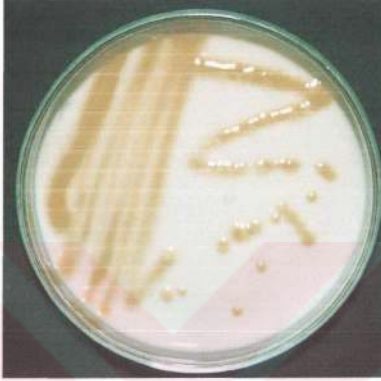
Şekil 4.7. *Xav*'ın oluşturduğu meyve simptomsu



Şekil 4.8. Güneşe maruz kalan meyvelerde sekonder meyve çürüklükleri

4.2.1.Koloni Gelişimi

4.2.1.1.YDC Besi Yerinde Gelişim



Bölge izolatları ve orijinal kültürleri YDC besi yerinde mukoid, sarı, konveks koloniler şeklinde gelişmiştir (şekil 4.9).

şekil 4.9. XCVA1-2 bölge izolatının YDC besi yerindeki koloni gelişimi

4.2.1.2.Nutrient Agar (NA) Besi Yerinde Gelişim



Bölge izolatları ve orijinal kültürler NA besi yerinde tipik sarı yuvarlak mukoid koloni gelişimi göstermişlerdir (şekil 4.10).

şekil 4.10. XCVA1-2 bölge izolatının NA besi yerindeki koloni gelişimi

4.2.1.3.Tween B Besi Yerinde Gelişim



Bölgeden izole edilen *Xav* izolatları ve orijinal kültürler Tween B besiyeri üzerinde yuvarlak, sarı tümsek ve çevresinde temiz haleli koloniler geliştirmiştir (Şekil 4.11).

Şekil 4.11. XCVA1-2 bölge izolatının Tween B besiyerinde oluşturduğu koloni morfolojisi

4.2.1.4.CKTM Besi Yerinde Gelişim

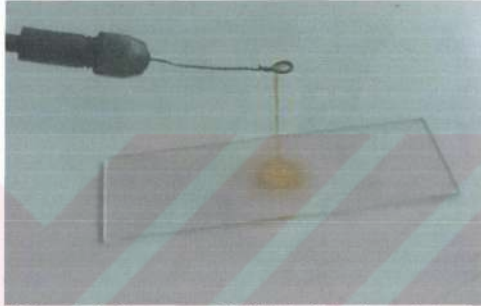


Bölgeden izole edilen *Xav* izolatları ve orijinal kültürler CKTM besiyerinde 1-2 gün sonra koloni etrafında temiz bir halka oluşturmuştur (Şekil 4.12).

Şekil 4.12. XCVA1-2 bölge izolatının CKTM besiyerinde oluşturduğu koloni morfolojisi

4.2.2.Potasyum Hidroksit Testi (KOH)

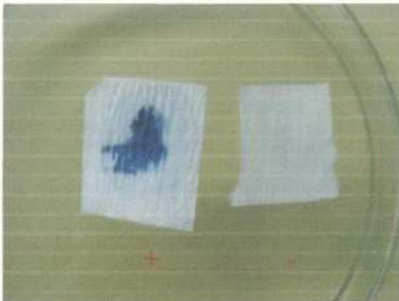
Orijinal kültürler ve bölge izolatları test sonucunda özeye yapışarak sümüksü bir yapı oluşturduğundan gram negatif olarak kabul edilmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.13). Karşılaştırma kültürü olarak kullanılan gram pozitif *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'de sümüksü bir oluşum gözlenmemiştir.



Şekil 4.13. KOH testinde Gram negatif kültürlerinin oluşturduğu sümüksü yapı

4.2.3.Oksidaz Testi

Xav'ın orijinal kültürleri ve bölge izolatları oksidaz test solüsyonu emdirilmiş filtre kağıdına çizilen zigzaglar sonucu hiçbir renk değışimi meydana getirmediğinden oksidaz negatif olarak değıerlendirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan *P. cichorii* kültürü birkaç saniye içinde koyu mor renk oluşturmuştur (Çizelge 4.4, Şekil 4.14).



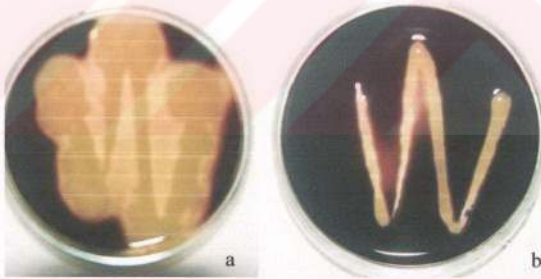
Şekil 4.14. Solda oksidaz pozitif (+), sağda negatif (-) olan reaksiyon

4.2.4.Oksidasyon / Fermantasyon Testi (O/F)

Değerlendirme 26°C'de altı günlük bir inkübasyondan sonra yapılmış ve bütün bakteri kültürleri oksijenli (vasparsız) besi yerinde gelişim göstererek tüplerin rengini sarıya çevirmişlerdir. Oksijensiz (vasparlı) besiyerinde, elde edilen izolatlar ve orijinal kültürlerin tümü gelişmediğinden besi yerinin renginde bir değişim olmamıştır (Çizelge 4.4). Pozitif kontrol olarak kullanılan *Erwinia amylovora* ile aşılanmış oksijensiz besiyerinde de hiçbir değişim gözlenmemiştir.

4.2.5.Nişasta Hidrolizasyonu

Nişasta besi yerine çizilen biber bakteriyel leke izolatları ve referans kültürler 7-14 günlük inkübasyon sonunda üzerine lugol eriği döküldüğünde koloni çevresinde referans kültürde belirgin parlak bir alan gözlenirken bölge izolatlarında bu alan zayıf olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.15). Bölge izolatları nişastayı geç hidrolize ettiklerinden zayıf pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.15. Referans kültür (GSPB 224)(a) ve XCVA4-4 (b) nişastayı hidrolize etmesi

4.4.6.Katalaz Testi

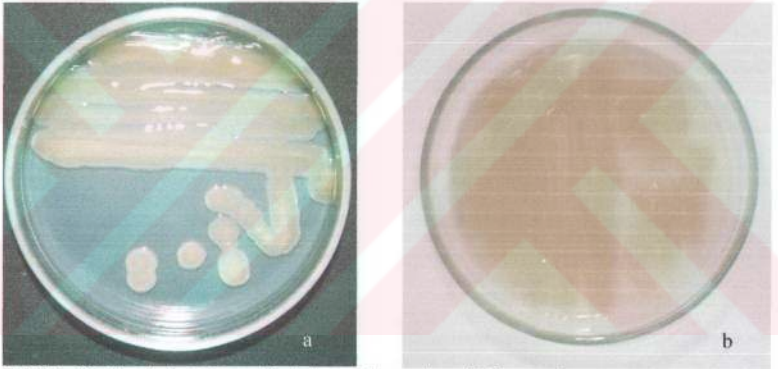
Besi yerine aşılama yapıldıktan 24 saat sonra %3'lük H_2O_2 döküldüğünde birkaç saniye içersinde gaz kabarcıkları gösteren orijinal kültür ve bölge izolatları pozitif olarak kabul edilmiştir (Çizelge 4.4).

4.4.7.Hareketlilik Testi

Besi yerine ekimi yapılan biber bakteriyel leke etmeni izolatları ve referans kültür ile aşılama yapılan bölgenin çevresinde koloni gelişimi gösterdiklerinden pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.4)

4.2.8.Levan Oluşumu

SNA besiyeri üzerine çizimi yapılan 67 izolatın tamamı ve *Erwinia amylovora* kültürü levan oluşumu göstermiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.16).



Şekil 4. 16. *Xav* izolatı (a) ve *Erwinia amylovora* 'nın (b) levan oluşumu

4.2.9.Pektolitik Aktivite

Elde edilen 67 adet izolat patates dilimlerine bulaştırıldığında iki gün izolatların tamamı patates dilimleri üzerinde çürüklük oluşturmamıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan *Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (GSPB 1405) patates dilimlerinde yumuşamaya neden olmuştur (Çizelge 4.4, Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Patateste pektolitik aktivite [+:*Erwinia caratovora* subsp. *caratovora* (GSPB 1405), -:XCVA2-1]

4.2.10.Tütünde Aşırı Duyarlılık (Hypersensitive Reaction-HR) Testi

İnokulasyondan 24-36 saat sonra *Xav* izolatların tümü ve referans kültür (GSPB 224) tütün yapraklarında tipik aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olmuştur (Şekil 4.18).



Şekil 4.18. *Xav* test izolatının (a) ve referans kültürün (GSPB 224) (b) tütün yaprağında oluşturduğu aşırı duyarlılık simptomsu

4.2.11. Patojenite Testleri

Elde edilen 67 adet bölge izolatu ve orijinal kültürler ile yapılan patojenite testlerinde tüm izolatlar inokulasyondan sonraki 14-21 gün içinde biber bitkilerinin yapraklarında karakteristik sarı haleli yaprak lekeleri oluşturmuştur (Şekil 4.19). Negatif kontrol olarak çeşme suyuyla inokule edilen bitkilerde herhangi bir hastalık simptomsu gözlenmemiştir. Tipik hastalık simptomsu gösteren bitkilerden yapılan re-izolasyonlar sonucu izolatlar tekrar elde edilmiş ve tanı testlerinde kullanılmıştır. Bu izolatların izole edildiği yer ve izolasyon tarihi Çizelge 4.3’de verilmiştir.



Şekil 4.19. Bursa Yağlık Biber çeşidinde yapılan patojenite testi sonucu oluşan yaprak lekeleri

Farklı bölgelerden izole edilen *Xav*'ın tanılama çalışmalarında yapılan testlerde elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4.'de topluca verilmiştir.

Çizelge 4.4. Elde edilen *Xav* izolatları ve bunlara yapılan testlerin sonuçları

İzolatların Kod Adları	KOH	Oks	O/F	Niş	Kat	H	L	P	Tüt	Patoj
GSPB224*	-	-	O	+	+	+	+	-	+	+
GSPB 2645*	-	-	O	+	+	+	+	-	+	+
XCVME1-1 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVME1-2 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVME1-3 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVME1-4 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-1 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-2 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-3 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-4 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-5 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-6 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-7 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA1-8 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA2-1 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA2-2 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA2-3 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA2-4 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA2-5 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA3-1 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA3-2 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA3-3 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA3-4 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA3-5 (2001)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA4-1 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA4-2 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA4-3 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA4-4 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA4-5 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-1 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-2 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-3 (2000)**	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-3 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-4 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-5 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-6 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-7 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA5-8 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+

Çizelge 4.4'ün devamı

İzolatların Adı	KOH	Oks	O/F	Niş	Kat	H	L	P	Tüt	Patoj
XCVA5-9 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA6-1 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA6-2 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA8-1 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVA8-2 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO1-1 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO1-2 (2001)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO2-1 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO2-2 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO2-3 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO3-1 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO3-2 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO3-3 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO3-4 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO4-1 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO4-2 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
XCVO4-3 (2002)	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Kuyucu 1	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Kuyucu 2	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Kuyucu 3	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Pirili 2003-1	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Pirili 2003-2	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Pirili 2003-3	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Pirili 2003-4	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Pirili 2003-5	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Salbaş 2003-1	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Salbaş 2003-2	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Salbaş 2003-3	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Salbaş 2003-4	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Salbaş 2003-5	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Örcün Köyü 1	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+
Örcün Köyü 2	-	-	O	Z	+	+	+	-	+	+

KOH: Potasyum Hidroksit, Oks: Oksidaz, O/F:Oksidatif/Fermentatif, Niş: Nişasta Hidrolizasyonu, Kat: Katalaz, H: Hareketlilik, L:Levan oluşumu, P:Pektolitik aktivite, Patoj: Patojenite, Tüt: Tütünde HR, Z:Zayıf pozitif *Orijinal Kültürler ** Doktora tez çalışmasına başlamadan önce bölgeden izole edilmiş izolatlar

Hastalıklı biber bitkilerinden alınan örneklerden izole edilen bakteri kültürleri ve referans kültür ile yapılan patojenite testleri sonunda oluşan simptonlar arasında bir fark gözlenmemiştir. Ancak izolatların virülenslik derecelerine göre simptom gelişim hızı ve şeklinde değişiklikler saptanmıştır. Araştırılan fizyolojik ve biyokimyasal özellikler için elde edilen sonuçlarda bölge izolatları ile orijinal kültür arasında bazı farklılıklar belirlenmiştir. En önemli fark izolatların nişastayı hidrolize etme yeteneklerinde gözlenmiştir. Elde ettiğimiz 67 adet bölge izolatlarının nişastayı zayıf hidrolize etmesinden dolayı grup A içerisinde bulunduğu düşünülmektedir. Vauterin ve ark, (1990), Bouzar ve ark, (1994b), Jones ve ark, (1998) amyolitik ve pektolitik etkilerinin olmaması veya zayıf olmasından dolayı bu özellikleri gösteren izolatların grup A içerisinde bulunduğu ve *Xav* olduğunu bildirmişlerdir.

Tween B besisi yerine ekimi yapılan izolatlar yuvarlak, sarı, tümsek ve çevresinde temiz haleli koloniler geliştirmiştir. Tween B besisi yerindeki koloni gelişimi McGuire ve Jones (1984)'un; CKTM besisi yerine ekimden 1-2 gün sonra kolonilerin etrafında oluşan temiz halka Sijam ve ark, (1991 ve 1992) bulgularına benzerlik göstermiştir.

Yapılan fizyolojik ve biyokimyasal testlerde izolatların tamamı KOH testine göre gram negatif, pektolitik aktivite negatif, oksidaz negatif, oksijensiz besisi yerinde gelişmeyen, katalaz pozitif, hareketli, levan oluşumu pozitif ve tüttünde HR pozitif olması nedeniyle sonuçlarımız Lelliot ve Stead (1987), Bouzar ve ark, (1994b), Şahin (1997) ile Schaad ve ark, (2001) çalışmalarıyla paralellik içindedir.

4.2.12.Xav İzolatlarının Bakır Sülfata ve Streptomisin Karşı Dayanıklılık

SPA besisi yerine çizilen Xav bölge izolatları ve referans kültürleri 25°C'de 7-14 gün inkübe edildikten sonra besisi yeri üzerindeki gelişimleri değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda Çizelge 4.5 ve Şekil 4.20'de görüldüğü üzere izolatların tümü (%100) 30 ve 100 ppm dozunda bakır sülfata dayanıklılık gösterirken 150 ppm dozundaki bakır sülfata sadece referans kültürler (GSPB 2645 ve GSPB 224) dayanıklılık göstermişlerdir. 200 ppm dozunda hazırlanan bakır sülfata ise bütün izolatların duyarlı oldukları görülmüştür. 20 ppm streptomisine 5 izolat (%7) (XCVA4-1, XCVA4-2, Salbaş 2003-2, Salbaş 2003-3, Salbaş 2003-5) dayanıklı iken 100 ppm dozuna bütün izolatların duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Bakteriyel leke hastalığına bakırlı preparatların yanlış kullanımı sonucu zamanla dayanıklılık problemi ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda testlenen izolatların tamamının 100ppm dozunda bakır sülfat'a dayanıklı olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde Marco ve Stall (1983), Dittaponapitch ve ark, (1989), Ritchie ve Dittapongpitch (1991) biber ve domatesten izole edilen Xav izolatlarının bakır sülfata (100-200 ppm) dayanıklılık kazandığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde Şahin ve Miller (1996) ABD'de biber Xav izolatlarının bakıra ve streptomisine dayanıklılık gösterdiğini rapor etmişlerdir. Biz çalışmamızda Xav izolatlarının %7'sini 20ppm dozundaki streptomisine dayanıklı olarak saptadık. Minsavage ve ark, (1990) bakır ve streptomisine karşı dayanıklılık genlerinin plazmid üzerinde bulunduğunu ve yanlış bakır kullanımı sonucu oluşan dayanıklılığın yeni nesillere plazmit aracılığıyla aktarıldığını ve bu bölgenin her zaman korunduğunu belirtmiştir. Streptomisine karşı 20ppm doz oldukça düşük bir doz olup dayanıklılık için çok önemli bir özellik değildir. Çalışma yapılan üretim alanlarında streptomisin kullanılmamasına rağmen dayanıklılığın belirlenmesi, bu dayanıklılığın plazmid üzerinde bulunan genlerden kaynaklandığı düşüncesini akla getirmektedir.

Çizelge 4.5. *Xanthomonas axanopodis* pv *vesicatoria* izolatlarının bakır sülfata ve streptomisin karşı dayanıklılıkları

Sıra No	İzolat Adı	CuSO ₄ (ppm)				Streptomisin (ppm)	
		30	100	150	200	20	100
1	GSPB224-1*	+	+	+	-	-	-
2	GSPB 2645	+	+	+	-	-	-
3	XCVME1-1 (2001)	+	+	-	-	-	-
4	XCVME1-2 (2001)	+	+	-	-	-	-
5	XCVME1-3 (2001)	+	+	-	-	-	-
6	XCVME1-4 (2001)	+	+	-	-	-	-
7	XCVA1-1 (2000)**	+	+	-	-	-	-
8	XCVA1-2 (2000)**	+	+	-	-	-	-
9	XCVA1-3 (2001)**	+	+	-	-	-	-
10	XCVA1-4 (2001)**	+	+	-	-	-	-
11	XCVA1-5 (2000)**	+	+	-	-	-	-
12	XCVA1-6 (2000)**	+	+	-	-	-	-
13	XCVA1-7 (2000)**	+	+	-	-	-	-
14	XCVA1-8 (2001)**	+	+	-	-	-	-
15	XCVA2-1 (2001)	+	+	-	-	-	-
16	XCVA2-2 (2001)	+	+	-	-	-	-
17	XCVA2-3 (2001)	+	+	-	-	-	-
18	XCVA2-4 (2001)	+	+	-	-	-	-
19	XCVA2-5 (2001)	+	+	-	-	-	-
20	XCVA3-1 (2001)**	+	+	-	-	-	-
21	XCVA3-2 (2001)**	+	+	-	-	-	-
22	XCVA3-3 (2001)**	+	+	-	-	-	-
23	XCVA3-4 (2001)**	+	+	-	-	-	-
24	XCVA3-5 (2001)**	+	+	-	-	-	-
25	XCVA4-1 (2002)	+	+	-	-	+	-
26	XCVA4-2 (2002)	+	+	-	-	+	-
27	XCVA4-3 (2002)	+	+	-	-	-	-
28	XCVA4-4 (2002)	+	+	-	-	-	-
29	XCVA4-5 (2002)	+	+	-	-	-	-
30	XCVA5-1 (2000)**	+	+	-	-	-	-
31	XCVA5-2 (2000)**	+	+	-	-	-	-
32	XCVA5-3 (2000)**	+	+	-	-	-	-
33	XCVA5-4 (2001)	+	+	-	-	-	-
34	XCVA5-5 (2002)	+	+	-	-	-	-
35	XCVA5-6 (2002)	+	+	-	-	-	-
36	XCVA5-7 (2002)	+	+	-	-	-	-
37	XCVA5-8 (2002)	+	+	-	-	-	-
38	XCVA5-9 (2002)	+	+	-	-	-	-
39	XCVA6-1 (2002)	+	+	-	-	-	-
40	XCVA6-2 (2002)	+	+	-	-	-	-

Çizelge 4.5'in devamı

Sıra No	İzolat Adı	CuSO ₄ (ppm)				Streptomisin (ppm)	
		30	100	150	200	20	100
41	XCVA8-1 (2002)	+	+	-	-	-	-
42	XCVA8-2 (2002)	+	+	-	-	-	-
43	XCVO1-1 (2001)	+	+	-	-	-	-
44	XCV01-2 (2001)	+	+	-	-	-	-
45	XCVO2-1 (2002)	+	+	-	-	-	-
46	XCVO2-2 (2002)	+	+	-	-	-	-
47	XCVO2-3 (2002)	+	+	-	-	-	-
48	XCVO3-1 (2002)	+	+	-	-	-	-
49	XCVO3-2 (2002)	+	+	-	-	-	-
50	XCVO3-3 (2002)	+	+	-	-	-	-
51	XCVO3-4 (2002)	+	+	-	-	-	-
52	XCVO4-1 (2002)	+	+	-	-	-	-
53	XCVO4-2 (2002)	+	+	-	-	-	-
54	XCVO4-3 (2002)	+	+	-	-	-	-
55	Kuyucu 1	+	+	-	-	-	-
56	Kuyucu 2	+	+	-	-	-	-
57	Kuyucu 3	+	+	-	-	-	-
58	Pirili 2003-1	+	+	-	-	-	-
59	Pirili 2003-2	+	+	-	-	-	-
60	Pirili 2003-3	+	+	-	-	-	-
61	Pirili 2003-4	+	+	-	-	-	-
62	Pirili 2003-5	+	+	-	-	-	-
63	Salbaş 2003-1	+	+	-	-	-	-
64	Salbaş 2003-2	+	+	-	-	+	-
65	Salbaş 2003-3	+	+	-	-	+	-
66	Salbaş 2003-4	+	+	-	-	-	-
67	Salbaş 2003-5	+	+	-	-	+	-
68	Örcün Köyü 1	+	+	-	-	-	-
69	Örcün Köyü 2	+	+	-	-	-	-

+ =verilen doza dayanıklı; - =verilen doza duyarlı

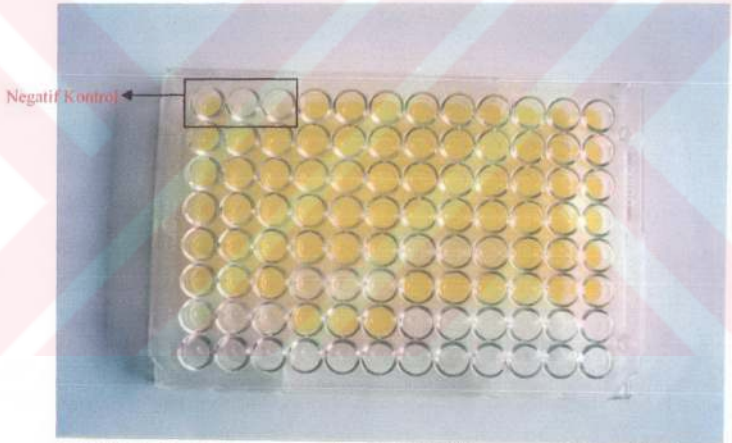


Şekil 4.20. Salbaş 2003-2 ve XCVA4-1 kodlu test izolatlarının SPA besi yerinde bakır sülfat dayanıklılık testi

4.2.13.Moleküler Tanı

4.2.13.1. *Xav* İzolatlarının DAS-ELISA Testi

Dr. Stall tarafından üretilip ticari kit haline getirilen Loewe marka antiserum ile yapılan DAS-ELISA testinde, 405nm’de absorbans değerleri 2.592-2.796 arasında kaydedilmiştir. Pozitif kontroldeki absorbans değeri 2.807 iken negatif kontrolde 0.074 olarak belirlenmiştir. Elde edilen absorbans değerlerinin negatif kontrolün değerinin 2 katından fazla oluşu ve pozitif kontrole yakın oluşuyla tüm testlenen izolatlar *Xav* olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.21).



Şekil 4.21. *Xav* izolatlarına yapılan DAS-ELISA sonucu ELISA plakalarının görünüşü.

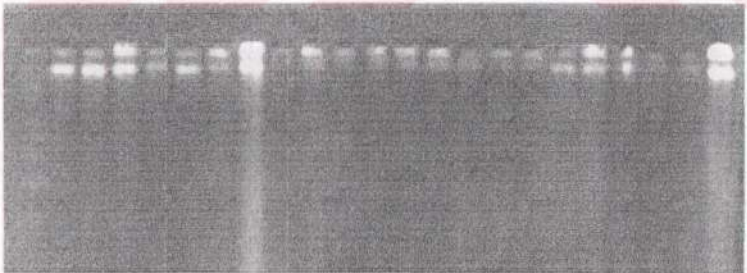
Çizelge 4.6. ELISA plate okuyucusunda *Xav* izolatlarının okunan absorbands değerleri (ölçümler 405 nm’de yapılmıştır)

İzolat adı	İzolatın alındığı yer	Ortalama	Sonuç
Negatif kontrol		0.074	-
Pozitif kontrol		2.807	+
GSPB224-1	Referans	2.789	+
GSPB224-4	Referans	2.705	+
GSPB224-5	Referans	2.772	+
GSPB224-6	Referans	2.772	+
XCVME1-2 (2001)	Mersin	2.683	+
XCVA1-2 (2000)	Karaisali-Adana	2.688	+
XCVA1-4 (2000)	Karaisali-Adana	2.770	+
XCVA1-7 (2000)	Karaisali-Adana	2.658	+
XCVA1-8 (2000)	Karaisali-Adana	2.632	+
XCVA3-2 (2000)	Ceyhan-Adana	2.662	+
XCVA3-4 (2000)	Ceyhan-Adana	2.791	+
XCVA3-5 (2000)	Ceyhan-Adana	2.592	+
XCVA4-4 (2002)	Pirili-Karaisali-Adana	2.731	+
XCVA5-1 (2000)	Salbaş-Karaisali-Adana	2.745	+
XCVA5-8 (2002)	Salbaş-Karaisali-Adana	2.749	+
XCVA5-9 (2002)	Salbaş-Karaisali-Adana	2.796	+
XCVA6-1 (2002)	Kuzgun-Karaisali-Adana	2.745	+
XCVA6-3 (2002)	Kuzgun-Karaisali-Adana	2.788	+
XCV01-1 (2001)	Osmaniye	2.575	+
XCV01-2 (2001)	Osmaniye	2.770	+
XCV01-3 (2001)	Osmaniye	2.689	+
XCV02-1 (2001)	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	2.766	+
XCV02-2(2001)	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	2.610	+
XCV03-1 (2002)	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	2.652	+
XCV04-1 (2002)	Mehmetli-Sunbas-Osmaniye	2.470	+
XCV04-2 (2002)	Mehmetli-Sunbas-Osmaniye	2.616	+
Kuyucu 1 (2002)	Karaisali-Adana	2.763	+
Kuyucu 2 (2002)	Karaisali-Adana	2.780	+
Kuyucu 3 (2002)	Karaisali-Adana	2.684	+

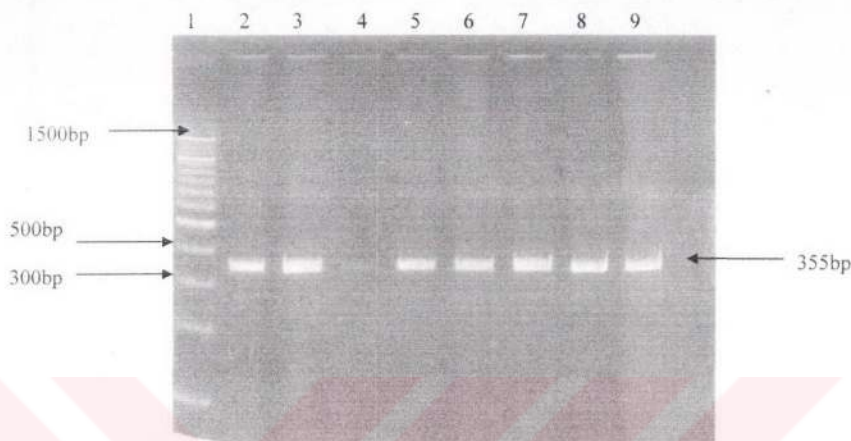
4.2.13.2. *Xav* İzolatlarının PCR Testi

DNA izolasyonu işleminden sonra ürünler %1'lik agaroz jele verildiğinde Şekil 4.22'de görüldüğü gibi oluşan bantlar genomik DNA'nın izole edildiğini kanıtlamaktadır.

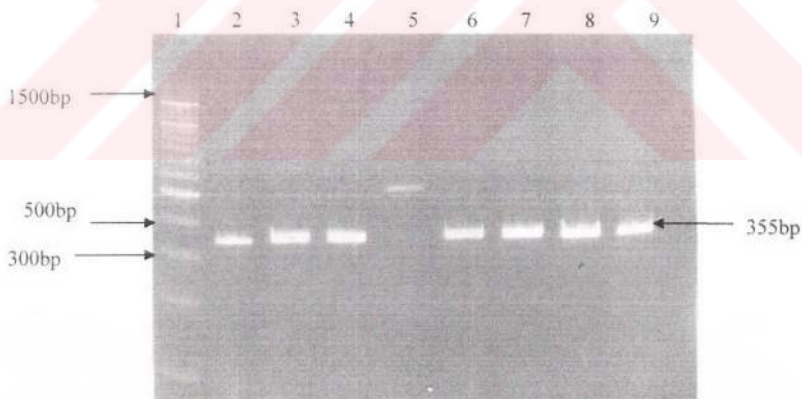
Saflaştırılan genomik DNA'lar ve RST9-RST10 primerleri kullanılarak yapılan PCR testlerinde tüm izolatlar %1.5 agaroz jel üzerinde 355bp büyüklüğünde bantlar oluşturmuşlardır. Moleküler ağırlık işaretleyici olarak kullanılan 100bp'likmarke PCR ürününün 355bp büyüklünde olduğunu göstermektedir (Şekil 4.23 ve Şekil 4.24). XCVA3-5 kodlu Ceyhan, Adana'dan izole edilen bir izolat 355 ve 500bp'lik iki bant oluşturmuştur. Bu izolatın moleküler düzeyde diğer izolatlardan farklı olduğu gözlenmiştir. Ancak bu izolatın morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal testlerde diğer izolatlardan farklı olmadığı saptanmıştır. Bu çalışma ile testlenen 67 adet izolatın *Xav* olduğu moleküler çalışma ile de belirlenmiştir ve izolatların spesifik, duyarlı ve hızlı tanısı yapılmıştır. Li et al., (1994, 1995) RST 9 ve RST 10 primerleri ile yaptıkları çalışmada *Xav* izolatlarının spesifik olarak 355 bp'lik bantlar oluşturduğunu bildirmişler ve yaptığımız çalışmalar sonucunda aynı sonuçlar elde edilmiştir.



Şekil 4.22. *Xav* izolatlarına DNA izolasyonu sonucu %1'lik agaroz jelde bantların görünümü



Şekil 4.23. RST 9 ve RST 10 primerleri kullanılarak yapılan PCR testi sonucunda elde edilen ürünlerin agaroz jelde görünümü. Çukur 1: 100 bp DNA marker, Çukur 2: Salbaş 2003-2, Çukur 3: XCVA6-2, Çukur 4: XCVO2-2, Çukur 5: XCVME 1-1, Çukur 6: XCVA 3-5, Çukur 7: XCVA1-2, Çukur 8: XCVA4-4, Çukur 9: XCVA5-2



Şekil 4.24. RST 9 ve RST 10 primerleri kullanılarak yapılan PCR sonucu elde edilen ürünlerin agaroz jelde görünümü. Çukur 1: 100 bp DNA marker, Çukur 2: XCAV5-2, Çukur 3: XCVA3-5, Çukur 4: Salbaş 2003-2, Çukur 5: XCVME 1-1, Çukur 6: XCVA 2-1, Çukur 7: XCVO1-2, Çukur 8: GSPB 224, Çukur 9: Örcün Köyü.

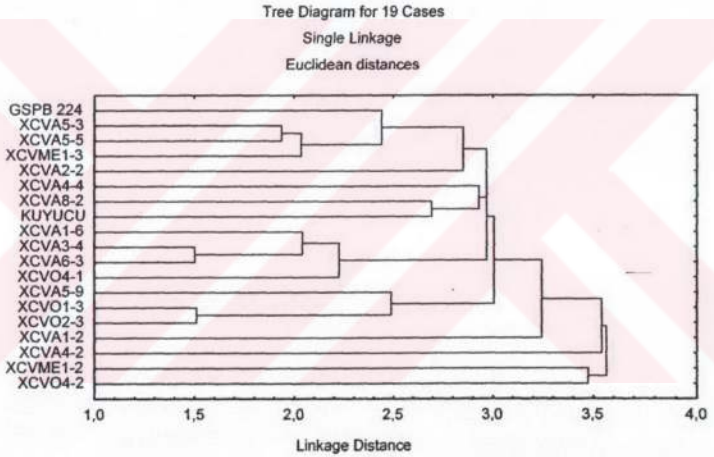
4.213.3.Xav İzolatlarının Yağ Asit Analizleri

Çizelge 4.7’de de görüldüğü üzere 19 izolat ile yapılan çalışmada 26 farklı yağ asidi izole edilmiştir. İzole edilen yağ asitleri unknown 9.531 (%0.5), 10:0 (%0.71), 11:0 ISO (%3.93), 11:0 ANTEISO (%0.23), 10:0-3OH (%0.38), unknown 11.799 (%1.33), 11:0 ISO-3OH (%1.88), 12:0-3OH (%2.34), 14:0 (%1.60), 13:0 ISO-3OH (%3.78), 13:0-2OH (%0.48), 15:0 ISO (%31.01), 15:0 ANTEISO (%12.66), 15:0 (%0.95), 16:0 ISO (%1.62), 16:1 w9c (%1.95), Sum in feature 3 (%22.27), 16:0 (%3.61), ISO 17:1 w9c (%6.52), 17:0 ISO (%5.26), 17:0 ANTEISO (%1.17), 17:1 w8c (%0.48), Sum in feature 5 (%1.88), 18:1 w9c (%0.80), Summed feature 3 (%22.42) ve Summed feature 5 (%1.28) olarak belirlenmiştir. İzole edilen yağ asitleri doymuş (10:0, 14:0, 15:0, 16:0), doymamış (16:1 w9c, ISO17:1 w8c, 18:1 w9c), methyl branched (11:0 ISO, 11:0 ANTEISO, 11:0 ISO 3OH, 13:0 ISO-3OH, 15:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, 17:0 ISO, 17:0 ANTEISO), iki tane sum in features (3,5), hidroksil (10:0 3OH, 12:0-3OH, 13:0-2OH) ve bilinmeyen yağ asitleri (unknown 9.531, unknown 11.799) olmak üzere 6 grup olduğu saptanmıştır. Genelde yağ asit çeşidi ve miktarı açısından büyük benzerlikler olduğu görülmektedir. Yağ asitlerinden 11:0 ISO, 10:0-3OH, unknown 11.799, 11:0 ISO-3OH, 12:0-3OH, 14:0, 13:0 ISO-3OH, 15:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 16:0 ISO, Sum in feature 3, 16:0, ISO 17:1 w9c, 17:0 ISO, ve Summed feature 3 yağ asitlerinin tüm izolatlarda bulunduğu belirlenmiştir. Diğer yağ asitleri açısından değişen oranlarda farklılıklar bulunmaktadır. Obradovic ve ark, (2004) 11:0 ISO, 11:0 ISO 3OH ve 13:0 ISO 3OH yağ asitlerinin *Xanthomonas*’lar için karakteristik olduğunu belirtmiştir. Yağ asit analizlerine göre yapılan tanıda izolatlar %37-76 benzerlik oranıyla Xav olduğu saptanmıştır.

Microbiyal Identifikasyon Sistemin bilgisayar programının 3.60 versiyonu (Microbial ID, NETwork, DE) ile yapılan analiz sonucu oluşan dendogramda 19 izolatın %96.4 oranında birbirleri ile benzer oldukları saptanmıştır. İki farklı grup belirlenmiştir. Birinci grup içerisinde GSPB 224, XCVA1-2, XCVA1-6, XCVA2-2, XCVA3-4, XCVA4-2, XCVA4-4, XCVA5-3, XCVA5-5, XCVA5-9, XCVA6-3,

XCVA8-2, XCVME1-3, XCVO1-3, XCVO2-3, XCVO4-1 ve KUYUCU izolatlari, ikinci grup içerisinde XCVME1-2 ve XCVO4-2 izolatlari yer almıştır (Şekil 4.25).

Birinci grup içerisinde bulunan izolatlarda unknown9.531, 10:0, 11:0 ANTEISO, 10:0 3OH, unknown11:799, 13:0 2OH, 15:0, 16:0 ISO, 16:1 w9c, 17:1 w8c, Sum In Feature 5 ve 18:1 w9c yağ asitleri bulunurken diğer grup içerisinde bu yağ asitleri bulunmamasından dolayı farklı grup oldukları belirlenmiştir.



Şekil 4. 25. Yağ asit analizinin cluster analizi sonucu izolatların benzerlik oranları

Çizelge 4.7. Yağ asit analizi sonucu izolatlarının yağ asitleri ve bulunma oranları (%)

Yağ Asitleri	I. Grup		II. Grup	
	İzolat Sayısı	Dağılım Aralığı	İzolat Sayısı	Dağılım Aralığı
unknown9.531	2	0.25-0.74	-	-
10:0	14	0.44-0.87	-	-
11:0 ISO	17	3.49-4.29	2	3.38-3.76
11:0 ANTEISO	1	0.23	-	-
10:0 3OH	3	0.31-0.51	-	-
unknown11:799	17	0.83-2.35	-	-
11:0 ISO 3OH	17	1.50-2.09	2	2.38-2.53
12:0 3OH	17	1.78-3.31	2	2.23-2.76
14:0	17	1.16-1.72	2	1.25-1.90
13:0 ISO 3OH	17	3.52-4.05	2	3.95-4.52
13:0 2OH	1	0.48	-	-
15:0 ISO	17	26.10-34.76	2	28.49-28.58
15:0 ANTEISO	17	9.43-15.34	2	14.57-14.93
15:0	10	0.59-1.27	-	-
16:0 ISO	16	1.20-2.12	-	-
16:1 w9c	9	1.66-2.15	-	-
Sum In Feature 3	17	20.13-23.78	2	20.39-23.25
16:0	17	2.95-4.68	2	3.88-4.36
ISO 17:1 w9c	17	5.40-7.10	2	6.66-7.68
17:0 ISO	17	3.02-6.60	2	7.08-7.32
17:0 ANTEISO	3	0.43-0.67	2	1.54-2.65
17:1 w8c	2	0.44-0.52	-	-
Sum In Feature 5	1	1.88	-	-
18:1 w9c	2	0.31-1.28	-	-
Summed Feature 3	17	20.73-23.78	2	20.39-23.25
Summed Feature 5	1	1.28	-	-

Sum In Feature 3: 16:1 w7c veya 15 ISO 2OH; Sum In Feature 5:18:2 w6, 9c veya 18:0 ANTEISO:

4.3.PGPR'lerin İzolasyonu ve Tanı Sonuçları

İzolasyonu ve Tanısı: Toprak ve kök izolasyonu sonucu elde edilen 189 adet bakteri izolatının 4 tanesi KB besi yerinde floresan pigment üretirken geriye kalan 185 izolatın floresan pigment üretmediği saptanmıştır. KB besi yerinde izolatların 105'i krem, 34'ü sarı, yedisi turuncu, 39'u beyaz ve dördü ise yeşil renkte koloni oluşturmıştır (Çizelge 4.8).

SNA besi yerine çizimi yapılan 189 izolatın hiçbirinde levan oluşumu gözlenmemiştir (Çizelge 4.8).

Elde edilen 189 adet izolatın 84 adedi oksidaz pozitif, geriye kalan 105 izolat ise oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.8).

Pektolitik aktivite testinde çizim yapılan patates dilimlerinin 26°C'de iki günlük inkübasyondan sonra sadece beş izolat patates dilimleri üzerinde çürüklük oluşturmıştır (Çizelge 4.8).

Tütün yapraklarında yapılan aşırı duyarlılık reaksiyonunda inokulasyondan 24 saat sonra, 16 izolat pozitif reaksiyona neden olurken 173 izolat hiçbir reaksiyon vermemiştir (Çizelge 4.8).

Aday PGPR izolatlarının tanı sonuçları Çizelge 4.8'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.8.Topraktan elde edilen aday PGPR izolatları ve yapılan testlerin sonuçları

İzolat Adı	İzolatın Alındığı Yer	Koloni Rengi	F/NF	Koloni Gelişimi	L	O	P	T	Fo
A1-1	Ceyhan-Yanık değirmeni	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
A1-3	Ceyhan-Yanık değirmeni	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
A1-4	Ceyhan-Yanık değirmeni	Turuncu	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
A1-5	Ceyhan-Yanık değirmeni	Beyaz	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
A1-6	Ceyhan-Yanık değirmeni	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
A1-7	Ceyhan-Yanık değirmeni	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
A2-1	Merkez-Adana	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
A2-2	Merkez-Adana	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
A2-3	Merkez-Adana	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	+	-
A2-4	Merkez-Adana	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
A2-6	Merkez-Adana	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
A2-7	Merkez-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A3-1	Güvenç (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
A3-2	Güvenç (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A3-3	Güvenç (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
A3-4	Güvenç (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	+

Çizelge 4.8'in devamı

İzolat Adı	İzolatın Alındığı Yer	Koloni Rengi	F/NF	Koloni Gelişimi	L	O	P	T	Fo
A4-2	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A4-3	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A4-4	Pirili (Karaisalı)-Adana	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
A4-5	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
A4-6	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A4-8	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A4-9	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A4-10	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
A4-11	Pirili (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Bacillus	-	-	-	-	-
A4-12	Pirili (Karaisalı)-Adana	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
A6-1	Salbaş (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A6-2	Salbaş (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
A6-3	Salbaş (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
A6-4	Salbaş (Karaisalı)-Adana	Beyaz	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
A6-5	Salbaş (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Bacillus	-	-	-	-	-
A6-6	Salbaş (Karaisalı)-Adana	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H1-1	Erzin-Burnaz-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H1-2	Erzin-Burnaz-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
H1-3	Erzin-Burnaz-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
H1-5	Erzin-Burnaz-Hatay	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
H1-6	Erzin-Burnaz-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H1-7	Erzin-Burnaz-Hatay	Turuncu	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
H2-1	Erzin-Burnaz-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
H2-2	Erzin-Burnaz-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	+	-	-
H2-3	Erzin-Burnaz-Hatay	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
H2-5	Erzin-Burnaz-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H2-6	Erzin-Burnaz-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
H2-7	Erzin-Burnaz-Hatay	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
H2-8	Erzin-Burnaz-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	+	-
H3-1	Üzümdalı Köyü-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
H3-2	Üzümdalı Köyü-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H3-3	Üzümdalı Köyü-Hatay	Turuncu	NF	Normal	-	-	-	-	-
H3-4	Üzümdalı Köyü-Hatay	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
H3-6	Üzümdalı Köyü-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H3-7	Üzümdalı Köyü-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H4-3	Kırıkhan-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H4-8	Kırıkhan-Hatay	Turuncu	NF	Normal	-	-	-	+	-
H4-9	Kırıkhan-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H5-1	Avsuyu-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H6-1	Kırıkhan-Hatay	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
H6-2	Kırıkhan-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H7-1	Danaahmetli-Kırıkhan-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
H7-3	Danaahmetli-Kırıkhan-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H7-6	Danaahmetli-Kırıkhan-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
H7-8	Danaahmetli-Kırıkhan-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H7-9	Danaahmetli-Kırıkhan-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H7-10	Danaahmetli-Kırıkhan-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
H8-1	Yarseli Köyü-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H8-2	Yarseli Köyü-Hatay	Beyaz	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
H8-3	Yarseli Köyü-Hatay	Beyaz	NF	Normal	-	-	+	+	-

Çizelge 4.8'in devamı

İzolot Adı	İzolatin Alındığı Yer	Koloni Rengi	F/NF	Koloni Gelişimi	L	O	P	T	Fo
H8-4	Yarseli Köyü-Hatay	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	+	-
H8-8	Yarseli Köyü-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	+
H8-10	Yarseli Köyü-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H8-11	Yarseli Köyü-Hatay	Sarı	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
H8-13	Yarseli Köyü-Hatay	Beyaz	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
H10-1	Madenboyu-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H10-2	Madenboyu-Hatay	Yeşil	F	Mukoid	-	+	-	-	-
H11-1	Madenboyu-Hatay	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
H11-2	Madenboyu-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H11-3	Madenboyu-Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H12-1	Demirköprü-Hatay	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
H13-1	Çamsarı-Hatay	Yeşil	F	Mukoid	-	+	-	-	-
H13-2	Çamsarı-Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H14-1	Danaahmetli-Kırıkhan- Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
H14-2	Danaahmetli-Kırıkhan- Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H14-4	Danaahmetli-Kırıkhan- Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H14-5	Danaahmetli-Kırıkhan- Hatay	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
H14-6	Danaahmetli-Kırıkhan- Hatay	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
H14-7	Danaahmetli-Kırıkhan- Hatay	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
H14-8	Danaahmetli-Kırıkhan- Hatay	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
O1-1	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	Beyaz	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
O1-2	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	+
O1-3	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
O1-6	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	Turuncu	NF	Normal	-	-	-	-	-
O1-7	Armağanlı-Sunbas-Osmaniye	Beyaz	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
O2-1	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	+
O2-2	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
O2-3	Alibeyli-Sunbas-Osmaniye	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
O3-1	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
O3-3	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Sarı	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
O3-4	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
O3-6	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	F	Mukoid	-	+	-	-	+
O3-7	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
O3-8	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
O3-9	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Turuncu	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
O3-10	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
O3-11	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
O3-13	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
O3-14	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
O3-15	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
O3-17	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
O3-18	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
O3-19	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
O3-20	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	+
O3-21	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
O3-23	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
O3-25	Mehmetli- Sunbas-Osmaniye	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
M1-1	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 1	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
M1-2	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 1	Krem	NF	Normal	-	-	-	+	-
M1-3	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 1	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	+

Çizelge 4.8'in devamı

İzolant Adı	İzolantın Ahndığı Yer	Koloni Rengi	F/NF	Koloni Gelişimi	L	O	P	T	Fo
M1-4	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 1	Beyaz	NF	Mukoid	-	-	-	+	-
M1-5	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 1	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M1-6	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 1	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
M2-2	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 2	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
M2-3	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 2	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
M2-4	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 2	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
M3-1	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 3	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	+
M3-2	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 3	Yeşil	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
M3-3	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 3	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M3-4	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 3	Beyaz	NF	Normal	-	-	+	-	-
M3-5	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 3	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
M3-6	Merkez-Kuruçay Köyü- K.Maraş 3	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
M4-2	Karahasanlı Köyü-Narlı- K.Maraş	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
M4-3	Karahasanlı Köyü-Narlı- K.Maraş	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
M4-4	Karahasanlı Köyü-Narlı- K.Maraş	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
M4-5	Karahasanlı Köyü-Narlı- K.Maraş	Krem	NF	Normal	-	-	+	+	-
M4-6	Karahasanlı Köyü-Narlı- K.Maraş	Sarı	NF	Normal	-	+	-	+	-
M5-2	Doğanlı Köyü- Narlı- K.Maraş	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
M5-3	Doğanlı Köyü- Narlı- K.Maraş	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
M5-4	Doğanlı Köyü- Narlı- K.Maraş	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
M5-5	Doğanlı Köyü- Narlı- K.Maraş	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
M5-6	Doğanlı Köyü- Narlı- K.Maraş	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
M5-7	Doğanlı Köyü- Narlı- K.Maraş	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
M5-9	Doğanlı Köyü- Narlı- K.Maraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	+	-
M6-1	Delhis Köyü-Narlı- K.Maraş	Beyaz	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
M6-2	Delhis Köyü-Narlı- K.Maraş	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
M6-3	Delhis Köyü-Narlı- K.Maraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M7-1	Seyranlı Köyü-Pazarcık- K.Maraş	Sarı	NF	Mukoid	-	-	-	+	-
M7-3	Seyranlı Köyü-Pazarcık- K.Maraş	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
M7-4	Seyranlı Köyü-Pazarcık- K.Maraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M8-1	Çigli-Narlı- Kahramanmaraş	Sarı	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
M8-2	Çigli-Narlı- Kahramanmaraş	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
M8-3	Çigli-Narlı- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	+	-
M8-4	Çigli-Narlı- Kahramanmaraş	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	+	+
M8-6	Çigli-Narlı- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	+	-	+	-
M8-7	Çigli-Narlı- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	+	-
M8-8	Çigli-Narlı- Kahramanmaraş	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
M9-2	Kılık- Kahramanmaraş	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
M9-3	Kılık- Kahramanmaraş	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
M9-5	Kılık- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M9-6	Kılık- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	+	+	-	-
M9-8	Kılık- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	+	-	+	-
M9-10	Kılık- Kahramanmaraş	Beyaz	NF	Normal	-	+	-	-	-
M10-1	Aksu- Kahramanmaraş	Beyaz	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
M10-2	Aksu- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M10-3	Aksu- Kahramanmaraş	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	+
M10-5	Aksu- Kahramanmaraş	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
M10-6	Aksu- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M10-8	Aksu- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
M10-9	Aksu- Kahramanmaraş	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-

Çizelge 4.8'in devamı

İzolat Adı	İzolatın Alındığı Yer	Koloni Rengi	F/NF	Koloni Gelişimi	L	O	P	T	Fo
M11-1	Türkoğlu- Kahramanmaraş	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
M11-2	Türkoğlu- Kahramanmaraş	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	+
M11-3	Türkoğlu- Kahramanmaraş	Sarı	NF	Normal	-	-	-	-	-
M11-4	Türkoğlu- Kahramanmaraş	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
M11-5	Türkoğlu- Kahramanmaraş	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
M11-6	Türkoğlu- Kahramanmaraş	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
M11-7	Türkoğlu- Kahramanmaraş	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
ME1-2	Güneyli-Erdemli-Mersin	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
ME1-3	Güneyli-Erdemli-Mersin	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
ME1-4	Güneyli-Erdemli-Mersin	Krem	NF	Mukoid	-	+	-	-	-
ME1-5	Güneyli-Erdemli-Mersin	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
ME1-6	Güneyli-Erdemli-Mersin	Sarı	F	Mukoid	-	+	-	-	-
ME1-7	Güneyli-Erdemli-Mersin	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
ME1-9	Güneyli-Erdemli-Mersin	Krem	NF	Normal	-	-	-	-	-
ME1-10	Güneyli-Erdemli-Mersin	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
ME2-2	Cıcık-Erdemli-Mersin1	Sarı	NF	Normal	-	+	-	-	-
ME2-4	Cıcık-Erdemli-Mersin1	Sarı	F	Normal	-	+	-	-	-
ME2-5	Cıcık-Erdemli-Mersin1	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
ME2-6	Cıcık-Erdemli-Mersin1	Krem	NF	Normal	-	+	-	-	-
ME2-7	Cıcık-Erdemli-Mersin1	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-
ME2-9	Cıcık-Erdemli-Mersin1	Turuncu	NF	Normal	-	-	-	-	-
ME3-2	Cıcık-Erdemli-Mersin2	Beyaz	NF	Normal	-	-	-	-	-
ME3-3	Cıcık-Erdemli-Mersin2	Krem	NF	Mukoid	-	-	-	-	-

F/NF: Floresan/Nonfloresan, L: Levan Oluşumu, T: Tütünde HR O: Oksidaz, P.: Patateste Pektolitik Aktivite Fo: Fosfatı İndirgeme özelliği

Çalışma sonucunda başarılı bulunan 3 PGPR izolatı ile yapılan yağ asit profillerine göre M1-3 %36, M3-1 %71 ve H8-8 %46 benzerlik oranlarında *Bacillus megaterium* olarak tanımlanmıştır. Elde edilen yağ asit analizi sonucu oluşan yağ profilleri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9. PGPR özellikteki *Bacillus megaterium* izolatlarının yağ asit analizi sonucu oluşan yağ asit profilleri

Yağ Aistleri	İzolat Sayısı	Dağılım Aralığı	Ortalama	Standart Hata
14:0 ISO	3	6.57-8.10	7.96	1.33
14:0	2	2.40-2.84	2.62	0.31
15:0 ISO	3	31.43-34.14	33.74	2.13
15:0 ANTEISO	3	44.38-49.56	46.51	2.71
16:w11c	3	3.18-5.89	4.43	1.40
16:0	2	3.89-4.20	4.05	0.22
Sum In Feature 4	1	5.54	5.54	0
17:0 ANTEISO	1	2.30	2.30	0
Summed Feature 4	1	5.54	5.54	0

Summed Feature 4: 17:1 ISO veya ANTEI B

Çizelge 4.9'da görüldüğü üzere 3 izolat ile yapılan çalışmada 9 farklı yağ asidi izole edilmiştir. İzole edilen yağ asitleri Sum in feature 4 (%5.54), 14:0 ISO (%7.96), 14:0 (%2.62), 15:0 ISO (%33.74), 15:0 ANTEISO (%46.51), 16:w11c (%4.73), 16:0 (%4.05), 17:0 ANTEISO (%2.30) olarak belirlenmiştir. İzole edilen yağ asitleri doymuş (14:0, 16:0), doymamış (16:w11c), methyl branched (14:0 ISO, 15:0 ISO, 15:0 ANTEISO, 17:0 ANTEISO) ve 1 tane sum in features (4) olmak üzere 4 grup olduğu saptanmıştır. Genelde yağ asit çeşidi ve miktarı açısından büyük benzerlikler olduğu görülmektedir. 14:0 ISO, 15:0 ISO, 15:0 ANTEISO ve 16:w11c yağ asitlerinin tüm izolatlarda bulunduğu belirlenmiştir. Diğer yağ asitleri açısından değişen oranlarda farklılıklar bulunmaktadır.

Bacillus spp. fosfatı indirgeme özelliğinden dolayı "phosphobacterin" olarak isimlendirmiştir (Brown, 1974). De Freitas ve ark, (1997) topraktan elde ettikleri bakteri izolatlarının fosfatı indirgeme testleri ve yağ asit analizleri ile izolatların tanılama çalışmalarında olduğu gibi topraktan izole ettiğimiz M1-3, M3-1 ve H8-8 izolatları ile yaptığımız çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Aday PGPR İzolatlarının Seçimi: Aday PGPR olarak biber bitkilerinin kök ve kök bölgesin toprağından izole edilen 189 bakteri izolatıyla yapılan fosfat indirgeme testi sonucunda 11 izolatın (A3-4, H8-8, O1-2, O2-1, O3-6, O3-20, M1-3, M3-1, M8-4, M10-3, M11-2) fosfatı indirgeme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.8). bu izolatların spektrofotometrede 400nm'deki absorbans değerleri detaylı olarak Çizelge 4.10'da verilmiştir. Bunlar içerisinde absorbans değeri en küçük olan ve istatistiki olarak kontrolden farklı bulunan 3 izolat (M1-3, M3-1, H8-8) ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere seçilmiştir. Bu izolatlar NBRIP besi yerinde Şekil 4.26'da görüldüğü gibi farklı düzeylerde renk açılmalarına neden olmuşlardır. Bu izolatların suda çözülebilen fosfat miktarı M1-3 ve M3-1'de 40µg/ml H8-8 izolatında ise 39µg/ml olarak saptanmıştır.

Bitki büyümesi için temel besin maddelerinden biri fosfordur. Bitkiler toprakta bulunan çözülmeyen formdaki fosforu besin olarak kullanamazlar. İnorganik fosfat gübre olarak toprağına uygulandığında bir süre sonra alınmayan forma dönüşür. Toprakta bulunan çözülmeyen ve bağlı formdaki fosfatı toprakta bulunan bakteriler

çözerek bitkinin alacağı forma getirirler (Nautiyal, 1999). Fosfatı indirgeyen mikroorganizmaların seçiminde genellikle Pikovskaya (PVK) agar besi yeri (Pikovskaya, 1948) kullanılabilir. Fosfatı indirgeyen bakteriler bu katı besi yerinde bir hale veya bir temizleme alanı oluştururlar. Fakat NBRIP sıvı besi yerinde fosfatı indirgeyen mikroorganizmaların PVK besi yerinde herhangi bir hale veya temizleme alanı oluşturmadıkları çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Gupta ve ark, 1994; Nautiyal, 1999; Mehta ve Nautiyal, 2001). Biz de çalışmamızda bu durumu göz önüne alarak aday PGPR'ler arasında seçim yaparken fosfatı indirgeyen bakterileri saptamak için PVK katı besi yerine NBRIP sıvı besi yerini kullandık. Fosfatı indirgeyen bakterileri seçiminde spektrofotometrede klorimetrik ölçümler yapılmış bunun yanında sıvı besi yerinin bromofenol blue içermesi nedeniyle oluşan renk açılması da bize izolat seçiminde yardımcı olmuştur. Bu besi yeri diğer araştırmalarda (Johri ve ark, 1999) olduğu gibi bizim çalışmalarda da başarıyla kullanılmıştır.



Şekil 4.26. PGPR izolatlarının NBRIP besi yerinde fosfat indirgemesi sonucu oluşan renk değişimi (Sağda negatif kontrol, solda bakteri ile aşılanmış besi yerleri)

Çizelge 4.10.NBRIP besi yerinde gelişen PGPR izolatlarının spektrofotometrede absorbens değerleri (400nm)

İzolat adı	I. Tek	II. Tek	III. Tek	Ortalama*
Negatif Kontrol	0.240	0.198	0.200	0.212 ^{ab}
A3-4	0.171	0.159	0.159	0.163 ^b
H8-8	0.104	0.096	0.075	0.092 ^c
M1-3	0.099	0.067	0.68	0.078 ^c
M3-1	0.065	0.063	0.152	0.093 ^c
M8-4	0.201	0.187	0.212	0.200 ^{ab}
M11-2	0.218	0.218	0.157	0.198 ^{ab}
M10-3	0.186	0.173	0.169	0.176 ^b
O1-2	0.203	0.204	0.203	0.203 ^{ab}
O2-1	0.233	0.240	0.225	0.233 ^a
O3-6	0.130	0.155	0.191	0.159 ^b
O3-20	0.186	0.110	0.233	0.176 ^b

a, ab, b, c ANOVA istatistiki programında Duncan ($p \leq 0.05$)'e göre farklılıkları göstermektedir.

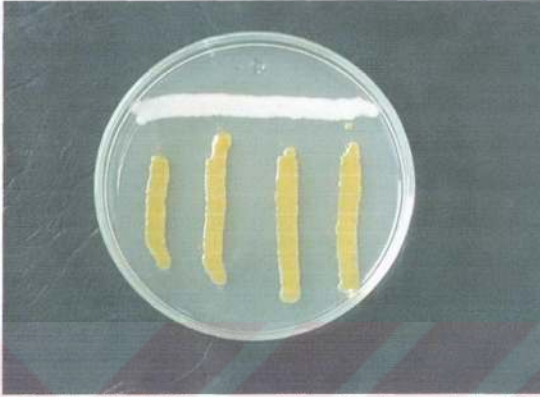
* Ortalama değerlerin yanında verilen aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir.

4.4.Seçilen PGPR İzolatlarının Antagonistik ve Siderefor Etkilerinin Testlenmesi

Seçilen üç adet izolat ile kurulan deneme sonucunda izolatlar 0.05-0.27cm arasında değişen engelleme zonları oluşturmuşlardır (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.27). Denemede kullanılan üç PGPR izolatının (M1-3, M3-1 ve H8-8) siderefor etkisi Fe^{+3} elementi içeren KB besi yeri üzerinde test edildiğinde bu izolatlardan M1-3 ve M3-1 izolatı Fe^{+3} yokluğunda engelleme zonu oluştururken (Çizelge 4. 11) Fe^{+3} varlığında engelleme zonu oluşturmamıştır. Diğer izolat H8-8 izolatı Fe^{+3} yokluğunda 0.05 olan inhibisyon zonu Fe^{+3} varlığında 1.30cm gibi artan oranda engelleme zonu oluşturmuştur. Bu sonuçlar M1-3 ve M3-1'in patojen engellemesinde siderefor etkisini kullandığını gösterirken H8-8 izolatının patojen gelişimini engellemede siderefor etkisinin olmadığını göstermiştir (Şekil 4.28).

Çizelge 4.11.PGPR izolatlarının Xav' ya karşı petride oluşturukları antagonistik ve siderefor testinde engelleme zonları (cm)

PGPR izolatları	Antagonistik etki	Siderefor Etki
H8-8	0.05	1.30
M1-3	0.21	0
M3-1	0.27	0



şekil 4.27. Petride ikili kültür antagonistik etki denemesinde M3-1 izolatının oluşturduğu engelleme zonu



şekil 4.28. Petride ikili kültür siderefor etki denemesinde H8-8 izolatının oluşturduğu engelleme zonu

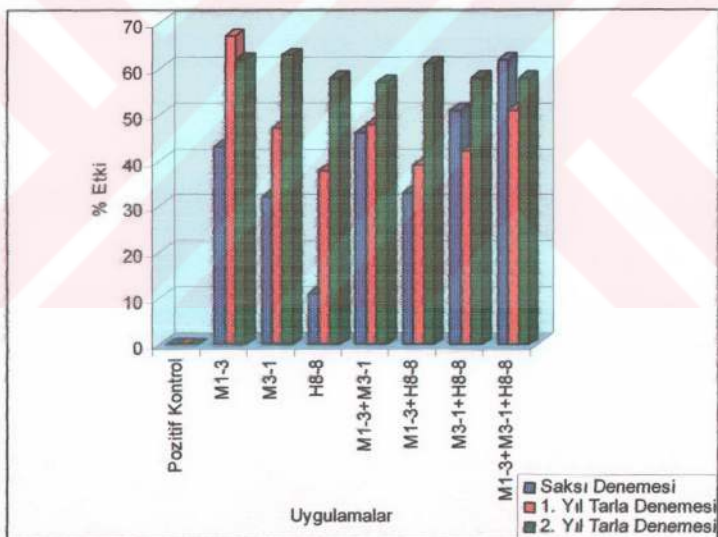
4.5.PGPR'in *Xav* Üzerine Etkisi

Klima odası koşullarında 2002 yılının Mayıs-Haziran ayları arasında kurulan saksı denemesinde, kontrol olarak kökleri suya daldırılan, yapraktan patojen inokulasyonu yapılan bitkilerde inokulasyon tarihinden sonraki 10–15 gün içinde bitkilerde yaprak belirtileri gözlenmiştir. Pozitif kontrol uygulamasındaki bitkilerin tümünde semptom gözlemlendikten sonra değerlendirme yapılmış ve kontroldeki hastalık şiddetinin ortalama 3.32 skala değerinde olduğu saptanmıştır. H8-8 kodlu PGPR uygulamasında hastalık şiddeti 2.96, M3-1'de 2.25, M1-3'de ise 1.89 olmuştur. İzolatların ikili kombinasyonlarındaki hastalık şiddeti M1-3+H8-8'de 2.21, M1-3+M3-1'de 1.79 ve M3-1+H8-8'de 1.61 olmuştur. Üç izolatın eşit oranda karışımındaki hastalık şiddeti 1.25 olarak saptanmıştır. Kontrole göre belirlenen etki %'si ise en etkili uygulamanın %62 oranıyla üçlü kombinasyonda olduğu belirlenmiştir. İkili kombinasyonları %51, %46 ve %33 oranında hastalığı engellemiştir. İzolatlar tek başlarına ise %11, %32 ve %43 oranında hastalık şiddetini azalttığı saptanmıştır (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.29). İstatistikî olarak da incelendiğinde H8-8'in pozitif kontrol ile aynı grupta yer alarak etkisiz olduğu, diğer tekli ve ikili kombinasyonların aynı grupta yer aldığı, üçlü kombinasyonun farklı bir grupta yer alarak en iyi uygulama olduğu görülmektedir. Negatif kontrol olarak hiçbir uygulama yapılmayan bitkilerde ise hiçbir hastalık semptomu gözlenmemiştir.

Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama parselinde 2003 ve 2004 yılında kurulan iki yıllık tarla denemesinin ilk yılında pozitif kontrolde hastalık şiddeti 2.11 iken PGPR izolatları uygulanmış bitkilerdeki hastalık şiddeti 1.31-0.69 arasında olmuştur (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.29). En etkili uygulamanın hastalık şiddetini %67 oranında azaltan M1-3 izolatında olduğu saptanmıştır. M1-3 uygulaması dışındaki diğer tüm uygulamalar hastalık şiddetini %38-51 oranında azaltmayı başarmıştır. İstatistikî olarak da M1-3 izolatı ayrı bir grup oluştururken diğer uygulamalar aynı grupta yer almaktadır.

Çizelge 4.12. PGPR izolatlarının biberde bakteriyel leke hastalığının şiddetine etkisi

Uygulamalar	Saksı		2003 Tarla		2004 Tarla	
	Has. Şid	% Etki	Has. Şid	% Etki	Has. Şid	% Etki
Pozitif Kontrol	3.32 ^a	0	2.11 ^a	0	2.04 ^a	0
M1-3	1.89 ^{bc}	43	0.69 ^c	67	0.77 ^b	62
M3-1	2.25 ^{bc}	32	1.11 ^b	47	0.75 ^b	63
H8-8	2.96 ^a	11	1.31 ^b	38	0.86 ^b	58
M1-3+M3-1	1.79 ^{bcd}	46	1.09 ^b	48	0.88 ^b	57
M1-3+H8-8	2.21 ^{bc}	33	1.29 ^b	39	0.79 ^b	61
M3-1+H8-8	1.61 ^{cd}	51	1.22 ^b	42	0.85 ^b	58
M1-3+M3-1+H8-8	1.25 ^d	62	1.04 ^b	51	0.86 ^b	58



Şekil 4.29. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda ve tarla koşullarında biber bakteriyel leke hastalığının şiddetine olan etkisi

2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde kontrolde hastalık şiddeti 2.04 iken PGPR'lerle uygulama görmüş bitkilerde hastalık şiddeti 0.75-0.88 olduğu saptanmıştır. Hastalık şiddeti PGPR uygulamalarıyla %57-63 arasında azalmıştır. Tüm uygulamalar istatistiksel olarak kontrolden farklı bulunmuş ve hepsi tek bir grup içerisinde yer almışlardır. Bu yıl yapılan denemede PGPR izolatlarının tekli, ikili ve üçlü kombinasyonlarının hastalığı engellemede son derece başarılı olduğu görülmektedir.

Doğal koşullar altında iki yıl tekrar edilen denemelerin sonuçlarına göre bu üç PGPR izolatı biberde bakteriyel leke hastalığını baskı altına almada başarılı izolatlar olarak görülmektedir. İzolatlar arasında en ümit var görüleni *Bacillus megaterium* olarak tanımlanan M1-3 izolatıdır. Çalışmamızda M1-3, M3-1 ve H8-8 uygulamaları ve bunların karışımları daha iyi etki göstermiştir. Birden fazla PGPR'ın karışımı, tek bir izolat uygulaması ile mukayese edildiğinde etkinin daha fazla olduğu diğer araştırmacılar tarafından da saptanmıştır (Romero ve ark, 2003; Anith ve ark, 2004).

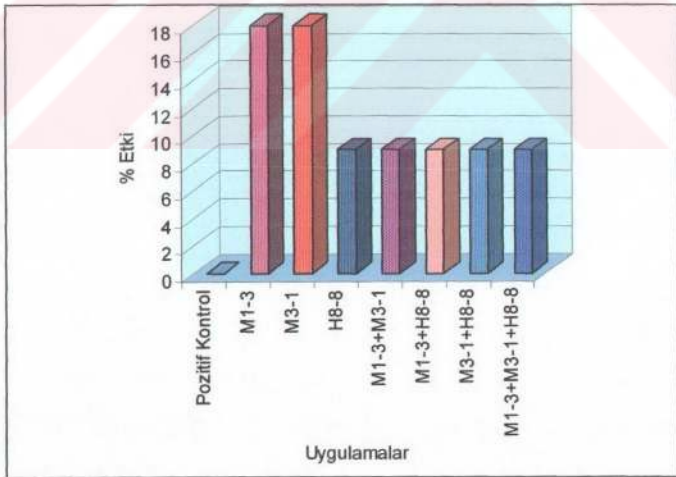
Bacillus türlerinin farklı bitki türlerinde çeşitli hastalıkların kontrolünde etkili olduğu bildirilmiştir (Guo ve ark, 2004). Bizim çalışmamızda da *Bacillus megaterium* uygulamalarının biyolojik kontrol aktivitesini artırabilen önemli bir faktör olduğunu ortaya konmuştur. Biyokontrol ajanlarının karıştırılarak kullanılması sinergistik etki yaparak hastalığı baskılamada daha etkili olmaktadır. Çünkü birden fazla biyokontrol ajanının karıştırılması farklı kontrol mekanizmalarını (antibiyotik, siderefor, vb) harekete geçirerek çok sayıda hastalık etmenine karşı koruma sağlar. Sung ve Chung (1997) kitinaz üreten *Streptomyces* spp. ve *Bacillus cereus* izolatları ile antibiyotik üreten *P. flourescens* ve *Burkholdere cepacia* izolatlarını karıştırıldığında meydana gelen sinergistik etki ile çeltik kın yanıklığının daha iyi baskılandığını bildirmişlerdir.

Biberde bu hastalığın kontrolünde antagonistlerin (Byrne ve ark, 2005) ve PGPR'ların (Romero ve ark, 2003; Romeiro ve ark, 2005) kullanılabileceğini göstermektedir. Henüz biberde bu hastalığa karşı ruhsat almış bir biyolojik preparat olmasa da ümit verici araştırmalar bulunmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız başarılı izolatların patojeni baskı altına almada kullandığı mekanizmaların belirlenmesi için daha detaylı araştırmalar gerekmektedir.

4.6.PGPR İzolatlarının İnfekteli Bitkilerde Bitki Gelişimine Etkisi

Saksı Çalışması: Klima odası koşullarında 2002 yılının Mayıs-Haziran ayları arasında yapılan saksı denemesinde, *Xav* ile infekteli biber bitkilerinin köklerine daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, bitki yaş ağırlığına, bitki kuru ağırlığına, kök uzunluğuna, kök kuru ağırlığına, verime, meyve boyu ve meyve sayısına etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.13'de olarak verilmiştir.

Klima odası koşullarında 2002 yılının Mayıs-Haziran ayları arasında yapılan saksı denemesinde, kökten PGPR uygulamasının bitkilerin bitki boyuna etkisi değerlendirilmiş ve Çizelge 4.13, Şekil 4.30'da görüldüğü gibi bitki boyları M1-3 ve M3-1 tekli uygulamaları bitki boyunda %18, diğer uygulamalar (H8-8, M1-3+M3-1, M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve M1-3+M3-1+H8-8) ise %9'luk artışa neden olmuştur. İstatistiki olarak kontrol ve PGPR uygulamaları arasında herhangi bir farkın bulunmadığı belirlenmiştir.



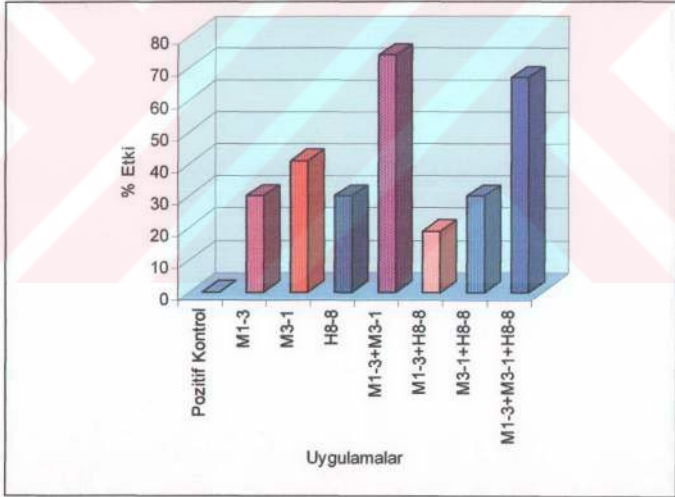
Şekil 4.30. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin bitki boyuna olan etkisi

Çizelge 4.13. PGPR izolatlarının infekteli biber bitkilerinin saksıda bitki boyuna, bitki yaş ağırlığına, kök kuru ağırlığına, kök, uzunluğuna ve gövde çapına etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu		Gövde Çapı (mm)		Bitki Yaş Ağırlığı (g)		Bitki Kuru Ağırlığı (g)		Kök Uzunluğu (mm)		Kök Kuru Ağırlığı (gr))	
	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki
Pozitif Kontrol	11.0 ^a	-	2.7 ^c	-	2.3 ^d	-	1.2 ^e	-	103.3 ^{ab}	-	1.5 ^b	-
M1-3	13.0 ^a	18	3.5 ^{bc}	30	4.2 ^b	83	1.7 ^{cd}	42	120.0 ^{ab}	16	1.6 ^b	7
M3-1	13.0 ^a	18	3.8 ^{ab}	41	6.1 ^a	165	3.0 ^a	250	111.7 ^{ab}	8	1.5 ^b	0
H8-8	12.0 ^a	9	3.5 ^{bc}	30	4.0 ^b	74	2.0 ^b	67	113.3 ^{ab}	10	1.5 ^b	0
M1-3+M3-1	12.0 ^a	9	4.7 ^a	74	3.3 ^c	43	1.6 ^d	33	125.0 ^a	21	1.6 ^b	7
M1-3+H8-8	12.0 ^a	9	3.2 ^{bc}	19	3.9 ^b	70	1.8 ^{cd}	50	93.3 ^b	-10	1.9 ^a	27
M3-1+H8-8	12.0 ^a	9	3.5 ^{bc}	30	3.8 ^b	65	1.7 ^{cd}	42	111.7 ^{ab}	8	2.0 ^a	33
M1-3+M3-1+H8-8	12.0 ^a	9	4.5 ^a	67	3.9 ^b	70	1.8 ^{cd}	50	123.3 ^a	19	1.3 ^b	-13

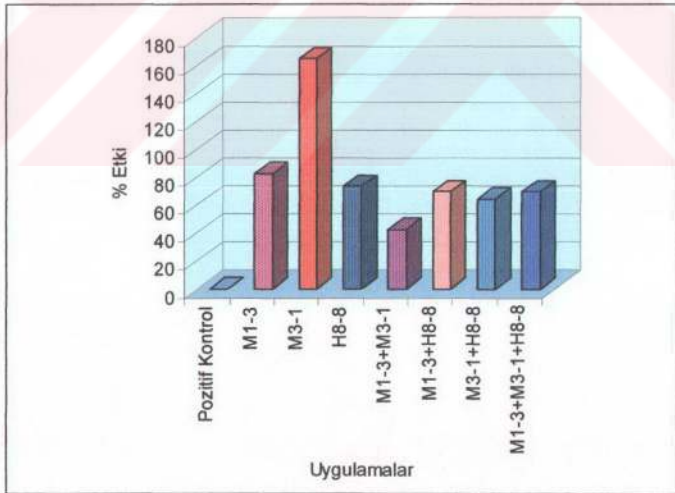
a, b, c, d harfleri ANOVA Duncan $p \leq 0.05$ 'de aralarındaki farkları göstermektedir.

Saksı çalışmasında gövde çapını artırmada en etkili uygulamanın %74'lük artışla M1-3+M3-1 uygulamasında olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı %67 etki ile üçlü kombinasyon (M1-3+M3-1+H8-8) uygulaması takip etmiştir. Tekli uygulamalar (M3-1, H8-8 ve M1-3) %41, %30 ve %30 oranlarında bir artışa neden olmuştur. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8'de %30'luk ve M1-3+H8-8'de ise %19'luk bir artış gözlenmiştir. İstatistikî olarak da incelendiğinde M1-3+M3-1 ikili uygulaması ve üçlü karışım diğerlerinden farklı bir grup içerisinde bulundukları ve en etkili uygulamalar oldukları saptanmıştır. M3-1 tekli uygulaması farklı bir grup içerisinde bulunmakta ve diğer uygulamalar ile arasındaki farkın önemli olduğu görülmektedir. Bunların dışındaki uygulamaların (M1-3, H8-8, M1-3+H8-8 ve M3-1+H8-8) kontrolle aynı grup içerisinde yer aldığı ve etkisiz olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.13, Şekil 4.31)



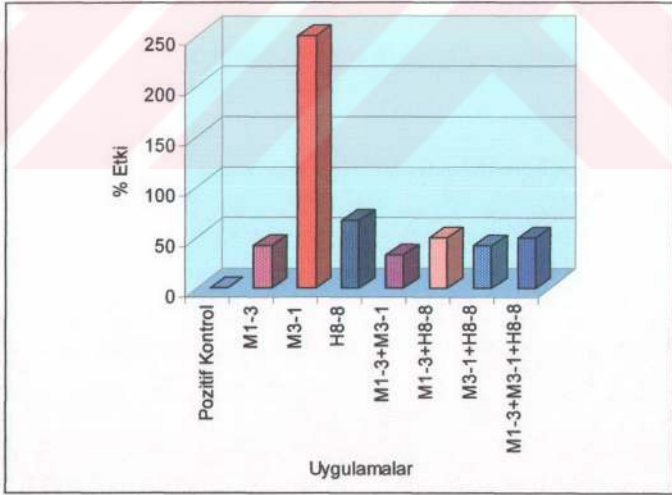
Şekil 4.31. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi

Saksı çalışmasında PGPR uygulamaları pozitif kontrolle karşılaştırıldığında bitki yaş ağırlığının %43-165 oranında artırdığı belirlenmiştir. M3-1 uygulaması bitki yaş ağırlığında %165'lik bir artışa neden olmuştur. M1-3 ve H8-8 tekli uygulamaları sırasıyla %83 ve %74 oranında bitki yaş ağırlığını arttırmıştır. İkili uygulamaların (M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve M1-3+M3-1) ise %70, %65 ve %43 oranlarında yaş ağırlığı artırdığı saptanmıştır. Üçlü karışım ise bitki yaş ağırlığında %70 oranında artışa neden olmuştur. İstatistiki olarak da incelendiğinde M3-1 uygulaması diğer uygulamalardan farklı bir grupta yer alarak en iyi uygulama olduğu görülmektedir. M1-3, H8-8, M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve üçlü karışım istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer aldıkları ve aralarında herhangi bir farkın bulunmadığı saptanmıştır. M1-3+M3-1 ikili uygulamasının ise diğerlerinden farklı bir grup içerisinde bulunduğu ve daha az etkili bir uygulama olduğu belirlenmesine rağmen tüm uygulamalar kontrolden farklı grupta yer alarak etkili oldukları saptanmıştır (Çizelge 4.13, Şekil 4.32).



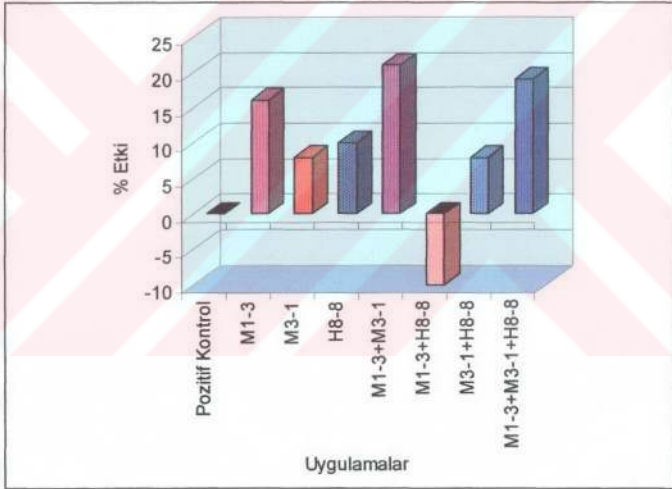
Şekil 4.32. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin bitki yaş ağırlığına olan etkisi

Saksı çalışmasında pozitif kontrole göre bitki kuru ağırlığını en fazla arttıran uygulamanın %250 oranıyla M3-1 uygulamasının olduğu belirlenmiştir. H8-8 ve M1-3 tekli uygulamaları sırasıyla %67 ve %42 oranında bitki kuru ağırlığını arttırmıştır. İkili uygulamalar (M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve M1-3+M3-1) ise %50, %42 ve %33 oranlarında kuru ağırlığı artırırken üçlü karışım ise bitki kuru ağırlığını %50 oranında arttırmıştır. İstatistiki olarak da incelendiğinde M3-1 uygulaması diğer uygulamalardan farklı bir grupta yer alarak en iyi uygulama olduğu görülmektedir. Diğer uygulamalardan farklı bir grupta bulunan H8-8 uygulamasının M3-1 uygulamasından sonra en etkili uygulama olduğu gözlenmiştir. M1-3, M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve üçlü karışım istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer aldıkları aralarında herhangi bir farkın bulunmadığı saptanmıştır. M1-3+M3-1 ikili uygulamasının ise diğerlerinden farklı bir grup içerisinde bulunduğu ve daha az etkili bir uygulama olduğu belirlenmiştir. Tüm uygulamalar kontrole göre istatistiki olarak farklı ve etkili bulunmuştur (Çizelge 4.13, Şekil 4.33).



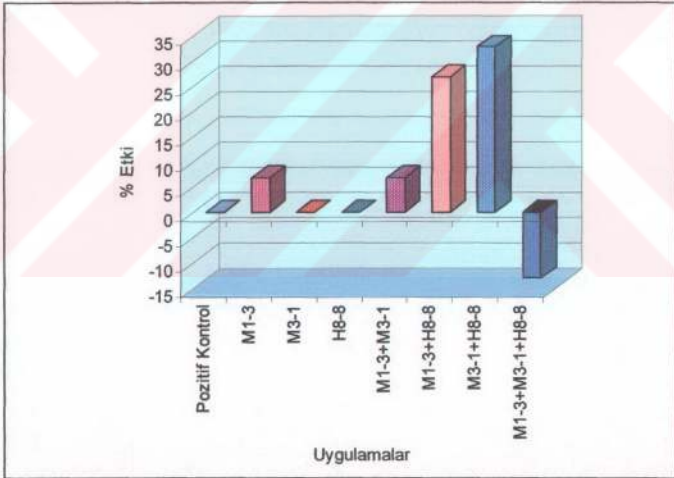
Şekil 4.33. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Saksı çalışmasında kök uzunluğunu artıran en iyi uygulamanın %21 oranıyla M13+M3-1 uygulamasının olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı %19'luk artış ile M1-3+M3-1+H8-8 uygulaması takip etmiştir. Tekli uygulamaları (M3-1, H8-8 ve M1-3) %16, %10 ve %8 oranlarında bir artışa neden olmuştur. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8 uygulaması kök uzunluğunu %8 arttırırken M1-3+H8-8 uygulamasında %10 oranında bir azalmaya rastlanılmıştır. İstatistik olarak da incelendiğinde hiçbir uygulamanın kontrolden farklı olmadığı görölmektedir. PGPR uygulamasının kök uzunluğunda istatistik olarak etkili olmadığı tespit edilmiştir (izelge 4.13, şekil 4.34).



şekil 4.34.Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin kök uzunluğuna olan etkisi

Saksı çalışmasında M3-1+H8-8 ile yapılan uygulama kök kuru ağırlığında %33'lük bir artış sağlayarak en iyi uygulama olarak belirlenmiştir. Bu uygulamayı %27 etki ile M1-3+H8-8 uygulaması takip etmiştir. Tekli uygulamalardan M3-1 uygulaması %7 oranında bir artış gösterirken M1-3 ve H8-8 uygulamaları kök kuru ağırlığında herhangi bir etki göstermemiştir. İkili uygulamalardan M1-3+M3-1 uygulaması ise kök kuru ağırlığında %7 oranında bir artışa neden olmuştur. Üçlü karışım ise kök kuru ağırlığını %13 oranında azaltmıştır. İstatistikî olarak da incelendiğinde M3-1+H8-8 ve M1-3+H8-8 ikili uygulamalar aynı grup içerisinde bulunan diğer etkili uygulamalar oldukları saptanmıştır. Geriye kalan uygulamaların tümü istatistikî olarak aynı grup içerisinde yer aldıkları ve kontrol ile aralarında herhangi bir farkın bulunmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.13, Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda infekteli biber bitkilerinin kök kuru ağırlığına olan etkisi

Tarla Çalışması

2003 ve 2004 yıllarında yapılan tarla denemelerinde (Şekil 4.36 ve 4.37) *Xav* ile infekteli biber bitkilerinin köklerine daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, bitki yaş ağırlığına, bitki kuru ağırlığına, kök uzunluğuna, kök kuru ağırlığına, verime, meyve boyu ve meyve sayısına etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.2’de toplu olarak verilmiştir.



Şekil 4.36. 2003 yılı tarla denemesinin görünüşü

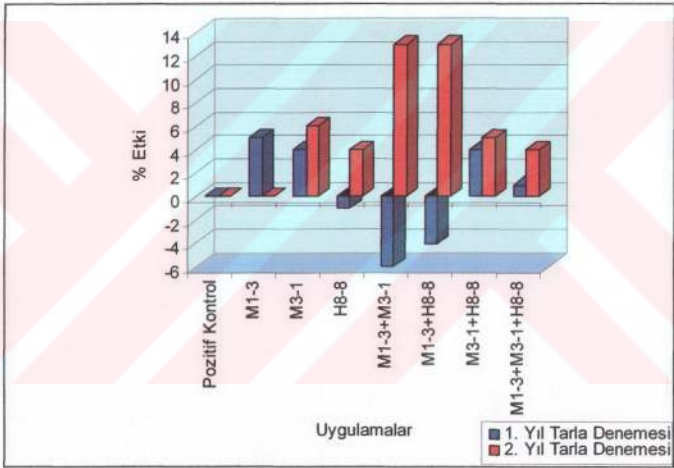


Şekil 4.37. 2003 yılı tarla denemesinde bir parselin görünüşü

Çizelge 4.14. PGPR izolatlarının infekteli bitkilerde tarlada bitki büyümesine etkisi

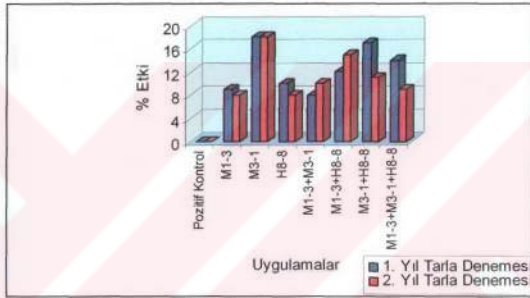
			Pozitif Kontrol	M1-3	M3-1	H8-8	M1-3+M3-1	M1-3+H8-8	M3-1+H8-8	M1-3+M3-1+H8-8
Bitki boyu	2003	Ort.	27.48 ^a	28.88 ^a	28.62 ^a	27.12 ^a	26.04 ^a	26.40 ^a	28.63 ^a	27.44 ^a
		%Etki	-	5	4	-1	-6	-4	4	1
	2004	Ort.	27.45 ^b	27.48 ^{ab}	29.03 ^{ab}	28.47 ^{ab}	31.11 ^a	30.89 ^a	28.69 ^{ab}	28.63 ^{ab}
		%Etki	-	0	6	4	13	13	5	4
Gövde Çapı (mm)	2003	Ort.	9.7 ^d	10.7 ^{bcd}	11.8 ^a	10.8 ^{bc}	10.5 ^{cd}	11 ^{bc}	11.7 ^b	11.3 ^{bc}
		%Etki	-	9	18	10	8	12	17	14
	2004	Ort.	11.7 ^c	12.7 ^{bc}	14.2 ^a	12.7 ^{bc}	13 ^{bc}	13.7 ^b	13.2 ^b	12.8 ^{bc}
		%Etki	-	8	18	8	10	15	11	9
Bitki yaş ağırlığı	2003	Ort.	557.5 ^a	744.4 ^a	868.7 ^a	762.4 ^a	757.7 ^a	689.8 ^a	785 ^a	779.5 ^a
		%Etki	-	25	36	27	26	19	29	29
	2004	Ort.	931.2 ^a	951.9 ^a	1116.5 ^a	1016.7 ^a	1180.7 ^a	1106.3 ^a	1073.5 ^a	1113.6 ^a
		%Etki	-	2	17	8	21	16	13	16
Bitki kuru ağırlığı (g)	2003	Ort.	212.4 ^a	241.5 ^a	248.5 ^a	343.4 ^a	282.8 ^a	253.9 ^a	270.1 ^a	295.9 ^a
		%Etki	-	12	15	38	25	16	21	28
	2004	Ort.	365.3 ^b	431.6 ^{ab}	495.3 ^a	391.6 ^b	461.7 ^{ab}	471 ^{ab}	428.6 ^{ab}	431.7 ^{ab}
		%Etki	-	15	26	7	21	22	15	15
Kök Uzunluğu	2003	Ort.	91.8 ^d	106.3 ^{ab}	110.8 ^a	92.7 ^{cd}	105.8 ^{ab}	103 ^{ab}	99.2 ^{bc}	99 ^{bc}
		%Etki	-	14	17	1	13	11	8	7
	2004	Ort.	153.8 ^c	168.2 ^{bc}	184.5 ^a	165.8 ^{bc}	171.2 ^b	171.2 ^b	169.3 ^{bc}	164.3 ^{bc}
		%Etki	-	9	17	7	10	10	9	6
Kök Kuru Ağırlığı (g)	2003	Ort.	63.3 ^b	63.6 ^b	87.9 ^a	64.4 ^b	59.2 ^b	62.3 ^b	62.7 ^b	56.3 ^b
		%Etki	-	1	28	2	-7	-2	-1	-12
	2004	Ort.	64.3 ^d	65.8 ^{cd}	71.9 ^{bcd}	67.4 ^{cd}	87.2 ^a	86.1 ^{ab}	81 ^{abc}	68.6 ^d
		%Etki	-	2	11	5	26	25	21	6
Verim (g)	2003	Ort.	1187.7 ^a	1381.5 ^a	1521.1 ^a	1351.6 ^a	1393.8 ^a	1342.7 ^a	1490.9 ^a	1401.3 ^a
		%Etki	-	16	28	14	17	13	26	18
	2004	Ort.	2355.5 ^a	2369.3 ^a	2824.4 ^a	2390.7 ^a	3017.3 ^a	2580.0 ^a	2486.6 ^a	2558.4 ^a
		%Etki	-	1	20	2	28	10	6	9
Meyve boyu (cm)	2003	Ort.	12.3 ^d	15.4 ^b	16.8 ^a	13.5 ^{cd}	14.3 ^{bc}	15.6 ^b	15.5 ^b	14.2 ^c
		%Etki	-	25	37	10	16	27	26	15
	2004	Ort.	10.1 ^a	10.7 ^a	9.9 ^a	9.1 ^a	10.5 ^a	10.5 ^a	10.6 ^a	9.7 ^a
		%Etki	-	6	-2	-10	4	4	5	-4
Meyve sayısı	2003	Ort.	41 ^c	58.8 ^a	60 ^a	48.7 ^{bc}	55.7 ^b	52.7 ^b	49.3 ^{bc}	41 ^c
		%Etki	-	43	46	19	36	29	20	0
	2004	Ort.	36.7 ^a	45.8 ^a	42.1 ^a	36.7 ^a	45.0 ^a	40.0 ^a	36.7 ^a	45.0 ^a
		%Etki	-	25	15	0	23	9	0	23

2003 ve 2004 yılında yapılan tarla denemelerinde *Xav* ile hasta bitkilere PGPR uygulaması yapıldığında kontrole göre bitki boyundaki artış oranın %1-13 arasında olduğu saptanmıştır. İlk yılki denemede istatistiki olarak hiçbir uygulamanın kontrolden farklı olmadığı belirlenmiştir. İkinci yıl denemesinde M1-3+M3-1 ve M1-3+H8-8 uygulamaları bitki boyunda %13'lük bir artış sağlamış ve istatistiki olarak diğer uygulamalardan farklı olduğu bulunmuştur. Bu iki (M1-3+M3-1, M1-3+H8-8) uygulama bitki boyunu artıran en etkili uygulamalar olarak saptanmıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.38)



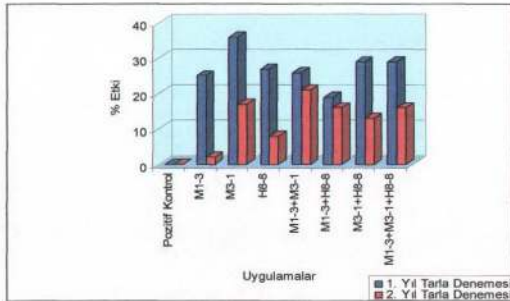
Şekil 4.38. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin bitki boyuna olan etkisi

PGPR uygulamaları gövde çapında 2003 ve 2004 yıllarında %8-18 oranında artışa neden olmuştur. İlk yıl M3-1, H8-8, M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve üçlü kombinasyon uygulamaları %10-18 artışla kontrole göre gövde çapında istatistik olarak etkili bulunmuşlardır. 2004 yılında ise M3-1 tekli uygulamasında gövde çapını %18 oranında arttırdığı saptanmış ve en etkili izolat olarak da diğerlerinden farklı bulunmuştur. M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 uygulamaları %15 ve %11'lik artışla istatistiki olarak ayrı bir grupta yer almış, kontrolden farklı olarak etkili uygulamalar içine dahil edilmiştir (Çizelge 4.14 ve Şekli4.39).



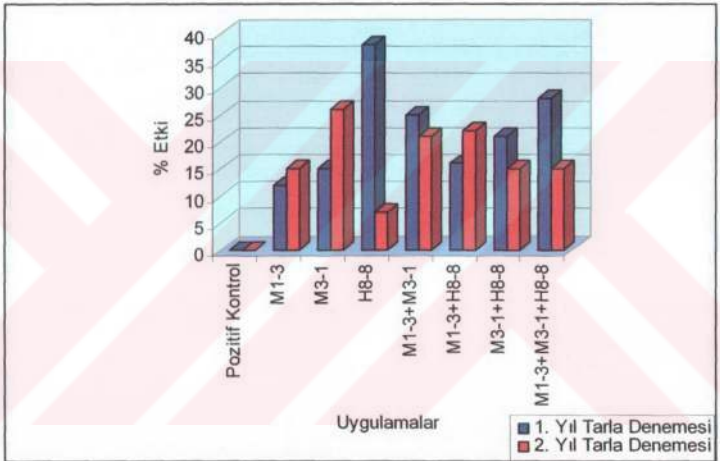
Şekil 4.39 Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi

Her iki yılda bitki yaş ağırlığında %2-36 arasında artış olduğu saptanmasına rağmen kontrole karşılaştırıldığında hiçbir uygulama arasında istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.40).



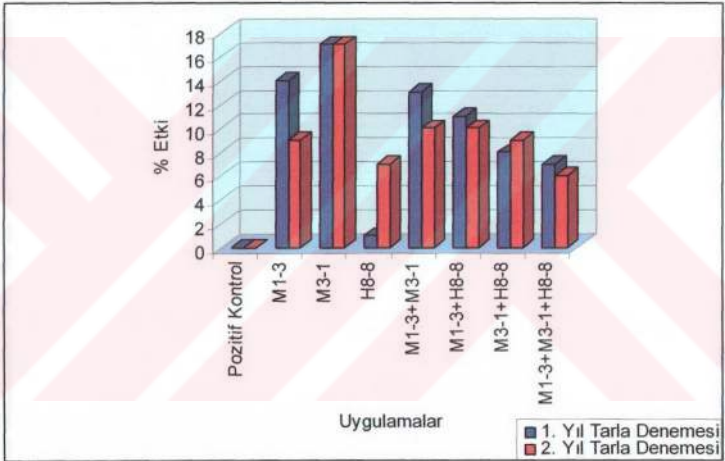
Şekil 4.40. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin bitki yaş ağırlığına olan etkisi

Bitki kuru ağırlığında ise 2003 yılında %12-38, 2004 yılında ise %7-26 oranında artış olduğu saptanmıştır. ancak iki yıl yapılan tarla denemisinde hiçbir uygulama istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmamıştır. İkinci yıl tarla çalışmasında bitki kuru ağırlığını %26 oranında artıran M3-1 kodlu izolat istatistiki olarak da diğer uygulamalardan farklı bulunarak en etkili uygulama olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.41).



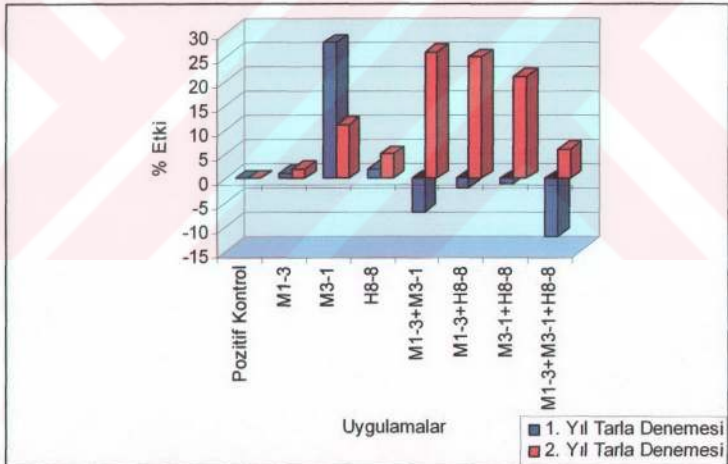
Şekil 4.41. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Tarla denemelerinde PGPR izolatları ana kökün uzunluğunu ilk yıl %1-17, ikinci yıl %7-17 oranlarında artırmışlardır. 2003 yılında %1 artışa neden olan H8-8 hariç geriye kalan tüm uygulamalar istatistiki olarak kontrolden farklı bulunarak kök uzunluğuna artışa neden olan başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. 2004 yılında M3-1, M1-3+M3-1 ve M1-3+H8-8 izolatlarıyla uygulama görmüş bitkilerin köklerinde %10-17 oranındaki artış istatistik olarak diğerlerinden farklı olarak belirlenmiştir. Bu üç uygulama her iki yılda da etkili uygulamalar grubunda yer almıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil4.42).



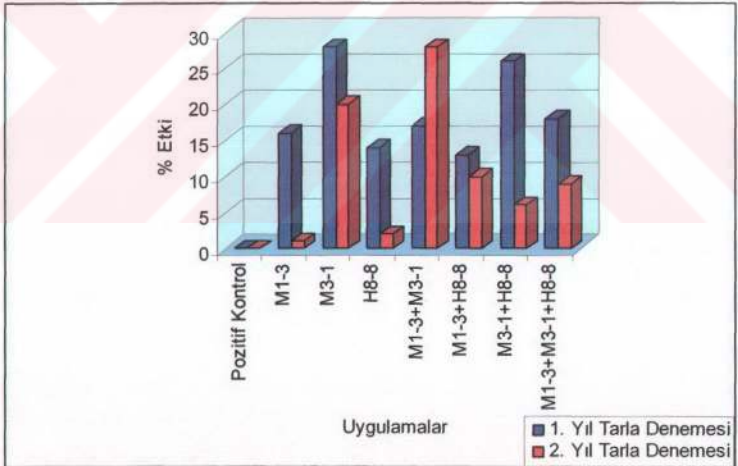
Şekil 4.42. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin kök uzunluğuna olan etkisi

İki yıllık tarla çalışmalarına göre PGPR uygulanmış *Xav* ile hasta bitkilerde kontrole göre kök kuru ağırlığında 2003 yılında %1-28 oranında artışa neden olurken bazı uygulamalarda (M3-1+H8-8, M1-3+H8-8, M1-3+M3-1 ve üçlü karışım) %1-12 oranında azalış tespit edilmiştir. M3-1 uygulaması 2003 yılında kök kuru ağırlığını %28 artırarak istatistiki olarak diğer uygulamalardan farklı bulunmuştur. 2004 yılı tarla denemelerinde hiçbir uygulama kök kuru ağırlığında azalışa neden olmamıştır. 2004 yılı tarla denemesinde kök kuru ağırlığındaki artış oranının %2-26 arasında olduğu belirlenmiştir. PGPR izolatlarının ikili kombinasyonları (M3-1+H8-8, M1-3+H8-8 ve M1-3+M3-1) sırasıyla %21, %25, %26 oranında kök kuru ağırlığını artırmış ve istatistiki olarak kontrolden farklı bulunan başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.43).



Şekil 4.43. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin kök kuru ağırlığına olan etkisi

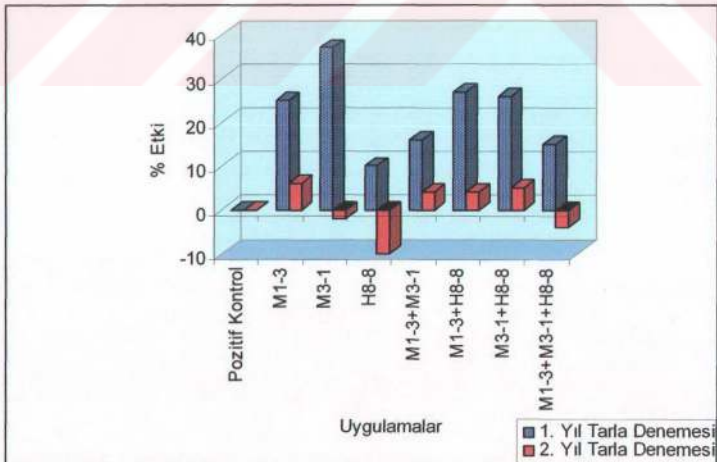
2003 ve 2004 yılında kurulan iki yıllık tarla denemesinde en etkili uygulama verimi %28 oranında arttıran M3-1 uygulaması olduğu saptanmıştır. Tekli uygulamalardan M1-3 %16, H8-8 uygulaması ise %14 artışa neden olmuştur. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8'de %26, M1-3+M3-1'de %17 ve M1-3+H8-8'de ise %13'lük bir artışa neden olduğu görülmüştür. Üçlü karışımın ise %18 oranında verimi arttırdığı belirlenmiştir. İstatistiki olarak uygulamaların aynı grup içerisinde bulunduğu ve aralarında farkın bulunmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.44). 2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde kontrole göre meyve verimi PGPR uygulamalarıyla %1-28 arasında artmıştır. M1-3+M3-1 ikili uygulaması verimi %28 oranında arttırarak en etkili uygulamalar olarak ortaya çıkmıştır. İstatistiki olarak uygulamalar aynı grup içerisinde bulunmakta ve aralarında fark bulunmamaktadır.



Şekil 4.44. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin verime olan etkisi

2003 yılında yapılan ilk yıl tarla denemesinde M3-1 tekli uygulamasının meyve boyunda %37'lik bir artışa neden olduğu saptanmıştır. Tekli uygulamalardan M1-3 %25, H8-8 uygulaması ise %10'luk artışa neden olmuştur. İkili uygulamalardan M1-3+H8-8'de %27, M3-1+H8-8'de %26 ve M1-3+M3-1'de ise %16'lık bir artış saptanmıştır. Üçlü karışım ise %15 oranında bitki boyunu arttırdığı belirlenmiştir. İstatistiki olarak M3-1 uygulaması diğer uygulamalardan farklı grup içerisinde bulunduğu ve en etkili uygulama olduğu saptanmıştır. M1-3, M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve M1-3+M3-1 aynı grup içerisinde bulunmakta ve aralarında farkın bulunmadığı gözlenmiştir. Üçlü karışım ise diğerlerinden farklı grup içerisinde bulunduğu ve daha az etkili bir uygulama olduğu belirlenmesine rağmen kontrolde farklı grupta yer alarak etkili oldukları saptanmıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.45).

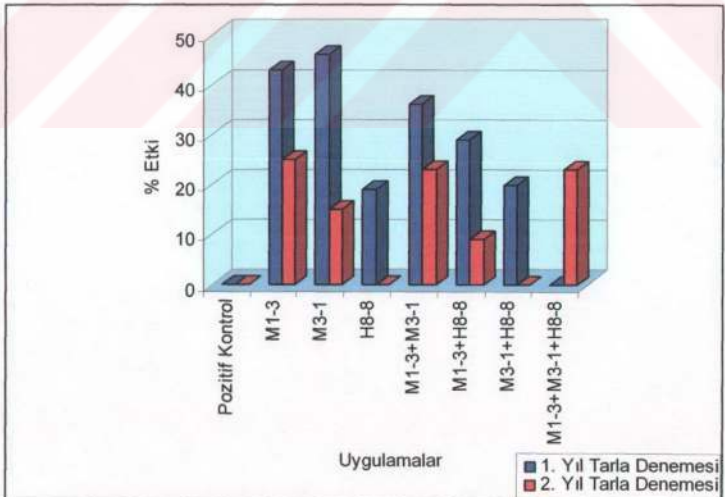
2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde PGPR uygulamaları meyve boyunu %4-6 oranında artırmışlardır. Bazı uygulamalarda (M3-1, H8-8 ve üçlü kombinasyon) negatif bir etki belirlenmiştir. İstatistiki olarak değerlendirildiğinde hiçbir uygulamanın kontrolden farklı ve etkili olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.45).



Şekil 4.45. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin meyve boyuna olan etkisi

2003 ve 2004 yılında kurulan iki yıllık tarla denemesinde kontrolle karşılaştırıldığında meyve sayısında M3-1 tekli uygulaması %46'lık bir artışa neden olduğu saptanmıştır. Tekli uygulamalardan M1-3 %43, H8-8 uygulaması ise %19 olarak belirlenmiştir. İkili uygulamalardan M1-3+M3-1'de %36, M1-3+H8-8'de %29, ve M3-1+H8-8'de ise %20'lik bir artışa neden olduğu görülmüştür. Üçlü karışımın ise meyve sayısını etkilemediği belirlenmiştir. İstatistiki olarak M3-1 ve M1-3 tekli uygulamaları aynı grup içerisinde bulunmakta ve diğer uygulamalardan farklı olduğu gözlenmiştir. M1-3+M3-1 ve M1-3+H8-8 ikili uygulamaları aynı grup içerisinde yer almakta ve diğer uygulamalar ile farklı oldukları belirlenmiştir. Geriye kalan diğer uygulamalar (H8-8, M3-1+H8-8 ve üçlü karışım) ile kontrol arasında herhangi bir fark bulunmamaktadır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.46).

2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde meyve sayısı %9-25 oranında artış saptanmıştır. İstatistiki olarak değerlendirildiğinde hiçbir uygulamanın kontrolden farklı olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.46).



Şekil 4.46. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada infekteli biber bitkilerinin meyve sayısına olan etkisi

Klima odası koşullarında 2002 yılının Mayıs-Haziran ayları arasında kurulan saksı denemesinde, kontrol olarak kökleri suya daldırılan yapraklı patojen inokulasyonu yapılan bitkilerle PGPR izolatlarının bitki büyümesine etkilerine bakıldığında saksı çalışmasında en etkili uygulamalar olarak; bitki boyunda %18 ile M3-1 ve M1-3, gövde çapında %74 ile M1-3+M3-1, bitki yaş ağırlığında %165 ile M3-1, bitki kuru ağırlığında %250 ile M3-1, kök uzunluğunda %21 ile M1-3+M3-1 ve kök kuru ağırlığında ise %33 ile M3-1+H8-8 uygulamalarından elde edilmiştir.

Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Araştırma ve Uygulama parselinde 2003 ve 2004 yılında kurulan iki yıllık tarla denemesinin ilk yılında en etkili uygulamalar olarak; bitki boyunda %5 ile M1-3, gövde çapında %18 ile M3-1, bitki yaş ağırlığında %36 ile M3-1, bitki kuru ağırlığında %38 ile H8-8, kök uzunluğunda %17 ile M3-1, kök kuru ağırlığında %28 ile M3-1, verimde %28 ile M3-1, meyve boyunda %37 ile M3-1 ve meyve sayısında ise %46 ile M3-1 uygulamalarından elde edilmiştir.

2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde ise en etkili uygulamalar olarak; bitki boyunda %13 ile M1-3+M3-1 ve M1-3+H8-8, gövde çapında %18 ile M3-1, bitki yaş ağırlığında %21 ile M1-3+M3-1, bitki kuru ağırlığında %26 ile H8-8, kök uzunluğunda %17 ile M3-1, kök kuru ağırlığında %26 ile M1-3+M3-1, verimde %28 ile M1-3+M3-1, meyve boyunda %6 ile M1-3 ve meyve sayısında ise %25 ile M1-3 uygulamalarından elde edilmiştir.

Doğal koşullar altında iki yıl tekrar edilen denemelerin sonuçları saksı çalışmalarına paralellik göstermiştir. M1-3 ve M3-1 PGPR izolatı biberde bitki büyümesini teşvik eden başarılı izolatlar olarak görülmektedir. Bitki büyümesine etkide fimit var görülen izolat ise M3-1 izolatıdır.

Benzer çalışmalarda da (Romeiro ve ark., 2005; Byrne, 2005) *Xav* ile infekteli bitkilerde uygulanan PGPR izolatlarının hastalığı %45 oranında azalttığı ve bitki büyümesini arttırdığı gözlenmiştir.

4.7.PGPR İzolatlarının Sağlıklı Biber Bitkilerinde Bitki Büyümesi Üzerine Etkisi

Viyol çalışması: Klima odasında 2002 Ocak-Mayıs ayları arasında yapılan viyol denemelerinde (Şekil 4.47) sağlıklı biber bitkilerinin yapraklarına uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, yaprak sayısına, yaprak alanına, bitki kuru ağırlığına ve kök kuru ağırlığına etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.2’de toplu olarak verilmiştir.



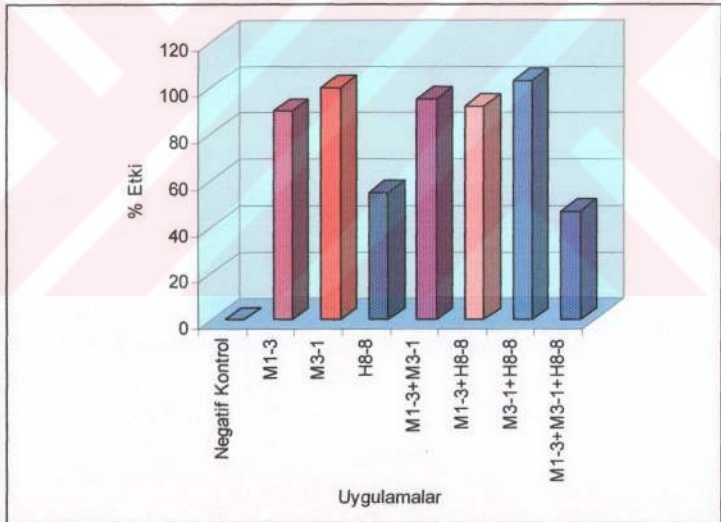
Şekil 4.47. Klima odasında 2002 Ocak-Mayıs ayları arasında yapılan viyol denemesinin görünüşü

Çizelge 4.15. Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde bulunan sağlıklı biber bitkilerinde bitki büyümesine etkisi

Uygulamalar	Bitki boyuna (cm)		Gövde Çapı (mm)		Yaprak Sayısı		Yaprak Alanı (cm ²)		Bitki kuru ağırlığı (g)		Kök Kuru ağırlığı (g)	
	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki
Negatif Kontrol	3.8 ^e	-	18 ^d	-	5.4 ^d	-	6.9 ^e	-	0.175 ^b	-	0.157 ^c	-
M1-3	7.2 ^a	90	28 ^a	56	7.9 ^a	46	11.7 ^b	69	0.299 ^a	71	0.246 ^a	56
M3-1	7.6 ^a	100	27 ^b	50	7.3 ^{bc}	34	11.8 ^b	72	0.299 ^a	71	0.229 ^a	46
H8-8	5.9 ^b	55	23 ^c	28	7.2 ^{bc}	33	9.6 ^{cd}	40	0.213 ^b	22	0.144 ^c	-9
M1-3+M3-1	7.4 ^a	95	28 ^a	56	8.7 ^a	61	14.4 ^a	110	0.327 ^a	87	0.232 ^a	47
M1-3+H8-8	7.3 ^a	92	29 ^a	61	7.5 ^{bc}	39	13.5 ^a	96	0.330 ^a	88	0.211 ^{bc}	34
M3-1+H8-8	7.7 ^a	103	27 ^b	50	8.1 ^a	50	8.4 ^{de}	22	0.280 ^a	60	0.198 ^{bc}	26
M1-3+M3-1+H8-8	5.6 ^b	47	24 ^c	33	6.9 ^c	27	7.5 ^{de}	9	0.201 ^b	15	0.163 ^{bc}	3

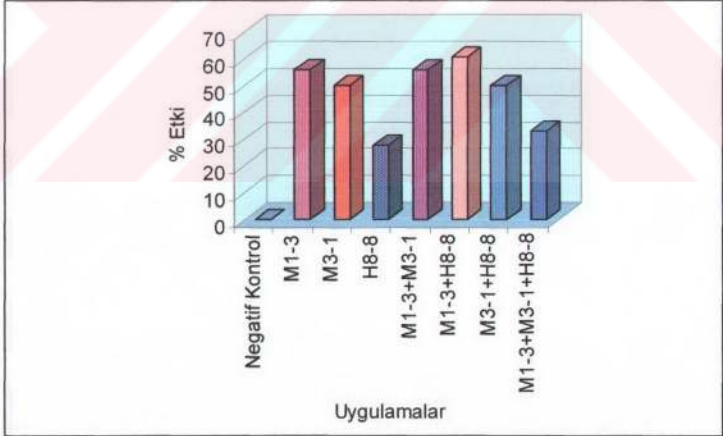
^{a, b, c, d} harfleri ANOVA Duncan $p \leq 0.05$ 'de aralarındaki farkları göstermektedir.

Klima odası koşullarında 2002 yılının Ocak-Mayıs ayları arasında yapılan viyol denemesinde, sağlıklı biber bitkilerinin yapraklarından PGPR uygulaması yapılarak uygulamanın bitki boyuna etkisi değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.15 ve Şekil 4.48'de verilmiştir. PGPR uygulamalarının %47-103 oranında bitki boylarında bir artışa neden oldukları saptanmıştır. İstatistiki olarak tüm uygulamalar kontrolden farklı ve etkili olarak değerlendirilmiştir M1-3, M3-1, M1-3+M3-1, M1-3+H8-8, M3-1+H8-8 ve üçlü kombinasyon uygulamaları aynı grup içerisinde yer alan etkili uygulamalardır. H8-8 ve üçlü kombinasyon diğer uygulamalardan farklı bir grup içerisinde yer aldığı ve diğer uygulamalara göre daha az etkili oldukları belirlenmiştir.



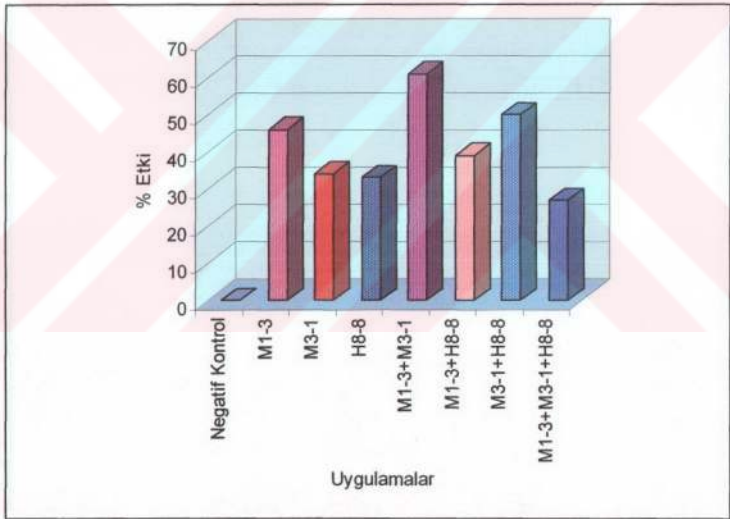
Şekil 4. 48. Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde bitki boyuna olan etkisi

Viyol çalışmasında PGPR uygulaması yapılan bitkilerin gövde çapları %33-61 oranında artmıştır. M1-3+H8-8 ile yapılan uygulama gövde çapı %61'lik bir artış sağlayarak en iyi uygulama olarak belirlenmiştir. Bu uygulamayı %56 etki ile M1-3 ve M1-3+M3-1 uygulamaları takip etmiştir. Tekli uygulamalardan M3-1 uygulaması %50 ve H8-8 uygulaması ise %28 oranında gövde çapını artırdığı saptanmıştır. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8 uygulaması %50 oranında bir artışa neden olurken üçlü karışım ise gövde çapını %33 oranında artırdığı belirlenmiştir. İstatistiki olarak da incelendiğinde M1-3+H8-8, M1-3 ve M1-3+M3-1 uygulamaları aynı grupta yer almakta ve aralarında bir farkın bulunmadığı gözlenmiştir. M3-1 ve M3-1+H8-8 uygulamaları ayrı bir grup içerisinde bulunmakla birlikte diğer uygulamalar ile arasında istatistiki olarak fark olduğu saptanmıştır. H8-8 ve üçlü kombinasyon farklı bir grup içerisinde yer almakta ve diğer uygulamalara göre daha az etkili oldukları belirlenmiştir. Tüm uygulamalar istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmuştur (Çizelge 4.15, Şekil 4.49).



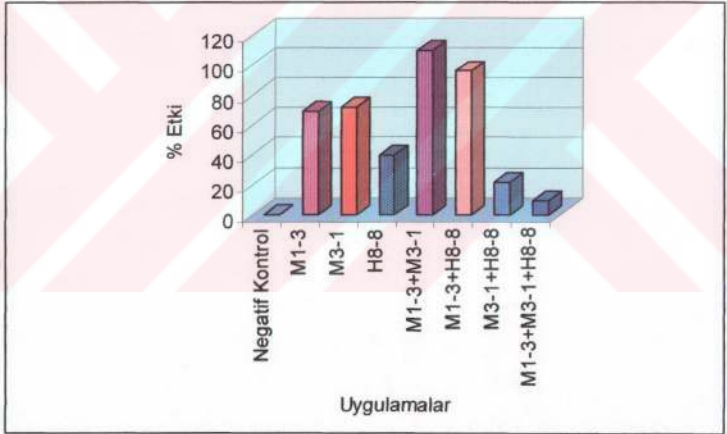
Şekil 4.49. Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde gövde çapına olan etkisi

Vişol çalışmasında yaprak sayısını artıran en iyi uygulamanın %61 oranıyla M1-3+M3-1 uygulamasının olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı %50 etki ile M3-1+H8-8 uygulaması takip etmiştir. Tekli uygulamaları (M1-3, M3-1 ve H8-8) %46, %34 ve %33 oranlarında bir artışa neden olmuştur. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8'de %50, M1-3+H8-8'de %39 ve üçlü kombinasyonda ise %27 oranında bir artış gözlenmiştir. İstatistikî olarak da incelendiğinde M1-3+M3-1, M3-1+H8-8 ve M1-3 uygulamaları aynı grup içerisinde bulunmakta ve en etkili uygulamalar olarak saptanmıştır. Geriye kalan diğer uygulamalar ise farklı grup içerisinde bulunduğu ve aralarında bir farkın bulunmadığı tespit edilmiştir. Tüm uygulamalar istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmuştur (Çizelge 4.15, Şekil 4.50).



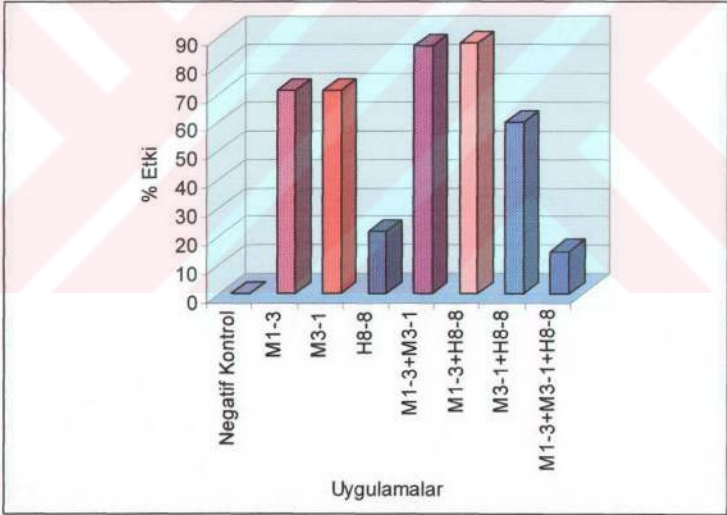
Şekil 4.50. Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının vişolde yaprak sayısına olan etkisi

Viyol çalışmasında yaprak alanındaki artışta en etkili uygulamanın %110'luk artışla M1-3+M3-1 uygulamasında olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı %96 etki ile M1-3+H8-8 uygulaması takip etmiştir. Tekli uygulamalar (M3-1, M1-3 ve H8-8) %72, 69 ve 40 oranlarında bir artışa neden olmuştur. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8'de %22'lik bir artış gözlenmiştir. İstatistikî olarak da incelendiğinde M1-3+M3-1 ve M1-3+H8-8 ikili uygulamaları aynı grup içerisinde bulunan en etkili uygulamalar olarak saptanmıştır. M1-3 ve M3-1 tekli uygulamalar farklı bir grup içerisinde bulunmakta ve diğer uygulamalar ile aralarındaki farkın istatistikî olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Geriye kalan uygulamalar H8-8, M3-1+H8-8 ve üçlü kombinasyon kontrol ile aynı grup içerisinde yer alan etkisiz uygulamalar olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.15, Şekil 4.51).



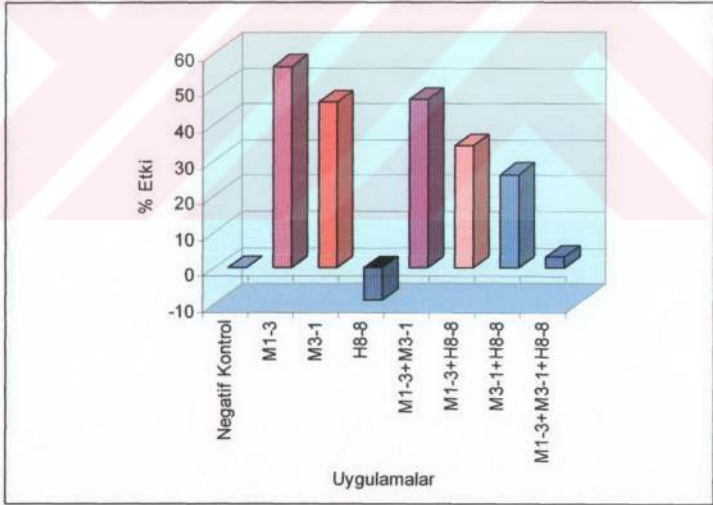
Şekil 4.51. Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde yaprak alanına olan etkisi

Viyol çalışmasında kontrolle karşılaştırıldığında PGPR uygulamaları bitki kuru ağırlığında %15-88 oranlarında artış meydana getirdikleri saptanmıştır. M1-3+H8-8 ikili uygulaması bitki kuru ağırlığında %88'lik bir artışla en etkili uygulama olarak saptanmıştır. İstatistikî olarak da incelendiğinde H8-8 ve üçlü kombinasyon uygulamaları kontrol ile aynı grupta yer alan uygulamalar oldukları saptanmıştır. M1-3, M3-1, M1-3+M3-1 ve M3-1+H8-8 uygulamaları ise %60-87 oranında artışa neden olmuş ve en etkili uygulama olan M1-3+H8-8 ile istatistiki olarak aynı grupta yer alan diğer etkili uygulamalar olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.15, Şekil 4.52).



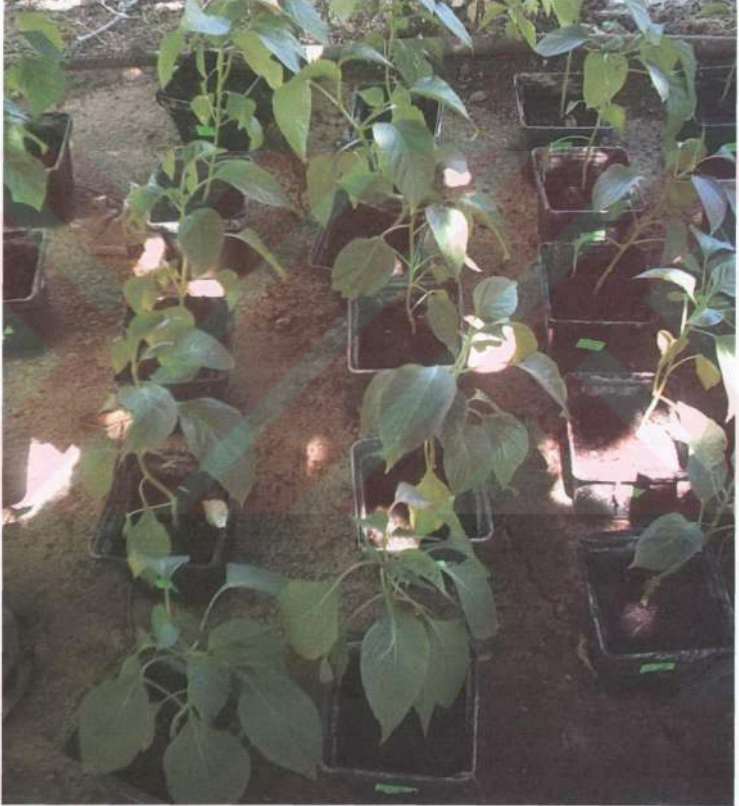
Şekil 4.52. Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatların viyolde bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Viyol çalışmasında kontrole göre kök kuru ağırlığını en fazla arttıran uygulamanın %56 oranıyla M1-3 uygulamasının olduğu belirlenmiştir. M3-1 tekli uygulaması %46 oranında kök kuru ağırlığını artırırken İkili uygulamalar (M1-3+M3-1, M1-3+H8-8 ve M3-1+H8-8) ise %47, 34 ve 26 oranlarında kök kuru ağırlığı artırdığı saptanmıştır. Üçlü karışım ise bitki kuru ağırlığını %3 oranında arttırmıştır. H8-8 tekli uygulaması %9 oranında azaltmıştır. İstatistikî olarak da incelendiğinde M1-3, M3-1 ve M1-3+M3-1 uygulamaları aynı grup içerisinde bulunan ve en etkili uygulamalar oldukları saptanmıştır. Geriye kalan bütün uygulamaların ve kontrol ile aynı grup içerisinde yer aldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.15, Şekil 4.53).



Şekil 4.53. Püskürtme şeklinde biber fidelerine uygulanan PGPR izolatlarının viyolde kök kuru ağırlığına olan etkisi

Saksı Çalışması: Klima odasında 2002 Mayıs-Ağustos ayları arasında yapılan saksı denemelerinde sağlıklı biber bitkilerine kök uygulaması olarak verilen PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, bitki yaş ağırlığına, bitki kuru ağırlığına, kök uzunluğuna ve kök kuru ağırlığına etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.16’da toplu olarak verilmiştir.



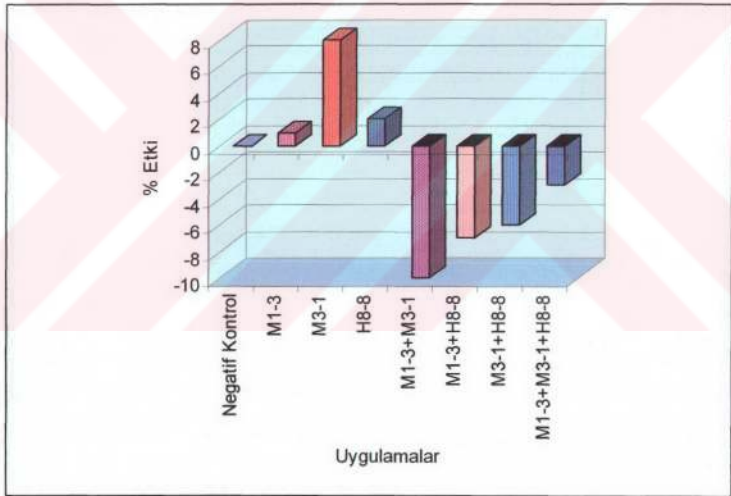
Şekil 4.54. Klima odasında 2002 Mayıs Ağustos ayları arasında yapılan viyol denemesinin görünüşü

Çizelge 4.16. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin meyve sayısına etkisi

Uygulamalar	Bitki Boyu		Gövde Çapı (mm)		Bitki Yaş Ağırlığı (g)		Bitki Kuru Ağırlığı (g)		Kök Uzunluğu (mm)		Kök Kuru Ağırlığı (gr)	
	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki	Ort	% Etki
Negatif Kontrol	14.4 ^a	-	2.3 ^e	-	2.6 ^e	-	1.4 ^{bc}	-	76.7 ^b	-	1.8 ^a	-
M1-3	14.5 ^a	1	4.0 ^a	74	3.1 ^b	19	1.6 ^a	14	115 ^a	50	1.5 ^{bcd}	-17
M3-1	15.5 ^a	8	3.8 ^a	65	2.9 ^b	12	1.5 ^a	7	121.7 ^a	59	1.3 ^f	-28
H8-8	14.7 ^a	2	2.7 ^d	17	2.9 ^b	12	1.3 ^c	-1	85 ^b	11	1.4 ^{ef}	-22
M1-3+M3-1	12.9 ^a	-10	3.3 ^{bc}	43	2.9 ^b	12	1.4 ^{bc}	0	126.7 ^a	65	1.5 ^{cde}	-17
M1-3+H8-8	13.3 ^a	-7	3.5 ^{bc}	52	3.4 ^a	31	1.5 ^a	7	110 ^a	43	1.7 ^{ab}	-6
M3-1+H8-8	13.5 ^a	-6	3.2 ^{cd}	39	3.1 ^b	19	1.4 ^{bc}	0	76.7 ^b	0	1.4 ^{def}	-22
M1-3+M3-1+H8-8	14.0 ^a	-3	3.0 ^{cd}	30	3.0 ^b	15	1.4 ^{bc}	0	113.3 ^a	48	1.6 ^{abc}	-11

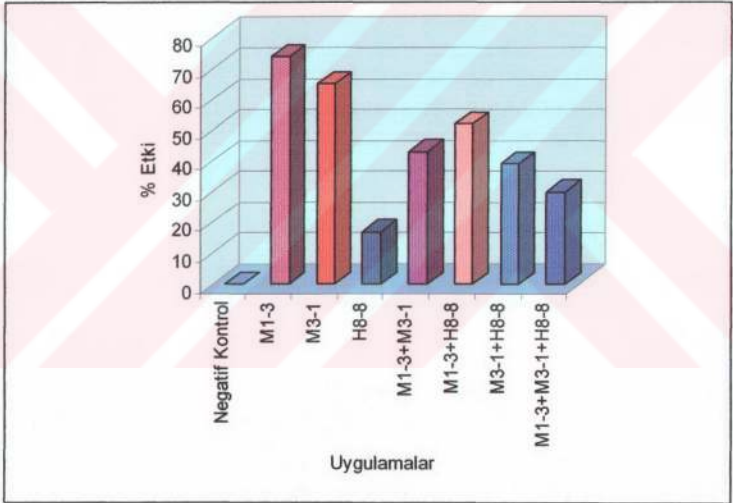
a, b, c, d harfleri ANOVA Duncan $p \leq 0.05$ 'de aralarındaki farkları göstermektedir.

Klima odası koşullarında 2002 yılının Mayıs-Haziran ayları arasında yapılan saksı denemesinde, kökten PGPR uygulaması yapılan bitkilerin bitki boyuna etkisi değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.16, Şekil 4.54’de verilmiştir. Bitki boyları M3-1 tekli uygulaması bitki boyuna %8 artışa neden olarak en etkili uygulama olmuştur. Tekli uygulamalar (H8-8 ve M1-3) %2 ve %1 oranlarında bitki boyunu arttırırken geriye kalan uygulamalar %3-10 oranlarda bitki boyunu azalttıkları tespit edilmiştir. Farklı oranlarda bitki boyunu etkilemelerine karşı PGPR uygulamalarının tümü istatistiki olarak kontrolle aynı grupta yer almış ve etkisiz oldukları belirlenmiştir.



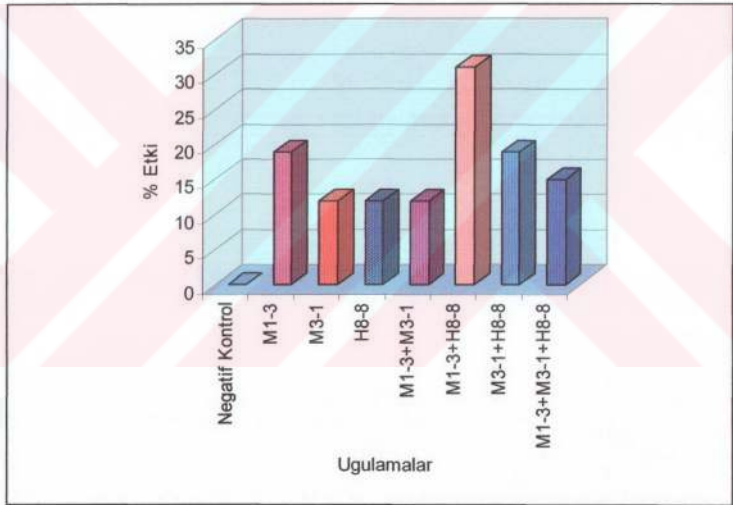
Şekil 4.54. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin bitki boyuna olan etkisi

Saksı çalışmasında gövde çapını en fazla artıran izolatın %74 artışla M1-3 uygulamasında olduğu belirlenmiş ve bu uygulamayı %65'lik bir artışla M3-1 uygulaması takip etmiştir. İkili uygulamalardan (M1-3+H8-8, M1-3+M3-1 ve M3-1+H8-8) %52, %43 ve %39 oranlarında artış gözlenmiştir. Üçlü kombinasyon ise %30 oranında gövde çapını arttırmıştır. İstatistiki olarak da incelendiğinde M1-3 ve M3-1 tekli uygulamaları aynı grup içerisinde yer almakta ve en etkili uygulamalar olarak ortaya çıkmaktadır. Tüm uygulamalar kontrole göre istatistiki olarak farklı ve etkili bulunmuştur (Çizelge 4.16, Şekil 4.55).



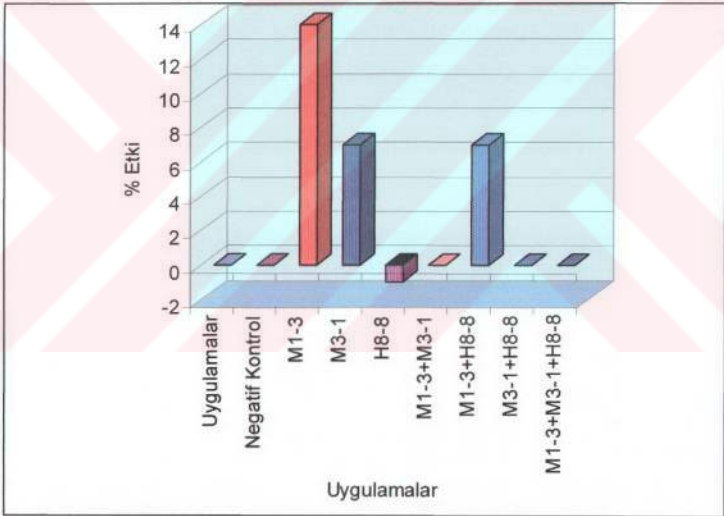
Şekil 4.55. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi

Saksı çalışmasında kontrolle karşılaştırıldığında M1-3+H8-8 uygulaması bitki yaş ağırlığında %31'lik bir artışa neden olmuştur. Diğer uygulamalar %12-19 oranında bitki yaş ağırlığını arttırdıkları saptanmıştır. İstatistiki olarak da incelendiğinde M1-3+H8-8 ikili uygulaması diğer uygulamalardan farklı grupta yer alarak en etkili uygulama olarak belirlenmiştir. Geriye kalan tüm uygulamalar aynı grupta yer almakta ve aralarında bir farkın bulunmadığı saptanmıştır. PGPR uygulamalar, kontrolle farklı grupta yer almalarından dolayı hepsi etkili olarak belirlenmiştir. (Çizelge 4.16, Şekil 4.56).



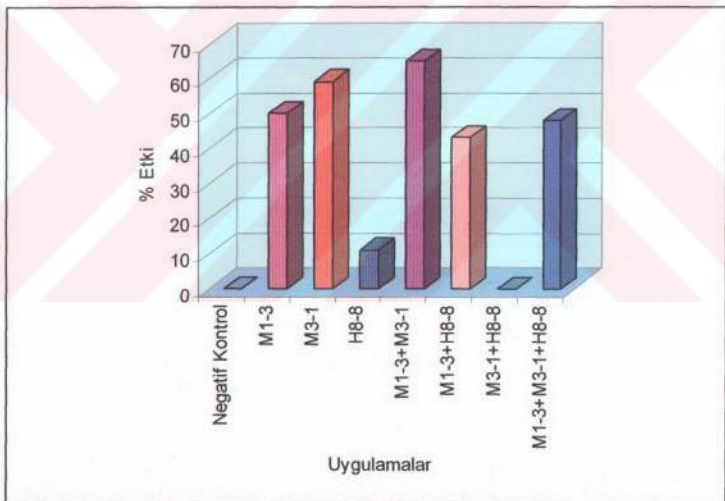
Şekil 4.56. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin bitki yaş ağırlığına olan etkisi

Saksı çalışmasında kontrolle karşılaştırıldığında M1-3 uygulaması bitki kuru ağırlığını %14'lük bir artışa neden olmuştur. Bu uygulamayı %7'lik artışla M3-1 ve M1-3+H8-8 uygulamaları takip etmiştir. M1-3+M3-1, M3-1+H8-8 ve üçlü kombinasyon uygulamaları bitki kuru ağırlığını kontrole göre etkilemezken H8-8 tekli uygulaması %1 oranında azaltmıştır. İstatistiki olarak da M1-3, M3-1 ve M1-3+H8 uygulamaları aynı grup içerisinde bulununan etkili uygulamalar olarak ortaya çıkmıştır. Geriye kalan uygulamalar kontrol ile aynı grup içerisinde bulunmakta ve bitki kuru ağırlığına etkili olmadıkları saptanmıştır (Çizelge 4.16 Şekil 4.57).



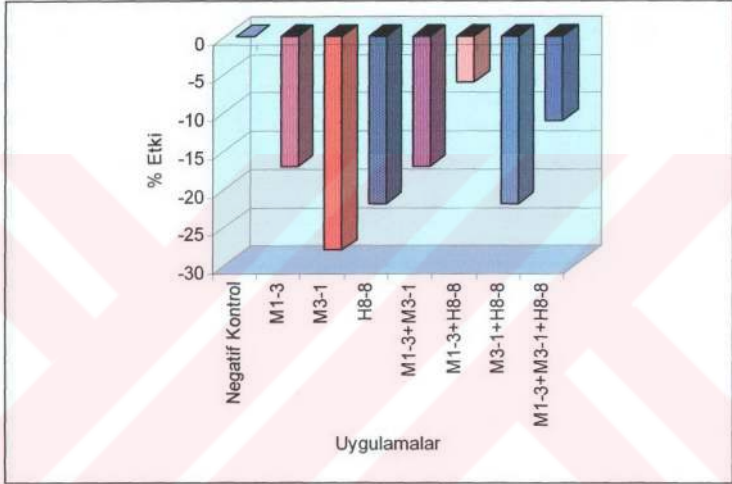
Şekil 4.57. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin bitki kuru ağırlığına olan etkisi

Saksı çalışmasında kök uzunluğunu en iyi uygulamanın %65 oranıyla M1-3+M3-1 uygulamasının olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı %59 etki ile M3-1 uygulaması takip etmiştir. Tekli uygulamaları (M1-3ve H8-8) %50 ve 11 oranlarında bir artışa neden olmuştur. İkili uygulamalardan M1-3+H8-8 uygulaması kök uzunluğunu %43 arttırırken M3-1+H8-8 uygulamasında herhangi bir değışiklik görölmemiştir. İstatistikî olarak da incelendiğinde H8-8 ve M3-1+H8-8 uygulamaları kontrol ile aynı grup içerisinde bulunmakta ve kök uzunluğuna etkili olmadıkları saptanmıştır. Geriye kalan uygulamalar aynı grup içerisinde bulunmakta ve aralarında fark bulunmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.16, Şekil 4.58).



Şekil 4.58. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin kök uzunluğuna olan etkisi

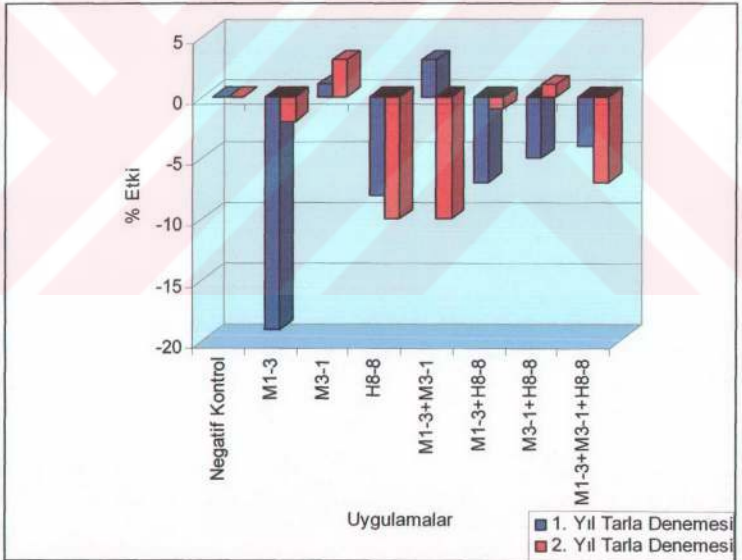
Saksı alışmasında PGPR izolatları ile yapılan uygulamaların tamamında kök kuru ağırlığında %6-28 oranında bir azalma meydana gelmiştir. Yapılan PGPR uygulamaları kök kuru ağırlığında olumsuz bir etkiye neden olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.16, Şekil 4.59).



Şekil 4.59. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının saksıda sağlıklı biber bitkilerinin kök kuru ağırlığına olan etkisi

Tarla Çalışması: İki yıl yapılan tarla denemelerinde sağlıklı biber bitkilerinin köklerine daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının bitki boyuna, gövde çapına, bitki yaş ağırlığına, bitki kuru ağırlığına, kök uzunluğuna, kök kuru ağırlığına, verime, meyve boyu ve meyve sayısına etkisi araştırılmış ve elde edilen veriler Çizelge 4.17’de toplu olarak verilmiştir.

PGPR uygulamaları her iki yılda da bitki boyunda istatistiki düzeyde önemli düzeyde bir artışa neden olmamıştır. Benzer durum sakı çalışmasında da elde edilmiştir. Uygulamaların çoğunluğu her iki yılda tarlada her iki yılda tarlada bitki boyunda azalmaya bile neden olmuştur (Çizelge 4.17, Şekil 4.60).

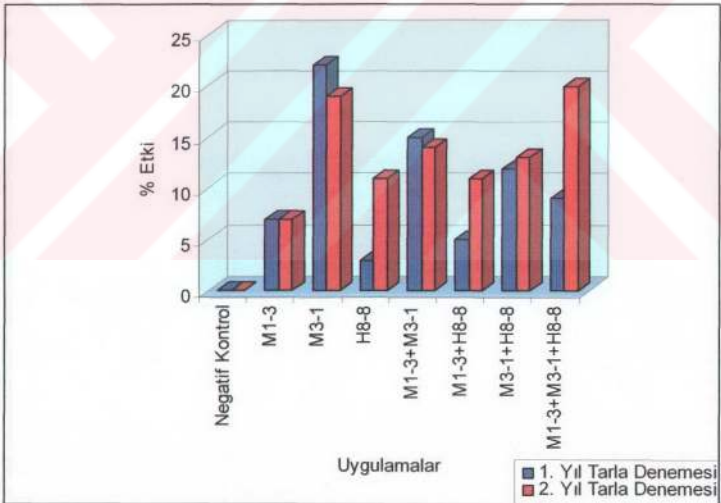


Şekil 4.60. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin boyuna olan etkisi

Çizelge 4.17.Tarlada bulunan sağlıklı biber bitkilerine kök uygulaması olarak verilen PGPR izolatlarının bitki büyümesine etkisi

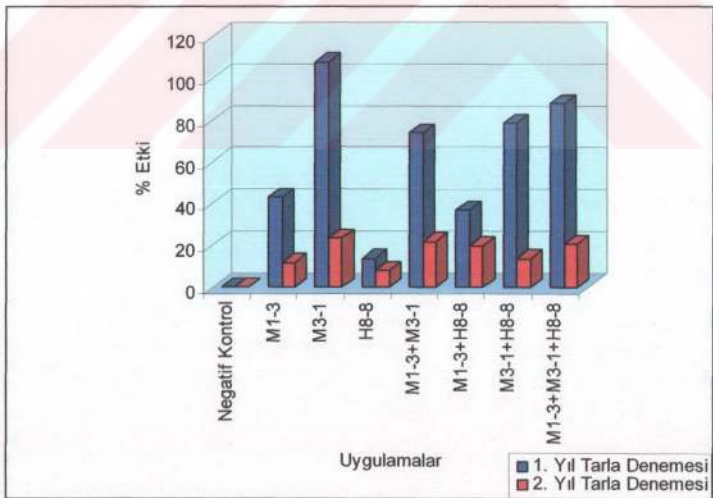
			Negatif Kontrol	M1-3	M3-1	H8-8	M1-3+M3-1	M1-3+H8-8	M3-1+H8-8	M1-3+M3-1+H8-8
Bitki boyu (cm)	2003	Ort.	29.67 ^a	24.16 ^b	30 ^a	27.33 ^{ab}	30.67 ^a	27.67 ^{ab}	28.27 ^a	28.5 ^a
		%Etki	-	-19	1	-8	3	-7	-5	-4
	2004	Ort.	30.33 ^a	29.67 ^a	31.33 ^a	27.33 ^b	27.17 ^b	30.17 ^a	30.5 ^a	28.33 ^b
		%Etki	-	-2	3	-10	-10	-1	1	-7
Gövde Çapı (mm)	2003	Ort.	10 ^d	10.7 ^{cd}	12.8 ^a	10.3 ^{cd}	11.8 ^b	10.5 ^{cd}	11.3 ^b	11 ^{bc}
		%Etki	-	7	22	3	15	5	12	9
	2004	Ort.	11.8 ^d	12.7 ^d	14.5 ^c	13.3 ^{bc}	13.7 ^{bc}	13.2 ^{bc}	13.5 ^{bc}	14.7 ^a
		%Etki	-	7	19	11	14	11	13	20
Bitki yaş ağırlığı(g)	2003	Ort.	569.8 ^b	812.4 ^c	1188.3 ^a	650.5 ^{bc}	993.6 ^a	778.3 ^b	1018 ^a	1068.3 ^a
		%Etki	-	43	108	14	74	37	79	88
	2004	Ort.	958.7 ^a	1095 ^a	1259.2 ^a	1047.6 ^a	1226.1 ^a	1204.1 ^a	1113 ^a	1215 ^a
		%Etki	-	12	24	8	22	20	14	21
Bitki kuru ağırlığı (g)	2003	Ort.	235.4 ^b	255.9 ^a	359.2 ^a	178 ^b	358.1 ^a	316.1 ^a	258.8 ^a	326.4 ^a
		%Etki	-	8	53	-24	52	34	10	39
	2004	Ort.	362.4 ^a	481.6 ^a	488.7 ^a	389.4 ^a	498.8 ^a	453.3 ^a	457.5 ^a	540.8 ^a
		%Etki	-	25	26	-7	27	20	21	33
Kök Uzunluğu (mm)	2003	Ort.	88.6 ^c	97.2 ^b	109 ^a	99.8 ^b	103.3 ^a	100.8 ^b	100.5 ^b	102.8 ^a
		%Etki	-	9	19	11	14	12	12	14
	2004	Ort.	157.3 ^b	166 ^b	184.3 ^a	170 ^b	176.2 ^a	177.3 ^a	179 ^a	178.8 ^a
		%Etki	-	5	15	7	11	11	12	12
Kök Kuru Ağırlığı (g)	2003	Ort.	59.2 ^{ab}	62.3 ^{ab}	87.9 ^a	56.3 ^b	64.4 ^{ab}	63.3 ^{ab}	62.7 ^{ab}	63.6 ^{ab}
		%Etki	-	5	33	-5	8	7	6	7
	2004	Ort.	71.6 ^a	78.4 ^a	83.7 ^a	83.7 ^a	88.5 ^a	85.6 ^a	90.2 ^a	86.2 ^a
		%Etki	-	9	14	14	19	16	21	17
Verim (g)	2003	Ort.	1142.6 ^c	1324.3 ^{bc}	1556.3 ^a	1286.2 ^{bc}	1687.7 ^a	1332.1 ^{bc}	1533.8 ^a	1267.1 ^{bc}
		%Etki	-	16	36	13	48	17	34	11
	2004	Ort.	2607.3 ^a	2757.3 ^a	3234.7 ^a	2912.2 ^a	3087.4 ^a	2736.7 ^a	2913.3 ^a	3031.9 ^a
		%Etki	-	6	24	12	18	5	12	16
Meyve boyu (cm)	2003	Ort.	13 ^{bc}	15.2 ^a	13.2 ^{bc}	10.8 ^d	15.2 ^a	14.7 ^a	12 ^{cd}	15.1 ^a
		%Etki	-	17	2	-17	17	13	-8	16
	2004	Ort.	9.5 ^a	9.7 ^a	10.6 ^a	9.7 ^a	10 ^a	10.6 ^a	10.8 ^a	9.6 ^a
		%Etki	-	2	12	2	5	12	14	1
Meyve sayısı		Ort.	48.2 ^c	51.8 ^{bc}	60.7 ^a	50 ^c	59 ^a	53.3 ^{bc}	51.5 ^{bc}	54.8 ^{bc}
		%Etki	-	8	26 ^a	4	22	11	7	14
		Ort.	36.7 ^c	46.7 ^b	48.3 ^a	45 ^b	51.2 ^a	38.3 ^c	48.3 ^a	46.3 ^b
		%Etki	-	27	32	23	40	4	32	26

Köklerine daldırma şeklinde yapılan PGPR uygulamaları tarla koşullarında gövde çapında 2003 yılında %3-22, 2004 yılında %7-20 oranında artışa neden olmuştur. 2003 yılında M3-1 uygulaması %22'lik artışla en etkili uygulama olmuştur. M1-3+M3-1 (%15), M3-1+H8-8 (%12) ve üçlü kombinasyon (%9) istatistiki olarak ayrı bir grupta yer almış ve diğer etkili uygulamalar olarak belirlenmiştir. Geriye kalan uygulamalar kontrol ile aynı grupta yer aldığından etkisiz olarak değerlendirilmiştir. 2004 yılında ise yine M3-1(%19) ve üçlü kombinasyon (%20) en etkili uygulamalar olmuştur. Diğer uygulamalar istatistiki olarak farklı bir grupta yer almış ve kontrolden farklı bulunmuşlardır. M1-3 uygulaması kontrol ile aynı grupta yer alan etkisiz bir uygulama olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.17, Şekil 4.61).



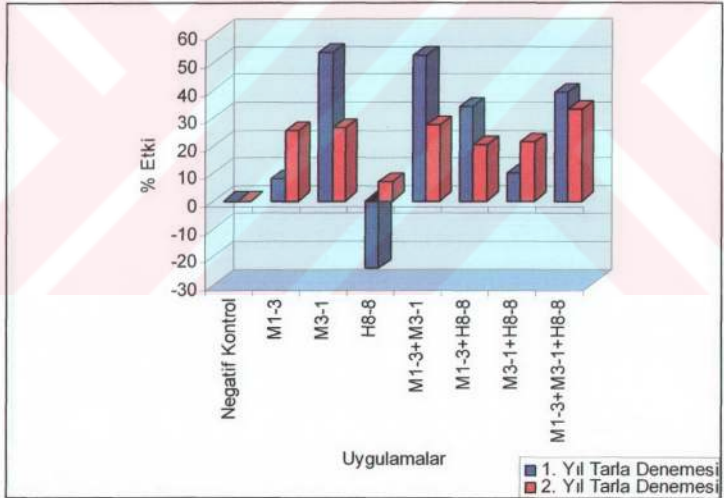
Şekil 4.61. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin gövde çapına olan etkisi

Köklerden PGPR uygulaması tarla koşullarında ilk yıl bitki yaş ağırlığında %14-108, ikinci yıl %8-24 oranında artışa neden olmuştur. Bitki yaş ağırlığını artırmada en başarılı uygulama M3-1 izolatta olmuştur. Üç izolatin karışımı, M3-1+H8-8 ve M1-3+M3-1 izolatları da sırasıyla %88,c %79 ve %74'lük artışla istatistiki olarak M3-1 izolatıyla aynı grup içinde yer almış ve başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmişlerdir. 2003 yılında yapılan uygulamalar içinde H8-8 uygulaması hariç tümü istatistiki olarak bitkinin yaş ağırlığını artırmada başarılı olmuştur. %14'lük artışa neden olan H8-8 uygulaması kontrolle aynı grup içinde yer alarak etkisiz kalmıştır. Saksı çalışmasında da bitki yaş ağırlığını en fazla artıran izolat yine M3-1 izolatu olmuştur. Bu sonuç ilk yıl tarla denemiyle de desteklenmiştir. 2004 yılında ise bitki yaş ağırlığındaki artış istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmamıştır. 2004 yılında M3-1 izolatu istatistiki olarak kontrolden farklı olmasa da en etkili izolat olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.17, Şekil 4.62).



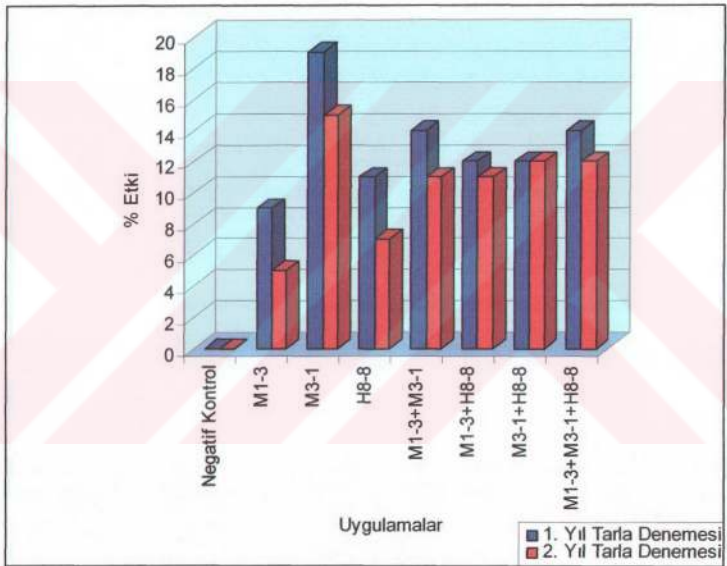
Şekil 4.62. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin yaş ağırlığına olan etkisi

Tarla koşullarında 2003 yılında H8-8 uygulaması (%24 azaltmıştır) hariç tüm uygulamalar bitki kuru ağırlığında artışa neden olmuşlardır. İstatistiki olarak da incelendiğinde H8-8 uygulaması ve kontrol aynı grupta yer alırken diğer uygulamalar kontrolden farklı başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. Bitki kuru ağırlığını artıran en başarılı uygulama ise hem saksı hem de ilk yıl tarla denemesinde M3-1 izolatu olmuştur. 2004 yılı ikinci yıl tarla denemesinde ise bu izolat %26'lık bir artışa neden olmuştur. 2004 yılında en etkili uygulama üç PGPR izolatının karışımında (%33) elde edilmiştir (Çizelge 4.17, Şekil 4.63). Ancak 2004 yılında hiçbir uygulama istatistiki olarak kontrolden farklı bulunmamıştır



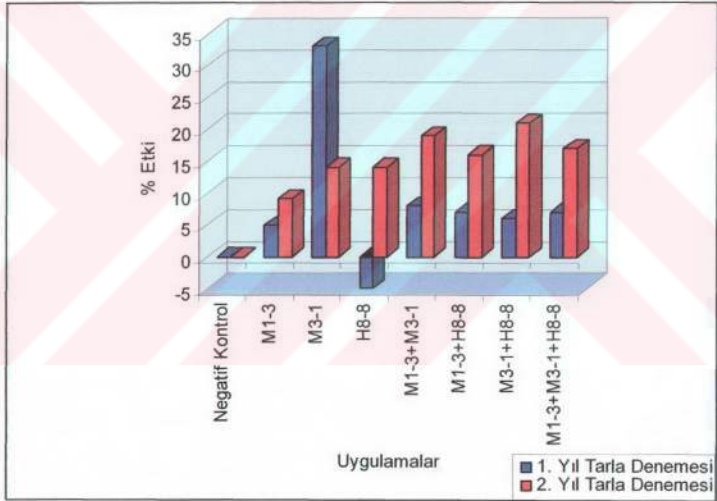
Şekil 4.63. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin kuru ağırlığına olan etkisi

Tarla koşullarında 2003 yılında M3-1 (%19), M1-3+M3-1 (%14) ve üçlü kombinasyon (%14) kontrolden farklı olan başarılı uygulamalar olarak belirlenmiştir. M1-3 (%9), H8-8 (%11), M1-3+H8-8 (%12) ve M3-1+H8-8 (%12) uygulamaları istatistiki olarak aynı grupta yer alan, kontrolden farklı olan diğer etkili uygulamalar olarak saptanmıştır. 2004 yılında ise hiçbir uygulama kontrolden farklı bulunmamıştır (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.64)



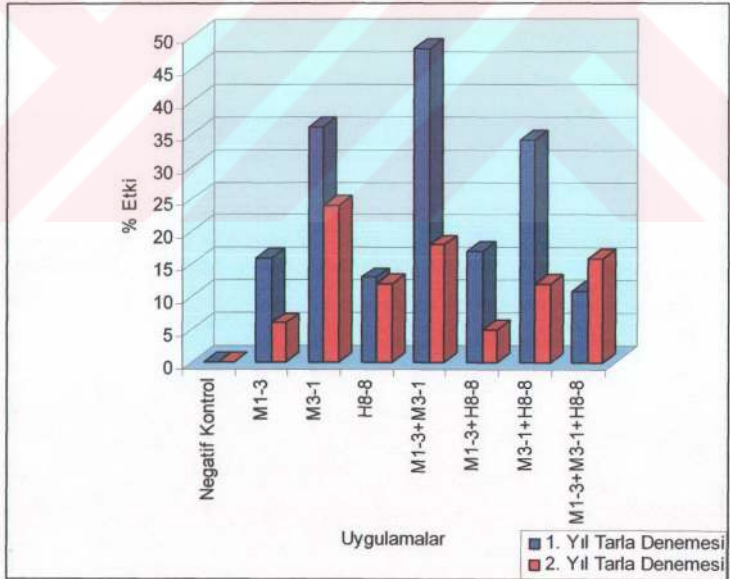
Şekil 4.64. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin kök uzunluğuna olan etkisi

İki yıllık tarla çalışmalarına göre PGPR uygulanmış sağlıklı bitkilerde kontrole göre kök kuru ağırlığında 2003 yılında H8-8 uygulamasında %5 azalırken diğer uygulamalarda %5-33 oranında artışa neden olmuştur. % 33 oranında artış gösteren M3-1 uygulaması istatistiki olarak da diğerlerinden farklı olduğu saptanmıştır. Diğer uygulamaların tümü aynı grup içerisinde yer almakta ve kontrolle aralarında bir farkın bulunmadığı görülmüştür. 2004 yılında kök kuru ağırlığında %9-21 arasında artış saptanmıştır fakat istatistiki olarak uygulamalar ile kontrol arasında bir fark bulunmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.17, Şekili4.65).



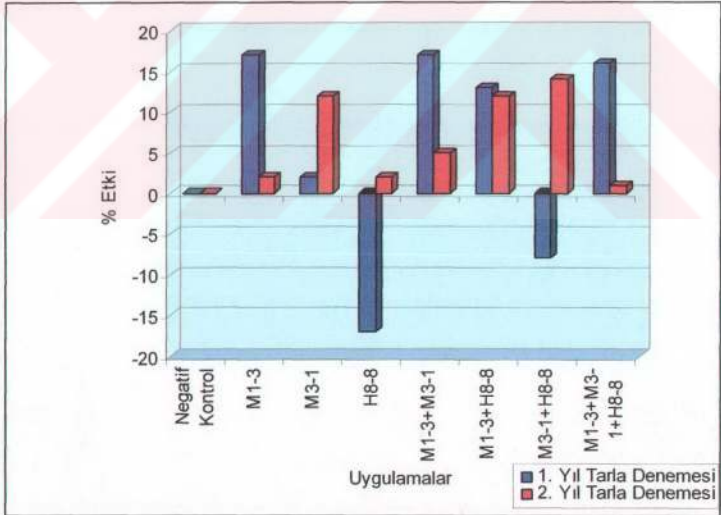
Şekil 4.65. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin olan ağırlığına etkisi

2003 ve 2004 yılında kurulan iki yıllık tarla denemesinde ilk yıl en etkili uygulama verimi %48 oranında artıran M1-3+M3-1 olduğu saptanmıştır. Tekli uygulamalardan M3-1 %36, M1-3 %16 ve H8-8 uygulaması ise %13 oranında verimi artırmıştır. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8'de %34 ve M1-3+H8-8'de ise %17'lik bir verim artışı meydana gelmiştir. Üçlü karışım ise %11 oranında verimi artırdığı belirlenmiştir. İstatistiki olarak M3-1, M1-3+M3-1 ve M3-1+H8-8 uygulamalar aynı grup içerisinde bulunduğu ve aralarında farkın bulunmadığı saptanmıştır. Diğer uygulamalar farklı bir grup içerisinde yer almakta ve aralarında fark bulunmamaktadır (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.66). 2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde kontrole göre meyve verimi PGPR uygulamalarıyla %1-28 arasında artmıştır. M3-1 uygulaması verimi %24 oranında artırarak en etkili uygulama olarak ortaya çıkmıştır. Ancak istatistiki olarak uygulamalar kontrol ile aynı grup içerisinde yer alarak verime etkilerinin olmadığı belirlenmiştir.



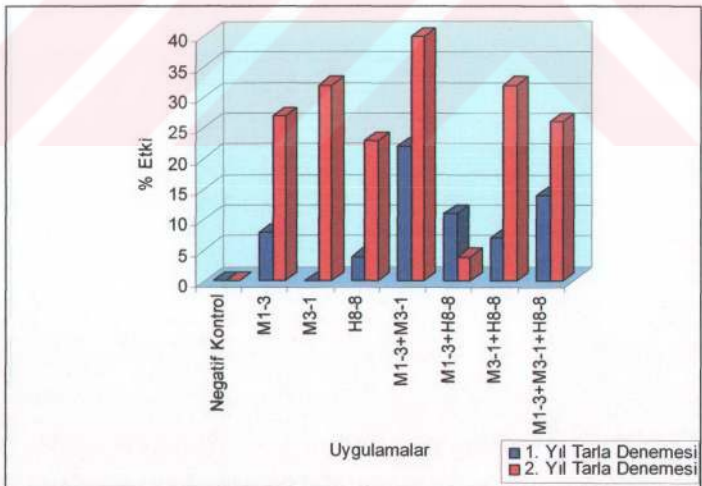
Şekil 4.66. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin verime olan etkisi

2003 yılında meyve boyunda en fazla artışı M1-3 tekli uygulaması ve M1-3+M3-1 ikili uygulamasının %17'lik neden olduğu saptanmıştır. Tekli uygulamalardan M3-1 %2'lik bir artışa neden olurken H8-8 uygulaması ise %17'lik azalmaya neden olmuştur. İkili uygulamalardan M3-1+H8-8'de %13 oranında artırırken ve M3-1+H8-8'de ise %16'lık bir azalma saptanmıştır. Üçlü karışım ise %16 oranında meyve boyunu arttırdığı belirlenmiştir. İstatistiki olarak M1-3, M1-3+M3-1, M1-3+H8-8 ve üçlü uygulama aynı grupta bulunmakta ve diğer uygulamalardan farklı oldukları saptanmıştır. 2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde PGPR uygulamaları meyve boyunu %1-14 oranında artırmışlardır. İstatistiki olarak değerlendirildiğinde hiçbir uygulamanın kontrolden farklı ve etkili olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.17, Şekil 4.67).



Şekil 4.67. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin meyve boyuna olan etkisi

2003 ve 2004 yılında kurulan iki yıllık tarla denemesinde kontrolle karşılaştırıldığında meyve sayısında 2003 yılında M3-1 tekli uygulaması ise %26'lık bir artış saptanmıştır. Tekli uygulamaların etkisi de M1-3 %8, H8-8 uygulaması ise %4 olarak belirlenmiştir. İkili uygulamalardan M1-3+M3-1'de %22, M1-3+H8-8'de %11, ve M3-1+H8-8'de ise %7'lık bir artışa neden olduğu görülmüştür. Üçlü karışımın ise meyve sayısını %14 oranında artırdığı belirlenmiştir. İstatistiki olarak M3-1 ve M1-3+M3-1 uygulamaları aynı grup içerisinde bulunmakta ve diğer uygulamalar ile aralarında farkın bulunduğu gözlenmiştir. Geriye kalan diğer uygulamalar ile kontrol arasında herhangi bir fark bulunmamaktadır. 2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde meyve sayısı %4-40 oranında artış saptanmıştır. İstatistiki olarak değerlendirildiğinde M3-1, M1-3+M3-1 ve M3-1+H8-8 uygulamaları aynı grup içerisinde yer almaktadır. Aynı şekilde M1-3, H8-8 ve üçlü kombinasyon aynı grup içerisinde yer aldığı ve diğer gruplardan farklı olduğu saptanmıştır. M1-3+H8-8 uygulaması kontrol ile aynı grupta bulunmakta ve kontrolden farklı olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.68).



Şekil 4.68. Köklere daldırma şeklinde uygulanan PGPR izolatlarının tarlada 2003-2004 yıllarında sağlıklı biber bitkilerinin meyve sayısına olan etkisi

Klima odası koşullarında 2002 yılının Ocak-Mayıs ayları arasında kurulan saksı denemesinde, yaprakтан PGPR izolatları ile uygulama görmüş bitkilerin bitki büyüme etkilere bakıldığında viyol çalışmasında en etkili uygulamalar olarak; bitki boyunda ile M3-1+H8-8 (%103), M3-1 (%100), M1-3+M3-1 (%95), M1-3+H8-8 (%92) ve M1-3 (%90), gövde çapında M1-3+H8-8 (%61), M1-3 (56) ve M1-3+M3-1 (%56), yaprak sayısında M1-3+M3-1 (%61), M3-1+H8-8 (%50) ve M1-3 (%46), yaprak alanında M1-3+M3-1 (%110), M1-3+H8-8 (%96), bitki kuru ağırlığında M1-3+H8-8 (%88), M1-3+M3-1 (%87), M1-3 (%71) ve M3-1 (%71), kök kuru ağırlığında ise M1-3 (%56), M1-3+M3-1 (%47) ve M3-1 (%46), uygulamalarından elde edilmiştir.

Saksı denemesinde, PGPR izolatları kök daldırma yöntemine göre uygulama görmüş bitkilerin bitki büyüme etkilere bakıldığında saksıda çalışmasında en etkili uygulamalar olarak; bitki boyunda M3-1 (%8), gövde çapında M1-3 (%74) ve M3-1 (%65), bitki yaş ağırlığında M1-3+H8-8 (%31), bitki kuru ağırlığında M1-3 (%14), M3-1 (%7) ve M1-3+H8-8 (%7), kök uzunluğunda M1-3+M3-1 (%65), M3-1 (%59), M1-3 (%50), üçlü kombinasyon (%48) ve M1-3+H8-8 (%43) uygulamalarından elde edilirken bütün uygulamalar kök uzunluğunda bir azalmaya neden olmuştur.

İki yıllık tarla denemesinin ilk yılında en etkili uygulamalar olarak; bitki boyunda M1-3+M3-1 (%3), gövde çapında M3-1 (%22), bitki yaş ağırlığında M3-1 (%108), üçlü karışım (%88), M3-1+H8-8 (%79) ve M1-3+M3-1 (%74) bitki kuru ağırlığında M3-1 (%53), M1-3+M3-1 (%52), üçlü kombinasyon (%39), M1-3+H8-8 (%34) M3-1+H8-8 (%10) ve M1-3 (%10), kök uzunluğunda M3-1 (%19), M1-3+M3-1 (%14) ve üçlü kombinasyon (%14), kök kuru ağırlığında M3-1 (%33), verimde M1-3+M3-1 (%48), M3-1 (%36) ve M3-1+H8-8 (%34), meyve boyunda M1-3 (%17), M1-3+M3-1 (%17), üçlü kombinasyon (%16) ve M1-3+H8-8 (%13) ve meyve sayısında ise M3-1 (%26) ve M1-3+H8-8 (%22) uygulamalarından elde edilmiştir.

2004 yılında yapılan ikinci yıl tarla denemesinde ise en etkili uygulamalar olarak; bitki boyunda M3-1 (%3), gövde çapında üçlü karışım (%20), M3-1 (%19), bitki yaş ağırlığında M3-1 (%24), bitki kuru ağırlığında üçlü karışım (%33), kök

uzunluğunda M3-1 (%15), üçlü kombinasyon (%12), M3-1+H8-8 (%12), M1-3+M3-1 (%11) ve M1-3+H8-8 (%11), kök kuru ağırlığında ile M3-1+H8-8 (%21), verimde M3-1 (%24), meyve boyunda M3-1+H8-8 (%14) ve meyve sayısında ise M1-3+M3-1 (%40) uygulamalarından elde edilmiştir.

Doğal koşullar altında iki yıl tekrar edilen denemelerin sonuçları saksı çalışmalarına paralellik göstermiştir. M1-3 ve M3-1 PGPR izolatı biberde bitki büyümesini teşvik eden başarılı izolatlar olarak görölmektedir. İzolatlar arasında en ümit var görölen izolat ise M3-1 izolatıdır.

De Freitas ve ark, (1997) *Bacillus megaterium*, *B. sphaericus* ve *B. polymyxa* uygulanarak yaptıkları çalışmalarında, bu bakterilerin ortamda bulunan kaya fosfatını çözürek bitki boyu ve ağırlığının arttığı bildirilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız fosfatı indirgeme özelliğindeki M3-1, M1-3 ve H8-8 izolatları biber bitkilerinde farklı oranlarda büyümeyi teşvik etmiştir. M3-1 uygulaması bitki yaş ağırlığını %108 oranında artırırken, M1-3 uygulamasında bu oran %43 olarak saptanmıştır. PGPR izolatlarının bitki büyümesine etkisi, öncelikle PGPR'lerin köklere kolonize olma ve orada yaşamını sürdürebilme yeteneklerine bağlıdır. Bu nedenle PGPR izolatlarının bitki büyümesine etki oranlarında farklılıklar ortaya çıkabilmektedir (Weller, 1988).

Benzer çalışmalarda da (Wei ve ark, 1996; Khalid ve ark, 2003) bitkilere uygulanan PGPR izolatlarının bitki büyümesini arttırdığı gözlenmiştir. Aynı şekilde Khalid ve ark, (2003), ve Asghar ve ark, (2004) rizosferden elde edilen rizobakteri izolatlarının kullanılması ile kültür bitkilerinde bitki boyunun, sürgün uzunluğunu, sürgün ağırlığını, kök sayısının, kök uzunluğunu, ve verimi arttırdığını saptamışlardır. Son zamanlarda organik tarımda organik gübre kullanımı ve hastalıklardan korunmak için biyolojik mücadele önem kazanmaktadır. Son yıllarda hastalıklardan korunmanın yanı sıra bitki büyümesini teşvik etmek için topraktan elde edilen bakterilerin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Özellikle Çin gibi fazla nüfusa sahip olan ölkelerde birim alandan fazla miktarda ürün almak için son zamanlarda topraktan elde ettikleri ve geniş alanda kullandıkları rizobakterilerden yararlanmaktadır (Chen ve ark, 1996). Yapmış olduğumuz viyol, saksı ve tarla çalışmaları bu çalışmalara paralel sonuçlar vermiş ve topraktan elde edilen rizobakterilerin bitki büyümesini arttırmak amacıyla kullanılabileceğini göstermiştir.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Biberde bakteriyel leke hastalığına neden olan *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*'nın tanınması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanakları ve bitki büyümesine olan etkilerinin araştırılması hedeflenen bu doktora çalışmasında elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

1. Salçalık ve sofralık sivri biber üretiminin yapıldığı Adana, Mersin, Kahramanmaraş, Osmaniye ve Hatay illerinde bu hastalık yönünden incelemeler yapılmış ve hasta bitki örnekleri toplanmıştır. Hastalık salçalık biber üretim alanı olan Adana'nın Karaisalı ilçesinde ve Osmaniye ilinde yoğun olarak saptanmıştır. Karaisalı ilçesinde 2002, 2003 ve 2004 yıllarında sürvey yapılan tarlalarda bulaşıklık oranının sırasıyla %52, %94 ve %100 olduğu belirlenmiştir. Karaisalı ilçesinde hastalığın her yıl ve giderek artan oranlarda ortaya çıktığı görülmüştür. Üreticilerden alınan bilgiye göre, Osmaniye ilinin Sunbas ilçesinde yetiştirilen "karaisalı salçalık" biber çeşidinin tohumları Adana'nın Karaisalı ilçesinden getirilmiştir. Hastalığın bu ile bulaşık tohumlar vasıtası ile giriş yaptığı düşünülmektedir. Mersin ilinde ise hastalık çok yaygın olmamakla beraber serada yetiştirilen biberlerden bir kez izole edilmiştir. Hatay ve Kahramanmaraş'da bu hastalığa rastlanılmamıştır. Bu illerde rüzgar sonucu nemin az oluşu, sıcaklığın yüksek olmaması ve hastalığın henüz o alanlara bulaşmamasından dolayı hastalık ortaya çıkmamış olabilir.

2. Adana, Osmaniye ve Mersin illerinde tipik hastalık semptomu gösteren bitkilerden 67 adet *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* izolatu elde edilmiştir. izolatların tanısı morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerinin belirlenmesinin yanı sıra DAS-ELISA, PCR ve yağ asit metil ester analizleri ile yapılmıştır. Bu testler etmenin tanısında hızlı ve rutin olarak kolaylıkla kullanılabilir.

3. Adana ve Osmaniye illerinde üreticilerin bakırlı preparatlar kullanmalarına rağmen hastalıkla yeterli düzeyde mücadele edemedikleri gözlenmiştir. Elde edilen patojen izolatlarının bakır sülfat ve streptomisine karşı dayanıklılık düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda izolatların tamamının bakır sülfatın 100 ppm dozuna, %7'sinin 100 ppm streptomisine dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Bu alanlarda kimyasal kontrol olarak bakırlı preparatların kullanımının bir yarar sağlamayacağı

tespit edilmiştir. Hastalıkla mücadelede kültürel önlemler, tohum uygulamaları (sıcak su, sodyum hipoklorit veya Bronopol), toprak solarizasyonu, birkaç yıllık ürün rotasyonu ve biyolojik mücadele gibi farklı mücadele stratejilerinden faydalanılmalıdır.

4. Biberde bu hastalığın mücadelesindeki zorluklar, kimyasalların çevreye olan zararlı etkileri ve organik tarıma ilginin artmasından dolayı biyolojik mücadele gibi alternatif yöntemler önem kazanmaktadır. Çalışmamızda, PGPR'larla bu hastalığın biyolojik mücadele olanakları saksı ve tarlada koşullarında araştırılmıştır. Biber kök bölgesi toprağından 189 adet aday rizobakteri izole edilmiş ve bunlar arasından fosfatı indirgeme özelliklerine göre seçim yapılmıştır. Seçilen 3 PGPR izolatının (M1-3, M3-1 ve H8-8) 39-40µg/ml miktarında suda çözünebilen fosfatı indirdedikleri saptanmıştır. Seçilen bu izolatlar yağ asit metil ester analizleri *Bacillus megaterium* olarak tanılanmıştır.

5. Seçilen 3 PGPR izolatı ve onların kombinasyonları kök uygulaması olarak bitkiye verildiğinde hastalık şiddeti saksı çalışmalarında %11-62, ilk yıl tarla denemesinde %38-67, ikinci yıl tarla denemesinde ise %57-63 oranında azaltılmıştır. Hastalık şiddetini engellemede en başarılı izolatın M1-3 olduğu saptanmıştır. Bu izolatlar hastalığı baskımlarken bitki büyümesinde de artışlara neden olmuşlardır.

6. PGPR izolatları sağlıklı biber bitkilerine kökten veya yapraktan uygulanarak bitki büyümesine olan etkileri araştırılmıştır. Yaprak uygulamasıyla bitki boyunda (%103), gövde çapında (%61), yaprak sayısında (%61), yaprak alanında (%88), bitki kuru ağırlığında (%88), kök kuru ağırlığında (%56) artışlar elde edilmiştir. PGPR izolatları kök uygulamasıyla saksıda ve tarlada iki yıl boyunca yapılan denemelerde bitkilerin boyunda (%8), gövde çapında (%74), bitki yaş ağırlığında (%108), bitki kuru ağırlığında (%53), kök uzunluğunda (%65), kök kuru ağırlığında (%19), verimde (%48), meyve boyunda (%17) ve meyve sayısında (%46) artışa neden olmuştur. M3-1 izolatı bitki büyümesini artırmada en etkili izolat olarak değerlendirilmiştir.

9. Uygulamalardaki başarılar ve biber bakteriyel leke hastalığının kontrolünde PGPR'lerin kullanılabilirliği yapılan bu çalışma ile ortaya konmuştur. Başarılı

izolatların formülasyonu ve preparat haline getirilerek üretici koşullarında kullanım olanaklarının saptanması gelecekte planlanan araştırmalarımız arasındadır.

KAYNAKLAR

- ADASKAVEG, J. E., and HINE, R. B. 1984. Resistance of field strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* to copper bactericides. *Phytopathology*, 74 (7):858.
- AHMED, J. S., and BAKER, R., 1987. Rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 77:182-189.
- ANITH, K. N., MOMOL, M. T., KLOPPER, J. W., MAROIS, J. J., OLSON, S. M., and JONES, J. B., 2004. Efficacy of plant growth-promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl, and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato. *Plant Disease*, 88(6):669-673.
- ANONYMOUS, 2002. Tarımsal Yapı ve Üretim. Başbakanlık D.İ.E. Yayınları.
- ASGHAR, H. N., ZAHIR, Z. A., and ARSHAD, M., 2004. Screening rhizobacteria for improving the growth, yield and oil content for canola (*Brassica napus* L.). *Australian Journal of agricultural Research*, 55 (2):187-194.
- AYSAN, Y., ve ÇINAR, Ö., 2001. Çukurova Bölgesinde biberlerde bakteriyel leke hastalığının (*Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*) çıkışı ve kontrolü üzerine araştırmalar. *Türkiye IX. Fitopatoloji Kongresi*, Tekirdağ. S:549-554.
- AYSAN, Y., and F. SAHİN, 2003. Occurrence of bacterial spot disease, caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, on pepper in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Plant Pathology*, 52:781.
- AZAIZEH, M., and BASHAN, Y., 1984. Chemical control of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in inoculated pepper fields in Israel. *Ann. App. Biology*, 5:60-61.
- BACKMAN, A. C., BENGTSSON, M., and WITZGALL, P. 1997. Pheromone release by individual females of codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology* 23 (3):807-815.

- BAHME, J. B., and SCHROTH, M. N., 1987. Spatial-temporal colonization pattern of a rhizobacterium on underground organs fo potatoes. *Phytopathology*, 77:1093-1100.
- BARTON, C. J., 1948. Photometric analysis on phosphate rock. *Ind. And. Eng. Chem. Anal. Ed.*20:1068-1073.
- BASHAN, Y., AZAIZEH, M., DIAB, S., YUNIS, H, and OKAN, Y., 1990. Crop loss of pepper plants artificially infected with *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in relation to symptom expression. *Crop Protection*, 4(1):77-84.
- BASHAN, Y., DIAB, S., and OKAN, Y. 1982b. Survival of *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* in pepper seeds and roots in symptomless and dry leaves in non-host plants and in the soil. *Plant and Soil*, 68:161-170.
- BASHAN, Y., and OKAN, Y., 1986. Internal and external infections of fruits and seeds of peppers by *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. *Can. J. Bot.* 64:2865-2871.
- BASHAN, Y., OKAN, Y., and HEINS, Y 1982a. Long-term survival of *Pseudomonas tomato* ve *Xanthomonas vesicatoria* in tomato and pepper seeds. *Phytopathology*, 72:1143-1144.
- BAYSAL, Ö., SOYLU, E. M., and SOYLU, S., 2003. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis*. *Plant Pathology*, 52:747-753.
- BLACK, R., SEAL, S., ABUBAKAR, Z., NONO-WPMDIM, R., and SWAI., 2001. Bacterial spot (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) of Tomato and sweet pepper in Tanzania. *Plant Pathology*:50:810.
- BORA, T., ve KARACA, I. 1970., Kültür bitkilerinde hastalığın ve zararın ölçülmesi. Bornova, Ege Üniversitesi Matbaası. P:39.
- BORA, T., ve ÖZAKTAN, H. 1998. Bitki hastalıkları ile biyolojik savaş. Prizma Matbaası, İzmir. P:205.

- BOUZAR, H., AHMED, N. E., SOMODI, G. C., JONES, J. B., and STALL, R. E., 1994a. Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* strains from tomato and pepper grown in Sudan. *Plant Disease*, 78:1219.
- BOUZAR, H., JONES, J.B., STALL, R.E., HODGE, N.C., MINSAVAGE, G.V., BENEDICT, A.A. and ALVAREZ, A.M., 1994b. Physiological, chemical, serological, and pathogenic analyses of a worldwide collection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* strains. *Phytopathology*. 84:663-671.
- BOUZAR, H., JONES, J.B., STALL, R.E., LOUWS, F. J., SCHNEIDER, M., RADEMAKER, J. L. W., DE BRUIJN, F. J., and JACKSON, L. E., 1999. Multiphasic analysis of Xanthomonads causing bacterial spot disease on tomato and pepper in the Caribbean and Central America: Evidence for common lineages within and between countries. *Phytopathology*, 89:328-335.
- BROADBENT, P., BAKER, K. F., FRANKS, N., and HOLAND, J., 1977. Effect of *Bacillus* spp. on increased growth of seedlings in steamed and in nontreated soil. *Phytopathology* 67:1027-1034.
- BROADBENT, P., BAKER, K. F., and WATERWORTH, Y., 1971. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soils. *Aust. J. Biol. Sci.* 24:925-944.
- BROWN, M. E., 1974. Seed and root bacterization. *Annual Review of Phytopathology*, 12:181-197.
- BUONAURO, R., SCARPONI, L., FERRARA, M., SIDOTI, P., and BERTONA, A., 2002. Induction of systemic acquired resistance in pepper plants by Acibenzolar-S-methyl against bacterial spot disease. *European Journal of Plant Pathology* 108:41-49.
- BUONAURO, R., STRAVATO, V. M.; and SCORTICHINI, M., 1994. Characterization of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from *Capsicum annuum* L. in Italy. *Plant Dis.* 78:296-299.

- BURR, T. J., SCHROTH, M. N., and SUSLOW, T., 1978. Increased potato yields by treatment of seed pieces with specific strains of *Pseudomonas flourescens* and *Pseudomonas putida*. *Phytopathology* 68:1377-1381.
- BYRNE, J. M., DIANESE, P. J. I., CAMPBELL, H. L., CUPPELS, D. A., LOUWS, F. J., MILLER, S. A., JONES, J. B., and WILSON, M., 2005. Biological control of bacterial spot of tomato under field conditions at several locations in North America. *Biological Control* 32:408-418.
- CAPPER, A. L., and CAMPBELL, R., 1986. The effect of artificially inoculated antagonistic bacteria on the prevalence of take all disease of wheat in field experiments. *J. Appl. Bacteriol.* 60:155-160.
- CHEN, J.U., JACOBSON, L. M., HANDELSMAN, J., and GOODMAN R. M. 1996. Compatibility of systemic acquired resistance and microbial biocontrol for suppression of plant disease in a laboratory assay. *Mol. Ecol.* 5:73-80.
- CHEN, W., HOITINK, H. A. J., and SCHMITTHENNER, A. F. 1987. Factors affecting suppression of *Pythium* damping-off in container media amended with compost. *Pyhtopathology* 77:755-760.
- CHEN. C., BELANGER, R. R., BENHAMOU, N., and PAULITZ, T. C., 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and Molecular Planth Pathology* 56:13-23.
- COOK, A .A. and STALL, R.E., 1982. Distributionnn of races of *Xanthomonas vesicatoria* pathogenic on pepper. *Plant Disease* 66:388-389
- COOK, R. J., and BAKER, K. F., 1983. The Nature and practice of plant pathogens. St. Paul:Am. Phytopathol. Soc., 539.
- CROSAN, D. F., and MOREHART, A. L., 1963. Isolation of *Xanthomonas vesicatoria* from tissues of *Capsicum annum*. *Phytopathology*, 54:358-359.

- CROTEAU, R., KUTCHAN, T. M. and LEWIS, N. G., 2000. Natural products (Secondary Metabolites). In: "Biochemistry & Molecular Biology of Plants". (1250-1318). Eds. B. BUCHANAN, W. GRUISSEM, R. JONES. American Society of Plant Pathologist, 1408.
- ÇINAR, Ö. ve AYSAN, Y. 1995. Domates bakteriyel leke etmeninin (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*) canlılığı üzerine toprak solarizasyonunun etkisinin ve biyolojik kontrolde antagonistlerin kullanılma olanaklarının araştırılması. VII. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, Adana. S:423-425.
- DE BOER, S. H. and WARD, L. J., 1995. PCR detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroceptica* associated with potato tissue. *Phytopathology*, 85 : 854-858.
- DE BOER, S. H., and SASSER, M., 1986. Differentiation of *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* and *E. carotovora* ssp. *atroceptica* on the basis of cellular fatty acid composition. *Canadian Journal of Microbiology*, 32:796-800.
- DE FREITAS, J. B., BENERJEE, M. R., and GERMIDA, J. J., 1997. Phosphate-solubilizing rhizobacteria enhance the growth and yield but not phosphorus uptake of canola (*Brassica napus* L.) *Biol. Fertil. Soils*. 24:358-364.
- DEMPSEY, D. A., and KLESSIG, D. F., 1995. Signals in plant disease resistance. *Bull. Inst. Pasteur*. 93:167-186.
- DIAB, S., BASHAN, Y., and OKON, Y., 1982. Effects of relative humidity on bacterial scab caused *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on pepper. *Phytopathology*, 72:1257-1260.
- DITTAPONAPITCH, V., RITCHIE, D. F., and UPCHURCH, R. G., 1989. Small, conjugatable plasmid in copper-resistant strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Phytopathology*, 79(10):1192. (Abstract)
- DOWSON, W. J., 1939. On the systemic position and generic names of the gram negative bacterial pathogens. *Zentrabl. Bakteriöl. Parasitenk, Infectionskr. Hyg. Abs. II* 100:177-193.

- DUNLEAVY, J 1955. Control of damping off of sugar beet by *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 45:252-258.
- DYE, D. W., 1966. Cultural and biochemical reaction of additional *Xanthomonas* species. *N.Z. J. Sci.* 9:913-919.
- DYE, D. W., 1978. Genus IX. *Xanthomonas*. Dowson (1939). In a proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. Edit: J. M. Young, D. W. Dye, J. F. Bradbury, C. G. Panagopoulos, and C. F. Robbins. *N Z J Agric Res* 21, 153-177.
- DYE, D. W., 1980. *Xanthomonas*. Pages 45-49. In: Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. N. W. Schaad, ed. APS, St. Paul, MN.
- ELAD Y., and CHET, I., 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium* damping off by bacteria. *Phytopathology* 77:190-195.
- ELLIS, C., KARAFYLLIDIS, I., and TURNER, J. G., 2002. Constitutive activation of jasmonate signaling in an *Arabidopsis* mutant correlates with enhanced resistance to *Erysiphe cichoracearum*, *Pseudomonas syringae* and *Myzus persicae*. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 15(10):1025-1030.
- EPPO, 1988. *Xanthomonas campestris* (Pammel) Dowson pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 18:521-525 (1988).
- FEBRES, V. J., ASHOULIN, L., MAWASSI, M., FRANK, A., BARJOSEPH, M., MANJUNATH, K. L., LEE, R. F., and NIBLETT, C. L., 1996. The p27 protein is present at one end of citrus tristeza virus particles. *Phytopathology*, 86(12):1331-1335.
- FILONOW, A. B., and LOCKWOOD, J. I., 1979. Evaluation of several actinomycetes and the fungus *Hyphochytrium catenoides* as biocontrol agent for *Phytophthora* root rot of soybean. *Plant. Dis.* 69:1033-1036.

- FLAHERTY, J. E., JONES, J. B., HARBAUGH, B. K., SOMODI, G. C., and JACKSON, L. E., 2000. Control of bacterial spot on tomato in the greenhouse and field with h-mutant bacteriophages. *Hortscience* 35(5):882-884.
- FUZAI, S., ZHIQIANG, D., ZHILIANG, J., TINGCHANG, Z., and BOYING, C., 2000. Pathogen ad race identification of bacterial spot of pepper and tomato. *Review of Plant Pathology*. 79(2):148.
- GARCIA, J. A.L., PROBANZA, A., RAMOS, B., PALOMINO, M. R., and MANERO, F. J. G., 2004. Effect of inoculation of *Bacillus licheniformis* on tomato and pepper. *Agronomie*, 24(4):169-176.
- GARDNER, M. W., VE KENDRICK, J., 1923. Bacterial spot of tomato and pepper. *Phytopathology*, 13:307-315.
- GARDNER, M. W., 1921. Bacterial spot of tomato. *Journal of Agricultural Research*, 21:1233-156.
- GENESAN, P., and GINANAMANICKAM, S. S., 1987. Biological control of *Sclerotium rolfsii* Sacc. in peanut by inoculation with *Pseudomonas flourescens*. *Soil Biol. Biochem.* 19:35-38.
- GITATIS R. D., JONES, J. B., and MCCARTER, S. M., 1986. Evaluation of chemical control of bacterial disease of tomato. In :Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. APS press The American Phytopathological Society, 312.
- GLICK, R. B., PENROSE, M. D., and LUI, J., 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190:63-68.
- GOODE, J. M. and SASSER M. 1980. Presentation-the key to controlling bacterial spot and bacterial speck of tomato. *Plant Disease* 64 (7):831-834.

- GORE, J. P., and O'GARRO, L. W., 1999. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from bell pepper and tomato in Barbados undergoes changes in race structure, virulence and sensitivity to chemical control agents. Review of Plant Pathology. 79 (1):46. (Abstract)
- GORLACH J., VOLRATH, S., KNAUF-BEITER, G., HENGY, G., BECKHOVE, U., 1996. Benzothiadiazole, a novel call of inducers systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. Plant Cell 8:629-643.
- GUO, J. H., QI, H. Y., GUA, Y. H., GE, H. L., GONG, L. Y., ZHANG, L. X., and SUN P.H., 2004. Biocontrol of tomato wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Biological Control, 29(1):66-72.
- GUPTA, R., SINGAL, R., SHANKAR, A., KUHAD, R. C., SAXENA R. K., 1994. A modified plate assay for screening phisphate solubilizing microorganisms. J. Gen. Appl. Microbiol. 40:255-260.
- HARTMAN, G. L., VE YANG C. H., 1990. Occurrence of three races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on pepper and tomato in Taiwan. Plant Dis. 74:253.
- HILDEBRAND, D. C., PALLERONI, N. J., and SCHROTH, M. N., 1990. Deoxyribonucleic-acid relatedness of 24 Xanthomonad strains representing 23 *Xanthomonas-campestris* pathovars and *Xanthomonas fragariae*. Journal of Applied Bacteriology, 68 (3):263-269.
- HOWIE, W. J., COOK, R. J., and WELLER, D. M., 1987. Effect of soil metric potential and cell motility on wheat root colonization by fluorescent pseudomonads suppressive to take all. Phytopathology 77:286-292.
- HULTBERG M., ALSANIUS B., and SUNDIN P., 2000. *In vivo* and *in vitro* interaction between *Pseudomonas fluorescens* and Pythium in the suppression of damping-off in tomato seedling. Biological Control 19:1-8.

- JAMES, E. K., GYANESHWAR, P., MATHAN, N., BARRAQUIO, W. L., REDDY, P. M., IANNETTA, P. P. M., OLIVARES, F. L., and LADHA, J. K., 2002. Infection and colonization of rice seedlings by the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 15(9):894-906.
- JONES, J. B., POHRONEZNY, K. L., STALL, R. E., and JONES, J.P. 1986. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in Florida on tomato crop residue, weeds, seeds, and volunteer tomato plants. *Phytopathology* 76:430-434.
- JONES, J. B., and SCOTT, J.W., 1986. Hypersensitiv response in tomato to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease* 70:337-339.
- JONES, J. B., BOUZAR, H., STALL, R. E., ALMIRA, E. C., ROBERTS, P. D., BOWEN, B. W., SUDBERRY, J., STRICKLER, P. M., and CHUN, J., 2000. Systematic analysis of Xanthomonads (*Xanthomonas* spp.) associated with pepper and tomato lesions. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50:1211-1219.
- JONES, J. B., LACY, G. H., BOUZAR, H., STALL, R. E., and SCHAAD, N. W., 2004. Reclassification of the Xanthomonads associated with bacterial spot disease of tomato and pepper. *System. Appl. Microbiol.* 27:755-762.
- JONES, J. B., STALL, R. E., and BOUZAR, H., 1998. Diversity among Xanthomonads pathogenic on pepper and tomato. *Annual Review Phytopathology* 36:41-58.
- JOHRI, J. K. SURANGE, S., and NAUTIYAL, C. S., 1999. Occurrence of salt, pH, and temperature-tolerant, phosphate-solubilizing bacteria in alkaline soils. *Current Microbiology*, 39:89-93.
- KARACA, İ., ve SAYGILI, H., 1982. Batı Anadolu'nun bazı illerinde domates ve biberlerde görülen bakteriyel hastalıkların oranı, etmenleri, belirtileri ve konukçu çeşitlerinin duyarlılığı üzerine araştırmalar. III. Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildiri Özetleri, 12-15 Ekim, Adana, 182-192.

- KHALID, A., ARSHAD, M., and ZAHIR, Z. A., 2003. .Growth yield response of wheat to inoculation with auxin producing plant growth promoting rhizobacteria. *Pakistan Journal of Botany*, 35(4):483-498.
- KHALID, A., ARSHAD, M., and ZAHIR, Z. A., 2004. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *Journal of Applied Microbiology*, 96(3):473-480.
- KILIÇ-EKİCİ, Ö., and YUEN, G. Y., 2004. Comparison of strains of *Lysobacter enzymogenes* and PGPR for induction of resistance against *Bipolaris sorokiniana* in tall fescue. *Biological Control*, 30:446-455.
- KING, E. O., WARD, M. K., and RANEY, D. E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 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.
- KLEMENT, Z., MAVRIDIS, A., RUDOLPH, K., and VIDAVER, A., 1990. Inoculation of plant tissue. In: *Methods in Phytobacteriology* (Edts: Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D. C.), 99.
- KLOEPPER, J. W., 1996. Host specificity in microbe-microbe interaction. *Bioscience* 46:406-409.
- KLEOPPER, J. W., LEONG, J., TEINTZE, M., and SCHROTH, M. N., 1980. enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature* 286:885-886.
- KLOEPPER, J. W., TÜZÜN, S., and KUC, J. A., 1992. Proposed definitions related to induced disease resistance. *Biocontrol. Sci. Technol.* 2:349-351.

- KOTAN, R., 1998. Biber ve domatesteki bakteriyel leke hastalığı (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge)Dye.)'nın biyolojik ve kimyasal kontrolü.Yüksek Lisans Tezi. A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum 45 s.
- KOUSIK, C., S., and RITCHIE, D., F., 1995. Isolation of pepper races 4 and 5 of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from diseased peppers in Southeastern U. S. fields. Plant Disease 79:540.
- KOUSIK, C. S., and RITCHIE, D. F., 1998. Response of bell pepper cultivars to bacterial spot pathogen races that individually overcome major resistance Genes. Plant Dis. 82, 181-186.
- KOVAKS, N., 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. Nature (London) 178:703.
- KRISHNAMURTHY, K., and GNANAMANICKAM, S. S., 1998. Biological control of rice blast by *Pseudomonas flourescens* strain Pf-14:Evaluation of a marker gene and formulations. Biological Control. 13:158-165.
- KUC, J., 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. European Journal of Plant Pathology, 107:7-12.
- KWOK, O. C. H., FAHY, P. C., HOITTINK, H. A. J., and KUTER, G. A., 1987. Interactions between bacteria and *Trichoderma* in suppression of Rhizoctonia damping-off in bark compost media. Phytopathology, 77:1206-1212.
- LEITE, R. P. JR., JONES, J. B., SOMODI, G. C., MINSAVAGE, G. V., and STALL, R. E., 1995. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* associated with pepper and tomato seed by DNA amplification. Plant Disease. 79:917-922.
- LEITE, R. P. JR., MINSAVAGE, G. V., BONAS, U., and STALL, R. E., 1994. Detection and identification of phytopathogenic *Xanthomonas* strains by amplication of DNA sequences related to hrp genes of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. Applied and Environmental Microbiology, 1068-1077.

- LELLIOT, R.A., and STEAD, D.E., 1987. Diagnostic procedures for bacterial plant diseases. In *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants* 58-59. Blackwell Scientific Publications, 216p.
- LOUWS, F.J., WILSON, M., CAMPBELL, H. L., CUPPELS, D. A., JONES, J. B., SHOEMARKER, P.B., ŞAHIN, F., and MILLER, S. A. 2001. Field control of bacterial spot and bacterial spect of tomato using a plant activator. *Plant Dis.* 85:481-488.
- LUI, L., KLOEPPER, J. W., and TÜZÜN, S., 1995. Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria : duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology* 85:1064-1068.
- MALAMY, J., and KLESSIG, D.F., 1992. Salicylic acid and plant disease resistance. *The Plant Journal.* 2(5):643-654.
- MARTIN, H. L. HAMILTON, V. A., and KOPITKE, R. A., 2004. Copper tolerance in Australian populations of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* contributes to poor field control of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, 88(9):921-924.
- MARCO, G. M., and STALL, R. E., 1983. Control of bacterial spot of pepper initiated by strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* that differ in sensitivity to copper. *Plant Disease*, 67:779-781.
- MAUCH, F., HADWIGER, L. A., and BOLLER, T., 1988. Antifungal hydrolases in pea tissues. I. Purification and characterization of two chitinases and two β -1,3-glucanases differentially regulated during development and response to fungal infection. *Plant Physiology.* 87:325-333.
- McGUIRE R. G., and JONES, J. B., 1984 Detection *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in tomato. In: *Detection of bacterial in seed and other planting material.* (Edts: A. W. Saettler, N. W. Schaad and D. A. Roth. APS Press The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota). P:58-62.

- McGUIRE, R. G., JONES, J. B., and SASSER, M., 1986. Tween media for semi-selective isolation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from soil and plant material. *Plant Disease* 70:887-891.
- MEADOWS M. E., and STALL, R. E., 1981. Different induction periods for hypersensitivity in pepper to *Xanthomonas vesicatoria* determined with Antimicrobial Agent. *Phytopathology*, 71:1024-1027.
- MEHTA, S., and NAUTIYAL, C. S., 2000. An efficient method for qualitative screening of phosphate-solubilizing bacteria. *Current Microbiology*, 43:51-56.
- MERRIMAN, P. R., PRICE, R. D., KOLLMORGEN, J. F., PIGGOTT, T., and RIDGE, E. H., 1974. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces grisens* on the growth of cereals and carrots. *Aust. J. Agric. Res.* 25:219-226.
- METRAUX, J. P., 2001. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. *European Journal of Plant Pathology*, 107:13-18.
- MINSAVAGE, G. V., DAHLBECK, D., WHALEN, M. C., KEARNY, B., BONAS, U., STASKAWICZ, B. J., and STALL, R. E., 1990. Gene for gene relationship specifying disease resistance in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*-pepper interactions. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 3:41-47.
- MİRİK, M., AYSAN, Y., and ŞAHİN, F., 2004. Detection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* on pepper seeds with or without treatments. *Plant Protection Towards the 21st Century. Proceedings of the 15th International Plant Protection Congress. Pekin, Çin 11-16 Mayıs 2004.* 626 (Abstract).
- MITCHELL, R., and HURWITZ, E., 1965. Suppression of *Pythium debaryanum* by lytic rhizosphere bacteria. *Phytopathology* 55:156-158.
- NAUTIYAL, C. S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 170:265-270.

- NAYUDU, M. V., and WALKER, J. C., 1960. Bacterial spot of tomato as influenced by temperature and by age and nutrition of the host. *Phytopathology*, 50:360-364.
- NEJAD, P., and JOHNSON, P. A., 2000. Entophytic bacteria induce growth promotion and wilt disease suppression in oilseed rape and tomato. *Biological Control* 18:208-215.
- O'GARRO, L., 1998. Bacterial spot of tomato and pepper on four east Caribbean Islands: Races, their abundance, distribution, aggressiveness and prospects for control. *Plant Dis.* 82:864-870.
- OBRADOVIC, A., MAVRIDIS, A., RUDOLPH, K., and ARSENJEVIC, M., 2000. Bacterial spot of capsicum and tomato in Yugoslavia. *Bulletin OEPP* (2000) 30 (2) 333-336. (Review of plant pathology (2001) Vol:80 no:9 pub no:6419)
- OBRADOVIC, A., MAVRIDIS, A., RUDOLPH, K., JANSE, J. D. ARSENJEVIC, M., JONES, J. B., MINSAVAGE, G. V., and WANG, J. F., 2004. Characterization and PCR-based typing of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from peppers and tomatoes in Serbia. *European Journal of Plant Pathology*, 110(3):285-292.
- OKEY, E. N., and O'GARRO, L. W., 1999. Resistance to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* and PCR analysis of hot pepper *Capsicum chinense* varieties. *Phytopathology*, 89(6):S57. (Abstract)
- OZERETSKOVSKAYA, O. L., 1995. Induced resistance in the solanaceae. 31-61. In : *Induced Resistance to Disease in Plants* (Edts. Hommerschmith, R. and Kuc, J.) Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London. 182 pp.
- ÖZAKTAN, H., BORA, T., ve GÖRE, E., 2001. Domates bakteriyel benek hastalığına karşı sistemik dayanıklılığının uyarılmasında (SIR) rhizobakterilerin rolü. *Türkiye IX Fitopatoloji Kongresi*, 2001- Tekirdağ, S:40-50.
- PARK, K. S., and KLOEPPER, J. W., 2000. Activation of PR-1a promoter by rhizobacteria that induce systemic resistance in tobacco against *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. *Biological Control* 18:2-9

- PERNEZNY, K., COLLINS, J., STALL, R. E., SHULER, K., and DATNOFF, L. E., 1999. A serious outbreak of race 6 of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on pepper in southern Florida. Review of Plant Pathology. 78(6):536. (Abstract)
- PERNEZNY, K., KUDELA, V., KOKOSKOVA, B., and HLADKA, I., 1995. Bacterial diseases of tomato in the Czech and Slovak Republics and lack of streptomycin resistance among copper-tolerant bacterial strains. Crop Protection Vol. 14(4):267-270.
- PETERSON, G. H., 1963. Survival of *Xanthomonas vesicatoria* in soil and diseased tomato plants. Phytopathology, 53:765-767.
- PIETERSE C. M. J., VAN PELT, J.A., JURRIAAN, T., PARCHMANN, S., MUELLER, M. J., BUCHLA, A. J., BUCHALA, A. J., METRAUX, J. P., and VAN LOON, L. C., 2000. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance (ISR) in Arabidopsis requires sensitivity to jasmonate and ethylene but is not accompanied by an increase in their production. Physiological and Molecular Plant Pathology, 57:123-134.
- PIETERSE C. M. J., VAN PELT, J. A., VAN WEES, S. C. M., JURRIAAN, J., LEON-KLOOSTERZIEL, K. M., KEURENTJES, J. J. B., VERHAGEN, B. W. M., KNOESTER, M., VAN DER SLUIS, I., BAKER, P. A. H. M., and VAN LOON, L. C. 2001. Rhizobacteria-mediated induced systemic resistance: triggering, signaling and expression. European Journal of Plant Pathology, 107:51-61.
- PIETERSE, C. M. J., VAN WEES, S. C. M., HOFFLAND, E., VAN PELT, J. A., and VAN LOON, L. C., 1996. Systemic resistance in Arabidopsis induced by biocontrol bacteria is independent of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related gene expression. Plant Cell. 8:1225-1237.
- PIVOSKAYA, R. I., 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. Mikrobiologia, 17:362-370.

- POHRONEZNY, K. L., MOSS, M. A., DANKERS, W., and SCHENK, J., 1990. Dispersal and Management of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* During Thinning of Direct-Seeded Tomato. *Plant Dis.* 74:800-805.
- POHRONEZNY, K., HEWITT, M., INFANTE, J., and DATNOFF, L., 1992. Wind and wind-generated sand injury as factors in infection of pepper by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Plant Disease*, 76:1036-1039.
- QUEZADO-DUVAL, A. M., LEITE, R. P. JR., TRUFFI, D., and CAMARGO, L. E. A., 2004. Outbreaks of bacterial spot caused by *Xanthomonas gardnerii* on processing tomato in central-west Brazil. *Plant Disease*, 88:157-161.
- RANGARAJAN, S., SALEENA, L. M., VASUDEVAN, P., and NAIR, S., 2003. Biological suppression of rice diseases by *Pseudomonas* spp. Under saline soil conditions. *Plant and Soil*, 251:73-82.
- RITCHIE, D. F., 1996. Bacterial Spot of Pepper and Tomato. www.ces.nesu.edu/depts/pp/notes/vegatable/vdin018:
- RITCHIE, D. F., and DITTAPONGPITCH, V., 1991. Copper and streptomycin resistant strains and host differentiated races of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* in North Carolina. *Plant Dis.* 75:733-736.
- ROMERO, A.M., KOUSIK, C. S., and RITCHIE D. F., 2001. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar -S-Methyl. *Plant dis.* 85:189-194.
- ROMERO, A. M., CORREA, O. S., MOCCIA, S., and RIVAS, J. G., 2003. Effect of Azospirillum-mediated plant growth promotion on the development of bacterial diseases on fresh-market and cherry tomato. *Journal of Applied Microbiology*, 95:832-838.
- ROMEIRO, R. S., FILHO, L. VIEIRA JOUNIOR, J. R., SILVA, H. S. A., BARACAT-PEREIRA, M. C., and CARVALHO, M. G., 2005. Macromolecules released by plant growth-promoting rhizobacterium as elicitors of systemic resistance in tomato to bacterial and fungal pathogens. *J. Phytopathology*, 153:120-123.

- RYALS, J. A., NEUENSCHWANDER, U. H., WILLITS, W. G., MOLINA, A., STEINER, H. Y., and HUNT, M. D., 1996. Systemic acquired resistance. The Plant Cell, 8:1809-1819.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E. F., and MANIATIS, T., 1989. Molecular cloning- a Laboratory Manual: Second edition (1989). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- SANDS, D. C., 1990. Physiological criteria-determinate tests. In Methods in Phytobacteriology. (Edts. Klement, Z.; Rhudolp, K.; Sands, D. C.) Academia Kiado, Budapest, Hungary.
- SASSER, J. M., 1990. Identification of bacteria through fatty acid analysis. In : Methods in Phytobacteriology (Edts. Klement, Z.; Rhudolp, K.; Sands, D. C.) 199-204. Akademia Kiado, Budapest, Hungary.
- SAYGILI, H., 1995. *Fitobakteriyoloji*. Doğruluk Matbaası, İzmir. Sayfa:34.
- SAYGILI, H., KÖSEOĞLU, T., ve DEMİR, G., 1985. Batı Anadolu Bölgesi domates ekim alanlarında hastalık etmeni olan bakterilerin toprakta yaşam durumları ve kullanılan suni gübrelerin bu etmenlere etkileri üzerinde araştırmalar. Doğa Bilim Dergisi, D²,(9):367-383 (Özgün Araştırma-TÜBİTAK Projesi).
- SCHAAD, N. W., and STALL, R. E., 1988. *Xanthomonas*, In: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 2nd ed (ed. N.W. Schaad). APS press, St Paul, M. N., pp. 81-94.
- SCHAAD, N. W., JONES, J.B., and LACY, G. H., 2001. Gram negative bacteria, *Xanthomonas*. In Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (Third Edition) Edts:Schaad, N. W., Jones, J.B., and Chun, W.. APS Press. St. Paul, Minnesota. P:175-193.
- SCHIPPERS, B., BAKKER, A. W. and BAKKER, P. A. H. M., 1987. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganism and the effect of cropping practices. Annu. Rev. Phytopathol. 25:339-358.

- SCHROTH, M. N., and HANCOCK, J. G., 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science* 216:1376-1381.
- SCHROTH, M. N., LOPER, J. E., and HIDDEBRAND, D. C., 1984. Bacteria as biocontrol agent of plant disease. In *Current Perspectives in Microbiol Ecology*. Ed. M. J. Klug. C. A. Reddy, pp115-123 Washington. DC:Am Soc. Microbiol. 710 pp.
- SEUNGDON, L., and YOUNGSUP, C., 1996. Copper resistance and race distribution of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* on pepper in Korean. *Korean Journal of Plant Pathology* 12(2):150-155.
- SIJAM, K., CHANG, C. J., and GITAITIS, R. D., 1991. An agar medium for the isolation and identification of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* from seed. *Phytopathology*, 81:831-834.
- SIJAM, K., CHANG, C.J and GITAITIS, R.D., 1992. A Medium for differentiating tomato and pepper strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* *Can. J. Plant: Pathol.* 14:162-164.
- SILVA, H. S. A., ROMEIRO, R. D., MACAGNAN, D., HALFELD-VIEIRA, B. D., PEREIRA, M. C. B., and MOUNTEER, A., 2004. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. *Biological Control*, 29(2) :288-295.
- SNEH, B., 1981. Use of rhizosphere chitinolytic bacteria for biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Dianthi* in carnation. *Phytopathol. Z.* 100:251-256.
- SNEH, B., AGAMI, O., and BAKER, R., 1985. Biological control of *Fusarium* wilt in carnation with *Serratia liguefaciens* and *Hafnia alvei* isolated from rhizosphere of carnation. *Phytopathol. Z.* 113:271-271.
- SNEH, B., DUPLER, M., ELAD, Y., and BAKER, R., 1984. Clamydospore germination of *Fusarium oxysporum* f. Sp. *cucumerinum* as effected by flourescent and lytic bacteria from *Fusarium* suppressive soil. *Phytopathology* 74:1115-1124.

- SOYLU, S., BAYSAL, Ö., and SOYLU, E. M., 2003. Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedling. *Plant Science* 165:1069-1075.
- STALL, R. E., 1993. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*: cause of bacterial spot of tomato and pepper. In : *Xanthomonas* (Edts; J.G. Swing and E.L. Civerolo. Great Britain by St.
- STALL, R. E., HALL, C. B., and COOK, A. A., 1972. Relationship of ammonia to necrosis of pepper leaf tissue during colonization by *Xanthomonas vesicatoria*. *Phytopathology*, 62:882-886.
- STALL, R. E., LOSCHKE, D. C., and JONES, J. B., 1986. Streptomycin resistance of the bacterial spot pathogen and control with streptomycin. *Plant Dis. Rep.* 46:389-392.
- SUTHERLAND, E. D., and LOCKWOOD, J. L., 1984. Hyperparasitism of oospores of some Peronosporales by *Actinoplanes missouriensis* and *Humicola fuscoatra* and other Actinomycetes and fungi. *Can. J. Plant. Pathol.*, 6:139-145.
- SUTIC, D., 1957. Bakterioze crvenog patlidzana (Tomato bacteriosis). In : Posebna Izd Inst Zasht Bilja Beograd, vol 6, pp 1-65 (Special edition). Beograd: Institute of Plant Protection. (English summary: *Rev Appl Mycol* 36, 734-735).
- ŞAHİN, F., 1997. Detection, identification and characterization of strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* by traditional and molecular methods, and resistance in *Capsicum* species to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pepper race 6. PhD Thesis. The Ohio State University. p:181.
- ŞAHİN, F., 2001. Pepper races 7,8 and 10 of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* isolated From Diseased Pepper Plants in Turkey. *Plant Pathology*, 50:809.

- ŞAHİN, F., DURSUN, A., AYSAN, Y., and MIRİK, M., 2004. Characterization of *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* strains isolated from pepper during 1998-2002 in Turkey. Plant Protection Towards the 21st Century. Proceedings of the 15th International Plant Protection Congress. Pekin, Çin 11-16 Mayıs 2004. 530. (Abstract).
- ŞAHİN, F., KOTAN, R., GERGON, E., and MILLER, S.A., 1999. First observation of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Race T2P7 isolated pepper in the Philippines. Plant Disease 83 (6):590.(Abstract).
- ŞAHİN, F., and MILLER, S., A., 1995. First report of pepper race 6 of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. Plant Disease. 79:1188.
- ŞAHİN, F., and MILLER, S. A., 1996. Characterization of Ohio strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. Plant Disease 80:773-778.
- ŞAHİN, F., and MILLER, S. A., 1998. Resistance in *Capsicum pubescens* to *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* pepper race 6. Plant Disease 82:794-799.
- SUNG, K. C., and CHUNG, Y. R., 1997. Enhanced suppression of rice sheath blight using combination of bacteria which produce chitinases or antibiotics. Pages:370-372 in:Plant Growth-Promoting Rhizobacteria-Present Status and Future Prospect. Proc. Int. Workshop on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, 4th. A. Oggoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, and S. Akino, eds. Nakanishi Printing, Sapporo, Japan.
- TALLY, A., OOSTENDORP, M., LAWTON, K., and BASSI, B., 1999. Commercial development of elicitors of induced resistance to pathogens. In:Agrawal, A., Tuzun, S., Bent, E. (eds)Induced Plant Defenses Against Pathogens and Herbivores (pp:357-369) APS Press, St. Paul, Minnesota.
- TU, J. C., 1980. Incidence of root rot and over wintering of alfalfa as influenced by rhizobia. Phytopathol. Z. 97:97-108.

- VAN LOON, L. C., 1997. Induced resistance in plants and role of pathogenesis related proteins. *European Journal of Plant Pathology*. 103:753-765.
- VAN LOON, L. C., BAKKER, P.A.H.M., and PIETERSE, C. M. J., 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-483.
- VAN PIERE, R., NIEMANN, G. J., and SCHIPPERS, B., 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of Fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. Strain WCS 417R. *Phytopathology* 81:728-738.
- VAUTERIN, L., HOSTE, B., KERSTERS, K., and SWINGS, J., 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45:472-489.
- VAUTERIN, L., SWINGS, J., VAUTERIN, L., and 13 OTHER AUTHORS 1990. Towards and improved taxonomy of *Xanthomonas*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 40:312-316.
- VOLCANI, Z., 1969. The Effect of Mode of irrigation and wind direction on disease severity caused by *Xanthomonas vesicatoria* on tomato in Israel. *Plant Disease Reporter*, 53:459-461.
- WARD, H. P. and O'GARRO, L. W., 1992. Bacterial spot of pepper and tomato in Barbados. *Plant Dis.* 76:1046-1048.
- WEI, G., KLOEPPER, J. W., and TÜZÜN, S., 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81:1508-1512.
- WEI, G., KLOEPPER, J. W., and TÜZÜN, S., 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86:221-224.
- WELLER, D. M., 1986. Effect of wheat genotype on root colonization by a take-all suppressive strain of *Pseudomonas flourescens*. *Phytopathology* 76:1059 (Abstract).

- WELLER, D. M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26:379-407.
- WRIGHT, S., and MILLER, S. A. 2000. evaluation of methods for biological and chemical control of bacterial spot and other diseases of tomato and pepper. *Phytopathology* 90:S85. (Abstract).
- XU, G. W., and GROSS, D. C., 1986. Selection of fluorescent *Pseudomonads* antagonistic to *Erwinia carotovora* and suppressive of potato seed pieces decay. *Phytopathology* 76:414-422.
- YANG, Y., SHAH, J., and KLESSIG, D. F., 1997. Signal perception and transduction in plant defense responses. *Genes and Development*, 11:1621-1639.
- ZEHNDER, G. W., MURPHY, J. F., SIKORA, E. J., and KLOEPPER, J. W., 2001. Application of rhizobacteria for induced resistance. *European Journal of Plant Pathology* 107:39-50.
- ZHANG, F., DASHTI, N., HYNES, R. K., and SMITH, D. L., 1997. Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) growth and physiology at suboptimal root zone temperatures. *Annals of Botany* 79:243-249.

ÖZGEÇMİŞ

1972 yılında Adana'da doğdum.

İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım.

1994 yılında Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü'nden mezun oldum.

1995-1996 yılları arasında askerlik görevini yerine getirdim.

1996 yılında Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevliliği sınavını kazandım ve 15.10.1996 tarihinde Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım.

2000 yılı Şubat ayında Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda "Amasya ve Tokat İllerinde Yumuşak Çekirdekli Meyve Ağaçlarındaki Ateş Yanıklığı (*Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et all.) Hastalığının Yaygınlık Oranı, Duyarlı ve Dayanıklı Çeşitlerin Tespiti" isimli Yüksek Lisans tezimi tamamladım.

2000 yılı Eylül ayında Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Doktora öğrenimime başladım.

Halen Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görevime devam etmekteyim.

Evli ve bir erkek çocuğuna sahibim.

EKLER

EK 1

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

Yeast Extract	10.0g
Dextrose	20.0g
Calcium Carbonate	20.0g
Agar	15.0g
Distile Su	1000ml
121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

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

Nutrient Agar	13.0g
Distile Su	1000ml
121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

Tween B Besi Yerinde (McGuire ve Jones, 1986)

Peptone	10.0g.
KBr	10.0g
CaCl ₂	0.25g
Borik Asit	0.30g
Agar	15.0g
Distile Su	100ml

121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Ortam 50°C'ye kadar soğutularak içerisine aşağıdaki kimyasallar ilave edilmiştir.

Tween 80	10.0ml
Cycloheximide	50.0mg
Cephalexin	65.0mg
5-flouracil	12.0mg
Tobramycin	0.4mg

CKTM Besi Yeri (Sijam ve ark, 1992)

Distile Su	900ml
Soy Peptone	2.0g
Bacto Tryptone	2.0g
Dekstroz	1.0g
L-glutamine	6.0g
L-histidine	1.0g
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.8g
KH ₂ PO ₄	1.0g
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.4g

CaCl₂ 0.25g

Borik asit 0.30g

Agar 15.0g

121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Ortam 50C'ye kadar soğutularak içerisine

Tween 80 10.0ml

Cycloheximide 50.0mg

Bacitracin 100.0mg

Neomycin sulphate 10.0mg

100ml distile su içerisinde eritilen; Cephalixin 65.0mg

5-flouracil 12.0mg

Tobramycin 0.4mg ilave edilmiştir.

SPA Besi Yeri(Ritchie ve Dittapongpitch, 1991)

Sukroz 20.0g

Pepton 5.0g

K₂HPO₄ 0.5g

MgSO₄ 7H₂O 0.25g

Agar 15.0g

Saf su 1000ml

121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Ortam 50°C'ye kadar soğutularak içerisine streptomisin ve bakır sülfat ilave edilmiştir.

SNA Besi Yeri (Lelliot ve Stead, 1987)

Nutrient Agar 13.0g

Sukroz 50.0g

Distile Su 1000ml

121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

Nutrient Broth Sıvı Besi Yeri (Lelliot ve Stead 1987)

Nutrient broth 8g

Distile Su 1000ml

121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

King B Besi Yeri (King ve ark 1954)

Proteose Peptone 20.0g

Gliserin 10.0ml

K₂HPO₄ 1.5g

MgSO₄ 7H₂O 1.5g

Agar 15.0g

Distile Su 1000ml

121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.

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

Glukoz	20.0g
Ca ₃ (PO ₄) ₂	10.0g
(NH ₄)SO ₄	0.1g
MgSO ₄ -7/H ₂ O	0.25g
KCl	0.2g
MgCl ₂ 6H ₂ O	5.0g
Bromphenoleblue (BPB)	0.025g
Saf su	1000ml
121°C'de 15 dakika otoklav edilmiştir.	

EK 2

ELISA testinde Kullanılan Tampon Çözeltiler

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

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

Yukarıda miktarları verilen kimyasallar 1 litre saf suda eritilip pH'sı 0.1N NaOH veya 0.1N HCl ile ayarlanmış ve +4°C'de saklanmıştır

Coating buffer pH 9.6 (Kaplama Tampon Çözeltisi)

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

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

Washing Buffer (Yıkama Tamponu)

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

Sample Extraction Buffer (Örnek Tamponu Çözeltisi)

Bir litre yıkama tamponu çözeltisi içine 20g Polyvinylpyrrolidone (PVP-40) ilave edilerek hazırlanmıştır.

Enzyme Conjugate Buffer (Konjugate Tampon Çözeltisi)

Bir litre örnek tampon çözeltisine 2g ovalbumin (egg albumin) ilave edilerek hazırlanmıştır.

Substrat Buffer pH:9.8 (Subtrat Tampon Çözeltisi)

97 ml Diethanolamine 800ml saf su içine ilave edildikten sonra 0.2g NaN₃ konmuş ve HCl ile pH 9.8'e ayarlanarak 1 litreye tamamlanmıştır.

EK 3

PCR Çalışmasında Kullanılan Solüsyonlar

%1'lik Sodium Dodecyl Sulphate (SDS)

10ml 10xTAE bufferı 90ml su ile karıştır ve behere koyulur. Süspansiyon bulunan beheri içerisinde sıcak su bulunan beher içerisine yerleştir ve 1g Sodium dodecyl sulphate eklenir. Çalkalaya koyularak SDS'nin çözünmesi sağlanır.

7.5 M Amunium Acetate

57.75g Amonium acetate 100ml su içerisinde çözünmüştür.

%1 Agarose Jel

1xTAE buffer içerisine 1g agarose konulmuş ve mikrodalgada kaynatarak çözünmesi sağlanmıştır.

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

Tris-HCl	0.24g
EDTA	0.074g
Distile Su	200ml

TBE buffer

Tris	107.89 g
Borik asit	55.0g
Na ₂ EDTA	7.44g
Distile su	1000ml
pH:8.0	

6.5x Loading Buffer

Bromophenol blue	30.0mg
5xTBE	4.25ml

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

EK 4

Yağ Asit Analizi Çalışmasında Kullanılan Ortam ve Çözeltiler

Trypticase Soy Broth Agar (TSBA) Besi yeri

Trypticase Soy Broth (BBL # 11768)	30.0g
Agar	15.0g
Distile su	1000ml

121°C'de 15 dakika otoklav edilmiş ve petrilere dökülmüştür.

Çözelti 1

Metil Alkol	150ml
Distile su	150ml
Sodyum Hidroksit	45g

Sırası ile 150ml metil alkol ve 150ml H₂O bir litrelik renkli çözelti şişesine ilave edilmiş ve daha sonra katı formdaki 45g sodyum hidroksit ekleyip iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır

Çözelti 2

6 N Hidroklorik Asit	325mL
Metil Alkol	225ml

Sırası ile 6N'lik 325ml hidroklorik asit ve 225ml metil alkol bir litrelik renkli çözelti şişesinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

Çözelti 3

Methyl-tert-butyl Ether	200ml
Hexane	200ml

Sırası ile 200ml methyl-tert-butyl ether. 200ml hexane üzerine ilave edilerek bir litrelik renkli çözelti şişesinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.

Çözelti 4

Sodyum Hidroksit	10.8g
Distile su	900ml

Sırası ile 10.8g katı formdaki sodyum hidroksit. 900ml distile su içerisinde bir litrelik renkli çözelti şişesinde iyice çözülünceye kadar karıştırılmıştır.