

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Özgür GÜLDOĞAN

**DOMATES BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞININ
(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) BİYOLOJİK
MÜCADELESİNDE BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERİN
KULLANIM OLANAKLARI**

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ADANA-2022

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOMATES BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞININ (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERİN KULLANIM OLANAKLARI

Özgür GÜLDOĞAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Bu Tez .../.../2022 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....
Prof. Dr. Yeşim AYSAN
DANIŞMAN

.....
Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ
ÜYE

.....
Dr. Öğr. Üyesi Benian P. AKTEPE
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bitki Koruma Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No:

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOMATES BAKTERİYEL BENEK HASTALIĞININ (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) BİYOLOJİK MÜCADELESİNDE BAKTERİYEL ANTAGONİSTLERİN KULLANIM OLANAKLARI

Özgür GÜLDOĞAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Yıl: 2022, Sayfa: 52
Jüri : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ
: Dr. Öğr. Üyesi Benian P. AKTEPE

Pseudomonas syringae pv. *tomato* adlı bakterinin neden olduğu Domateste Bakteriyel Benek Hastalığı verim kayıplarına neden olan önemli bir bakteriyel hastalıktır. Bu çalışmada hastalığın biyolojik mücadelesi araştırılmıştır. Mersin ili Erdemli ve Toroslar ilçesinde domates bitkisinin yetiştiği toprak ve kök örneklerinden 323 adet aday antagonist bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların antimikrobiyal etkileri *in vitro* petri denemeleriyle araştırılmış ve 12 izolat 2.3-11.0 mm inhibisyon zonu oluşturarak patojenin gelişimini baskı altına almıştır. *In vitro* çalışmalarda başarılı bulunan 12 adet antagonistik bakteri izolatu tohum uygulandığında hastalığın çıkışı %33-95 oranında azalttığı ve hastalık şiddetini %28-95 arasında baskıladığı saptanmıştır. Uygulamalar tohum çimlenmesinde olumsuz bir etki yaratmamıştır. En başarılı dört izolatla yapılan ikinci tohum denemesinde hastalık %81-100 oranında baskılanmıştır. MALDI-TOF MS ile yapılan tanı testlerine göre başarılı antagonistler *Bacillus subtilis* türleri, *Bacillus pumilus* ve *Paenobacillus polymyxa* olarak tanımlanmıştır. Yapılan bu çalışmayla, antagonist özellikteki *Bacillus* türlerinin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına başarıyla kullanılabileceği gösterilmiştir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda bu izolatların yan etki denemeleri yapıldıktan sonra bu hastalığın entegre mücadele programına alınabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelime: Domates, Bakteriyel Benek, Antagonist, Tohum Uygulamaları
Biyolojik Mücadele.

ABSTRACT

MSc. THESIS

THE POSSIBILITIES ON BIOLOGICAL CONTROL OF TOMATO BACTERIAL SPECK DISEASE WITH BACTERIAL ANTAGONISTS

Özgür GÜLDOĞAN

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

Supervisor : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
Year: 2022, Pages : 52
Jury : Prof. Dr. Yeşim AYSAN
: Asst Prof Dr Sümer HORUZ
: Asst Prof Dr Benian P. AKTEPE

Bacterial Speck Disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* is an important bacterial disease that causes yield losses on tomatoes. In the study a total of 323 candidate bacterial antagonist strains were isolated from tomato soils and roots in Erdemli and Toroslar districts of Mersin. Antimicrobial effects of the strains were investigated by *In vitro* petri dishes and 12 strains suppressed the growth of the pathogen with the inhibition zones between 2.3 and 11.0 mm. The strains reduced the disease incidence by 33-95% and disease severity by 28-95% when the twelve strains were applied to tomato seeds as biological seed treatments. In the second seed experiment with the most successful strains, the disease was suppressed by 81-100% ratios. The antagonistic strains didn't pose a negative effect on seed germination. The antagonistic bacterial strains were identified as *Bacillus subtilis* species, *Bacillus pumilus* and *Paenobacillus polymyxa* according to MALDI-TOF MS. The research has been shown that *Bacillus* strains can be used successfully against bacterial speck disease of tomatoes. It was concluded that the antagonistic strains can be used in part of an integrated disease management program after side effect experiments are performed.

Key words: Tomato, Bacterial Speck, Antagonist, Seed Treatment, Biological Control

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Domates (*Solanum lycopersicum L.*); dünya çapında en çok üretilen ve tüketilen sebzelerden biridir. Ülkemiz 12,6 milyon ton üretimle dünyanın en önemli domates üreticilerinden biridir. Domates üretiminde; 2018 yılında Antalya 2.410 bin ton domates üretim ile birinci sırada yer alırken, Bursa 1.575 bin ton ile ikinci, Manisa ise 975 bin ton ile üçüncü sırada yer almaktadır. Türkiye’de en yüksek verim, iklim avantajının ve seracılık bölgesi olmasının doğal sonucu olarak Akdeniz Bölgesi’nde alınmaktadır. Ülkemizde domates üretimi 2012 yılına oranla 2018 yılında %7 oranında artmış ve 12.2 milyon tona ulaşmıştır. TÜİK bitkisel üretim istatistiklerine göre 2019 yılında domates üretimi bir önceki yıla göre %5.7 artarak 12.8 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Fide döneminden hasat dönemine kadar 200’den fazla hastalık, domateste ekonomik zarara neden olmaktadır.

Türkiye’de örtü altında sebze yetiştiriciliği 1950’li yıllarda başlamış olup 1990’lı yıllara kademeli bir şekilde ilerlemesine rağmen, 1990’dan sonra hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Örtü altı sebze yetiştiriciliğindeki bitki türleri karşılaştırıldığında en büyük payı domates almaktadır. Ülkemizin tüm tarımsal alanlarında açıkta yetiştiriciliği yapılmasına rağmen örtü altı yetiştiriciliği daha çok Ege ve Akdeniz kıyı şeritlerinde yapılmaktadır.

Pseudomonas syringae pv. *tomato* bitkinin tüm toprak üstü organlarında belirti oluşturabilir. Başlangıçta fidelerde yaprak ve sap kısmında görülen hastalık zaman zaman tüm fidelerin kurumasına yol açabilir. Tarla döneminde çiçek sapında ve meyvelerde de belirti oluşturur. Hastalığın simptomları fide döneminde kotiledon yapraklarda lekler, vejetatif gelişim döneminde yapraklarda sarı bir hale ile çevrili koyu kahverengi-siyah lekeler oluşur ve bu lekeler birleşerek yaprağın kurumasına neden olur. Meyvelerde ise 1 mm çapında yüzeysel lekeler dokunmayla belli olacak kadar dışarı çıkıntılıdır.

Bu çalışmada Mersin ili Erdemli ve Toroslar ilçesi domates yetiştiriciliği yapılan tarla, sera ve ev bahçelerinden domates bitkisinin kök ve kök bölgesinden

alınan örnekler laboratuvara getirilmiştir. Toplanan örneklerden yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen antagonistik bakteri adaylarının *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi *in vitro* petri denemeleriyle ortaya konmuştur. Besi yerinde üç nokta inokulasyonu ile geliştirilen aday antagonistlere 15-20 cm uzaklıktan el pülverizatörüyle patojen bakteri süspansiyonu püskürtülmüştür. Her aday antagonistik izolat, patojen bakteriye karşı üç tekrarlı olarak test edilmiştir. Kontrol olarak üç adet Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerine herhangi bir aday antagonist bakteri aşılması yapılmadan sadece patojen bakteri püskürtmesi yapılmıştır. İnkübatörde 25°C'de 48 saat inkübe edilen petrilere oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülerek kaydedilmiştir. İnhibisyon zonu oluşturan aday antagonist bakteriler *in vivo* tohum denemeleri için seçilmiştir.

In vitro petri denemelerine göre *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi saptanmış 12 adet bakteriyel antagonist tohum denemelerinde kullanılmıştır. Bu antagonistlerin suni olarak *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile bulaştırılmış domates tohumlarındaki hastalığı baskılama oranı tohum denemeleriyle araştırılmıştır. Denemeye alınan 12 adet antagonist içerisinde en başarılı bulunan ve farklı yerlerden izole edilen dört antagonistle tohum sayıları artırılarak ikinci bir deneme daha kurulmuştur. Yapılan denemeler sonucunda 12 antagonistik bakteri izolatının hastalığın çıkışını **%33-95 oranında** azalttığı ve hastalık şiddetini **%28-95 arasında** baskıladığı görülmüştür. Aynı zamanda uygulanan antagonistlerin çimlenmeye etkisinin olup olmadığı da bu kapsamda değerlendirilmiştir. MALDI-TOF MS ile yapılan tanı testlerine göre başarılı antagonistlerin *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* ve *Paenobacillus polymyxa* olarak tanılanmıştır. Yapılan bu çalışmayla, antagonist özellikteki *Bacillus* türlerinin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına karşı başarıyla kullanılabileceği gösterilmiş ve bundan sonraki çalışmalar için de bir veri oluşturmuştur.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince kıymetli bilgilerini benimle paylaşan, değerli zamanını bana ayırıp ilgiyle yardımcı olan, yönlendirici fikirleri ile bana yol gösteren, tez konusunu seçerken isteklerimi göz önünde bulundurup bana yardımcı olan, samimiyeti ve güler yüzü ile daima yanımda olan danışmanım sayın Prof. Dr. Yeşim AYSAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu çalışma süresinde bilgileri, yönlendirmeleri esirgemeyen, istatistiki analizlerimde yardımcı olan ve tezime katkılarından dolayı jüri üyesi Dr. Öğr. Üyesi Benian Pınar AKTEPE'ye teşekkürü borç bilirim. Yüksek lisans çalışmamda jüri üyeliğini kabul etme nezaketinde bulunan Dr. Öğr. Üyesi Sümer HORUZ'a teşekkürümü ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans çalışmalarımda ve eğitim hayatım boyunca desteklerini benden esirgemeyen, maddi manevi daima yanımda olan başta anneme, aileme sonsuz teşekkür ederim.

Labaratuvar çalışmalarımda iş yükümü paylaşmada bana yardımcı olan Zir. Müh. Buse CANPOLAT'a, Öğr. Gör. Dr. Ebru KARNEZ'e ve bakteriyoloji ekip arkadaşlarıma teşekkür ediyorum. Çalışmalarımın istikrarlı bir şekilde devam etmesi için beni teşvik eden ve destekleyen Zir. Müh. Behiye ARIKAN'a teşekkür ediyorum.

Çalışmam sırasında kullandığım antagonist bakteri izolatların MALDI-TOF MS ile tanısını yapan sayın Prof. Dr. Soner SOYLU'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XII
1.GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	7
3. MATERYAL VE METOD	11
3.1. Materyal	11
3.2. Metod:.....	12
3.2.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi ve Virülensliğinin Artırılması	12
3.2.2. Aday Antagonist İzolasyonu İçin Örneklerinin Toplanması.....	12
3.2.3 Aday Antagonist Bakterilerin İzolasyonu ve Saflaştırılması	13
3.2.4. Aday Antagonistlerin <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> 'ya Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi	14
3.2.5. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Kökenli Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi	15
3.2.6. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Çimlenmesine Etkisi.....	17
3.2.7. Bakteriyel Antagonistlerin Tanısı	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	19
4.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi ve Virülensliğinin Artırılması.....	19
4.2. Aday Antagonist İzolasyonu İçin Örneklerinin Toplanması	19

4.3 Aday Antagonist Bakterilerin İzolasyonu ve Saflaştırılması	20
4.4. Aday Antagonistlerin <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> 'ya Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi	21
4.5. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Kökenli Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi.....	23
4.6. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Çimlenmesine Etkisi	26
4.7. Bakteriyel Antagonistlerin Tanısı	29
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	39
EKLER.....	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Türkiye Domates Verileri (bin ton)	2
Çizelge 4.1. Mersin ilinden alınan örnek ve bu örneklerden elde edilen bakteri izolat sayıları	20
Çizelge 4.2. Patojen bakteriye karşı antimikrobiyal madde üreten antagonist izolatlar	22
Çizelge 4.3. Antagonistlerin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi (Birinci Deneme)	24
Çizelge 4.4. Antagonistlerin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi (İkinci Deneme)	25
Çizelge 4.5. Seçilen Antagonistlerin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi (<i>In vitro</i> ve <i>In vivo</i> Denemeler)	26
Çizelge 4.6. Biyolojik Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi (Birinci Deneme)	27
Çizelge 4.7. Seçilen Antagonistlerle Yapılan Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi	27



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1. <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> 'nun domates fide ve yapraklarında oluşturduğu lekeler.....	3
Şekil 3.1. Domates kök bölgesi toprak örneğinin alınması, paketlenmesi ve etiketlenmesi	13
Şekil 4.1. Domates kökünden yapılan izolasyonda gelişen farklı koloni morfolojileri (a) ve saflaştırılan farklı renklerdeki bakteri izolatlarının besi yerindeki gelişimi (b)	21
Şekil 4.2. YL4-3 kodlu izolatın <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i> 'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu.....	23



SİMGELER VE KISALTMALAR

cm	: Santimetre
gr	: Gram
TSA	: Tryptic Soy Agar
NA	: Nutrient Agar
kg	: Kilogram
µl	: Mikrolitre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
ppm	: Parts per million
pv	: Pathovar
YDC	: Yeast Deskstroz Kalsiyum Karbonat
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde
dk	: dakika
LSD	: Least Significant Difference
dv	: Devir
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
NaCl	: Sodyum Klorür
HR	: Hipersensitivite reaksiyon, aşırı duyarlılık reaksiyon
LOPAT	: Levan, Oksidaz, Pektinolitik aktivite, Arginin dehidrolizasyonu, Tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu



1. GİRİŞ

Domates bitkisi (*Solanum lycopersicum L.*) *Solanaceae* familyası içerisinde yer alan ve anavatanı Güney Amerika'nın batı sahillerindeki yüksek dağların yer aldığı ve Orta Amerika olan bölgedir. Otsu bir bitki olan domates meyvesi yenebilen bir bitki türü olmasına rağmen 1893 yılında Amerika Birleşik Devletleri mahkemeleri tarafından sebzelerle birlikte muhafaza edilip tüketildiğinden sebze olarak sınıflandırılmıştır. 16. yüzyılda Avrupa'ya, 18. yüzyılda buradan Kuzey Amerika'ya getirildiği, ardından tüm dünya üzerine yayıldığı kabul edilmektedir (Anonim, 2021a). Günümüzde taze ve işlenmiş veya kurutulmuş olarak tüketilen yüzlerce farklı özellik ve tipte domates çeşidi tüm dünyada yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre örtü altında sebze yetiştiriciliği 1950'li yıllarda başlamış olup 1990'lı yıllara kademeli bir şekilde ilerlemesine rağmen, 1990'dan sonra hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Örtü altı sebze yetiştiriciliğindeki bitki türleri karşılaştırıldığında en büyük payı domates almaktadır. Ülkemizin tüm tarımsal alanlarında açıkta yetiştiriciliği yapılmasına rağmen örtü altı yetiştiriciliği daha çok Ege ve Akdeniz kıyı şeritlerinde yapılmaktadır (Anonim., 2021b).

Önemli bir besin kaynağı olan domates vitamin ve mineral maddelerce zengindir. 100 gr. taze domates; 20-23 kalori, 1 gr protein, 0.3 gr yağ, 0.6 gr kül, %93.8-96.0 su, 4 gr karbonhidrat, %2-3.5 şeker, 0.6 gr selüloz, 7.21 mg kalsiyum, 17-28 mg fosfor, 0.6 mg demir, 1000-1100 IU A vitamini, 264-314 mg potasyum, 19-20 mg magnezyum, 24 -69 mg klor, 17-28 mg fosfor, 3-10 mg sodyum, 0.5-0.8 mg niacin, 20-28 mg C vitamini, 0.09 mg thiamin, 0.03 mg riboflavin, 0.40-0.80 mg K vitamini içerir. (Anonim., 2022c)

Türkiye'de domates üretimi 2019 yılında 12.84 milyon ton olan üretim, 2020 yılında %2.8 oranında artarak 13.2 milyon tona yükselmiştir (Çizelge1.1). Antalya 2020 yılında 2.6 milyon ton domates üretimi (%19.5) ile birinci sırada yer

alırken, Bursa 1.3 milyon ton (%10.1) ile ikinci, Manisa (%8.5) ise 1.1 milyon ton ile üçüncü sırada yer almaktadır.

Çizelge 1.1. Türkiye Domates Verileri (bin ton) (Anonim, 2021d)

	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19	2019/20
Üretim	12.615	12.600	12.750	12.150	12.842
Tüketim	9.340	9.284	9.443	9.013	9.511
Kişi Başına Tüketim (kg)	118.6	116.3	116.9	109.9	114.4

Birçok kültür bitkisinde olduğu gibi domates yetiştiriciliğinde de hastalık ve zararlılar mevcuttur. Domates bitkisinde hastalığa neden olan pek çok bakteriyel, fungal ve viral etmen sorun oluşturmaktadır. Domateste görülen başlıca bakteriyel hastalıklar: Bakteriyel Solgunluk (*Ralstonia solanacearum*), Domates Bakteriyel Kanser ve Solgunluk (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), Domateste Bakteriyel Leke (*Xanthomonas vesicatoria*, *Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas perforans* ve *Xanthomonas gardneri*), Domateste Bakteriyel Benek (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*)’tir. Domates Erken Yaprak Yanıklığı (*Alternaria solani*), Mildiyö (*Phytophthora infestans*), Domates Yaprak Küfü (*Cladosporium fulvum*), Domateste Külleme (*Leveillula taurica*), Domateste Kök Çürüklüğü (Çökerten) (*Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Sclerotinia* spp., *Phytophthora* spp.), Domateste Kurşuni Küf (*Botrytis cinerea*) ise fungal hastalıklardır. Bakteriyel ve fungal etmenlere göre daha az hastalığa neden olan viral etmeler ise Domates Lekeli Solgunluk Virüsü (TSWV) (Tomato spotted wilt tospovirus), Domates Mozaik Virüsü (ToMV) (Tomato mosaic tobamovirus) Domates Sarı Yaprak Kıvrıcıklık Virüsü (TYLCV) (Tomato yellow leaf curl virüs)’dür.

Bitkisel üretim faaliyetleri açısından önemli bir paya sahip olan domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye ve Wilkie’nun, neden olduğu Domates Bakteriyel Benek Hastalığı domatesin pazar değerini düşüren ve

verimi azaltan bakteriyel bir hastalıktır (McCarter ve ark., 1983; Devash ve ark., 1980; Miller ve Jones, 2014). *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* domates yapraklarında gövde ve meyvelerde kara lekeye yani nekroza neden olan Gram negatif bir bakteridir (Jones ve ark., 1991).

Pseudomonas syringae pv. *tomato* bitkinin tüm toprak üstü organlarında belirti oluşturabilir. Başlangıçta fidelerin kotiledon yapraklarında görülen hastalık gerçek yapraklara ve sap kısmına sıçrar ve ilerleyen zamanda tüm fidelerin kurumasına yol açabilir. Şekil 1.1’de görüldüğü gibi gerçek yapraklarda sarı bir hale ile çevrili koyu kahverengi-siyah lekeler oluşur ve bu lekeler birleşerek yaprağın kurumasına neden olur. Tarla döneminde yaprak, yaprak sapı, çiçek, çiçek sapında ve meyvelerde de belirti oluşturur. Meyve belirtileri 1 mm çapında yüzeysel lekeler dokunmayla belli olacak kadar dışarı çıkıntılıdır. Etmen özellikle yeşil meyveleri hastalandırır. Özellikle örtü altında yapılan domates yetiştiriciliğinde, gövde ve yan dallardaki lekeler kahverengi-siyah renkte uzunca ve yüzeyseldir. Turfanda domates yetiştiriciliğinde en önemli zarar çiçeklerde görülür ve hasta çiçeklerin ölümüyle meyve tutumunu engelleyeceğinden büyük ürün kayıpları oluşur (Miller ve Jones., 2014; Aysan ve Saygılı, 2019).



Şekil 1.1. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*’nun domates fide ve yapraklarında oluşturduğu lekeler

Pseudomonas syringae pv. *tomato* 13-28°C arası sıcaklıkta ve yüksek nemde gelişerek yayılır ve erken dönemde enfekte olan bitkiler ortalama % 75, gelişim döneminin sonunda enfekte olan bitkiler ise yaklaşık % 5'lik bir ürün kaybına neden olur (Yunis ve ark., 1980). Hastalık tohum kaynaklı olarak ya da daha önceki ürünlerden tarlada kalan hastalıklı bitki artıklarından bulaşma ile sağlıklı fidelerin enfeksiyonu başlar. Bulaşma sonucunda hastalık etmeni bulaşık fideler aracılığıyla tarlaya aktarılır, etmen uygun koşullar olduğunda epidemilere yol açar. Toprak üstü aksamdaki enfekteli bulaşık bitki artıklarından sağlıklı bitkiye giriş yaralardan olur (Aysan ve Saygılı, 2008; Miller ve Jones, 2014).

Bakteriyel etmenler tarafından enfekte edilen bitkilerdeki ekonomik kayıpların önüne geçmek veya baskı altında tutmak bazen oldukça zordur. Çevresel koşullar hastalık gelişimini desteklediğinde standart tedaviler her zaman etkili değildir (Jardine ve Stephens, 1987). Patojen bakterinin kısa sürede değişkenlik göstermesi, farklı mutasyonların oluşumu, kullanılan kimyasallara direnç oluşumu gibi etkenlerin yanı sıra uygun iklim koşullarında patojen bakterinin yüksek üreme gücü de ayrı bir etkidir. Bu nedenlerle bakteriyel hastalık mücadelesinde en başarılı yol kültürel önlemler, tohum uygulamalar (Horuz ve ark, 2018), kimyasal (Jardine ve Stephens, 1987; Saad ve Hassan, 2000) ve biyolojik mücadeleyi kapsayan entegre mücadele yöntemlerinin kullanılmasıdır (Jones ve ark., 2007). Entegre mücadele uygulamalarıyla farklı mücadele teknikleri bir arada kullanılarak geleneksel pestisitlerin kullanımını azaltılır böylece tarımın yapıldığı ekolojik çevreye daha az zarar verilir, ekonomik kazanç sağlanır ve tarımın sürdürülebilir olmasına katkı verilir. Biyolojik mücadele günümüzde ekolojik dengenin korunabilmesi açısından stratejik önem arz eden önemli bir konuma gelmiştir.

Yapılan bu yüksek lisans tez çalışmasında domatesin tamamen kendi habitatından, ticari olarak domates yetiştiriciliği yapılan tarla, sera ve ev bahçelerinde yetiştirilen domates bitkilerinin kök ve kök bölgesi toprağından antagonist bakteriler izole edilmiş ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığının biyolojik mücadelesinde antagonist

bakterilerin kullanım olanakları araştırılmıştır. *In vitro* koşullarda yapılan ikili kültür testleriyle 323 adet aday antagonist içinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olanlar tespit edilmiş ve *in vivo* testlerle seçilen 12 adet antagonist bakterinin hastalığın çıkış oranını ve hastalık şiddetine etkisi ortaya konmuştur. Ayrıca antagonist bakterilerin domates tohumlarının çimlenmesi üzerindeki etkisi de araştırılmıştır.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun mücadelesi hatta biyolojik mücadelesi üzerine uzun yıllardır oldukça çok sayıda araştırma yapılmıştır. Ancak bu çalışmaların sayısının fazla olmasından dolayı bu bölümde son 20 yılda yapılan çalışmalara yer verilmiştir.

Wilson ve ark., (2002) Amerika Birleşik Devletleri'nin Alabama ve Florida eyaletlerinde Kanada'nın Ontario eyaletinde 10 farklı tarlada yaptıkları çalışmada *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığının mücadelesinde antagonist bakteri *Pseudomonas fluorescens* strain A506, *Pseudomonas syringae* strain TLP2 ve *Pseudomonas syringae* Cit7'yi kullanmışlardır. *Pseudomonas syringae* Cit7 en etkili antagonist olarak belirlenmiş ve hastalığı tek başına 10 tarlada da %28'in üzerinde baskıladığı belirtilmiştir. *Pseudomonas fluorescens* strain A506 da hastalık şiddetini %18'in üzerinde engellediğini saptamışlardır.

Bashan ve de-Bashan (2002) tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu baskılamak için tohuma kimyasal ve fiziksel uygulama yanında antagonist bakteri *Azospirillum brasilense* uygulamışlardır, antibiyotik (streptomisin sülfat) ve ticari bakırlı bileşiklerin etkisini araştırmışlardır. Hiçbir uygulama tek başına tamamen hastalığı baskılayamazken kombinasyon halinde uygulandığında daha başarılı olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma entegre mücadelenin önemini vurgulamaktadır.

Obradovic ve ark., (2005) Bakteriyel Benek Hastalığının mücadelesinde *Bacillus pumilus* B122, *Pseudomonas fluorescens* B130, *Pseudomonas syringae* Cit7, *Pseudomonas putida* B56, harpin protein (Messenger, ticari ürün), acibenzolar-S-methyl (Actigard, ticari ürün), bakteriyofaj (Agriphage, ticari ürün) ve bakır hidroksit (Kocide, ticari ürün)'i kullanmışlardır. Bakıra dirençli bir popülasyonun olmadığı durumda bakır hidroksitin oldukça etkili olduğunu bunu acibenzolar-S-methyl'in takip ettiğini bildirmişlerdir.

Ji ve ark., (2006) domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu baskı altına almak için antagonist bakterilerden *Bacillus pumilus* SE34, *Pseudomonas fluorescens* 89B-61 ve *Pseudomonas syringae* Cit7 kodlu izolatlarını köke, tohuma ve yeşil aksama uygulamışlardır. Hastalığın %12-%83 düzeyinde baskılandığını ve bu antagonist mikroorganizmaların bitkinin büyümesini teşvik eden kök bakterileri olduğunu bildirmişlerdir.

Silva ve ark., (2008) *Acinetobacter johnsonii*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Paenibacillus macerans* ve *Staphylococcus aureus* adlı antagonist bakterileri tohuma uygulayarak tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu %44 oranında kontrol altına almışlardır.

Weller ve ark., (2012) 2,4-diacetylphloroglucinol (2,4-DAPG) adı verilen bir antibiyotik üreten *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 adlı bir antagonist bakteriyi domates bitkilerinde sistemik dayanıklılığı uyarmak için kullanmışlar ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığını başarıyla baskı altına almışlardır. Bu biyolojik mücadele elemanının sadece bu hastalığın değil toprakta ve yeşil aksamda yaşayan diğer bakteriyel ve fungal patojenlerin mücadelesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Niu ve ark., (2012) *Bacillus cereus* AR156 nolu antagonist bakteriyi *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* mücadelesinde yeşil aksama püskürttüklerinde hastalık şiddeti %27 olarak belirlenirken kontrol bitkilerde %45 olduğunu saptamışlardır. Bu antagonist bakteri izolatu daha önce yaptıkları çalışmalarda yine bir domates bakteriyel hastalık etmeni olan *Ralstonia solanacearum* ve kök ur nematodu olan *Meloidogyne incognita* mücadelesinde de başarılı olduğunu belirlemişlerdir. Bu antagonist bakteri domates bitkilerinde dayanıklılık mekanizmasını harekete geçiren genler olan PR1 ve Pin2'yi aktive ettiğini bildirmektedirler.

Fousia ve ark., (2016) *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* mücadelesinde yeşil aksam uygulaması olarak *Bacillus subtilis* QST 713 nolu antagonist bakteri ve bakır hidroksit uygulamalarını karşılaştırmışlardır. Sadece patojen bakteri

uygulanan kontrol bitkilerinde hastalık %25, bakır hidroksit uygulanan bitkilerde %13 ve antagonist bakteri *Bacillus subtilis* QST 713 uygulanan bitkilerde %5 olarak kaydedilmiştir. *Bacillus subtilis* QST 713 uygulaması bitkide dayanıklılık mekanizmasını aktive eden patogenezele ilgili proteinleri (PR1a, PR1b ve Pin2) aktive ettiğini moleküler testlerle kanıtlamışlardır.

Lanna-Filho ve ark., (2017)'nin yaptığı araştırmada *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* mücadelesinde endofitik yaşayan *Bacillus pumilus* ve *Bacillus amyloliquefaciens* antagonist bakterileri kullanıldığında bitkide dayanıklılık mekanizmasının teşvik edildiğini göstermişler ve bitkide peroxidase, polyphenol oxidase ve phenylalanine ammonia-lyase enzimleri aktive olduğundan Bakteriyel Benek Hastalığı 62% oranında baskılanmıştır.

Liu ve ark., (2017) 28 farklı *Bacillus* ve *Paenibacillus* cinsine ait antagonist bakteriyi, içinde *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun da yer aldığı domateste fungal ve bakteriyel hastalıkların mücadelesinde kullanmışlardır. Antagonist izolatlarından beşi geniş etki spektrumuna sahip olarak hastalıkları oldukça iyi bir şekilde kontrol altına almıştır. Biyolojik mücadele ve dayanıklılığın uyarılmasında tek bir antagonist yerine farklı izolatların karışım halinde uygulanmasını önermişlerdir.

McLeod ve ark., (2017) Güney Afrika'nın Limpopo bölgesinde bakıra direnç geliştirmiş *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonu ile mücadelede bitkide dayanıklılık mekanizmasını uyarıcı acibenzolar-S-methyl (ASM) kombinasyonu ve ASM ile biyolojik mücadele elemanlarından *Bacillus subtilis* ve *Microbacterium maritropicum* adlı antagonist bakterilerin kombinasyonunu kullanmışlardır. Bitkide hastalıklara karşı dayanıklılığın uyarılması ve biyolojik mücadele preparatlarının kullanımı bakırlı bileşiklere göre daha başarılı uygulamalar olarak saptanmıştır. Özellikle bakıra direnç geliştirmiş patojen popülasyonunun kontrol altına alınmasında biyolojik mücadelenin önemini vurgulamışlardır.

Çemen ve ark., (2018) domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* adlı bakterinin neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığının biyolojik mücadelesinde 47 farklı bakteriyofajı tohuma uygulamışlar ve bir fajın tohum kökenli hastalığı tamamen, diğerlerinin ise %15-66 oranında hastalığı baskıladığını saptamışlardır. Ülkemizde bu hastalığın biyolojik mücadelesinde faydalı virüslerin kullanıldığı ilk çalışma olduğunu bildirmişlerdir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Patojen Bakteri İzolatı: Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan ve Prof. Dr. Yeşim Aysan tarafından *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olarak tanılanan YA-845 kodlu izolat bu çalışmada patojen olarak kullanılmıştır.

Aday Antagonist Bakteri İzolatları: Bu çalışma kapsamında, Mersin ili Erdemli ve Toroslar ilçesinde ziyaret edilen domates üretim alanlarından izole edilen 323 adet ve Ziraat Mühendisi Buse Canpolat'ın lisansüstü tez çalışmasında elde ettiği 14 adet olmak üzere toplam 337 adet bakteri izolatı aday antagonist olarak kullanılmıştır.

Besi Yerleri: Çalışmada bakterilerin izolasyonu ve çoğaltılması işlemlerinde Nutrient Agar (NA) (13 gr/lt, Merck 1.05450.0500), Tryptic Soy Agar (TSA) (40 gr/lt, Merck 1.05458.0500), bakteri izolatlarının saklanması Yeast Dekstrozu Kalsiyum Karbonat Agar (YDC) (yeast extract 10 g/lt, dextrose 20 g/lt, kalsiyum karbonat 20 g/lt, agar 15 g/lt), floresan pigment üretiminin belirlenmesinde King B (KB) (20 g proteose peptone, 10 ml gliserin, 1,5 g K₂HPO₄, 1,5 g MgSO₄·7H₂O, 15 g agar, 1000 ml distile su) besi yeri kullanılmıştır.

Domates Fidesi: Patojenite çalışmasında Hishtil Toros fidecilikten temin edilen Alaturka F1 çeşidi 3-5 yapraklı dönemdeki domates fideleri kullanılmıştır.

Domates Tohumu: Tohum denemelerinde Arzuman Tohumculuk firmasına ait kimyasallarla ilaçlanmamış standart bir çeşit olan Rio-grande çeşidine ait domates tohumu kullanılmıştır.

Torf: Tohum denemelerinde Terra Dena firmasına ait torf bitki yetiştirme ortamı kullanılmıştır.

Kullanılan Alet ve Ekipmanlar: Besi yeri hazırlanmasında saf su cihazı, hassas terazi, pH metre, otoklav, mikrodalga fırın, sıcak su banyosu ve pipetörler kullanılırken bakteri izolasyonu, çoğaltımı ve saklanması erlen çalkalayıcı,

steril kabin, etüv, inkübatör ve buzdolabı kullanılmıştır. Tohum ve bitki denemelerinde saksılar, plastik küvetler, torf, toprak ve püskürtme tabancası kullanılmıştır.

3.2. Metod:

3.2.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi ve Virülensliğinin Artırılması

Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan YA-845 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatı derin dondurucudan çıkarılıp üç adet TSA besiyeri yerine bagetle yayma şeklinde ekilmiştir. Bakteri ekimi yapılan petriler 25°C'deki inkübatörde 48 saat bekletildikten sonra gelişen tek bir koloni alınıp saflaştırılmıştır. Uzun süre derin dondurucuda saklanan patojen bakterinin virülensliği azalabileceğinden bu izolatın virülensliğinde artış sağlamak amacıyla domatesta patojenite testi yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). YA-845 kodlu izolatın 48 saatlik kültüründen hazırlanan 10^6 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon, domates fidelerine püskürtme tabancasıyla yaprak altından püskürtülerek bulaştırılmıştır. İklim odasında (22°C'de, %75 nem, 8/16 saat aydınlık/karanlık) muhafaza edilen domates bitkilerinin yapraklarında benek belirtileri gözlemlendikten sonra bakteriyolojik tekniklere göre tek bir lekeden patojen bakteri izolasyonu yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Koch postulatı aşamaları tamamlandıktan sonra virülensliği artırılmış YA-845 kodlu izolatın gram reaksiyonu, KB besiyerinde floresan pigment üretimi ve LOPAT karakterleri (Lelliott ve Stead, 1987) belirlendikten sonra ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere eğik olarak hazırlanmış YDCA besiyerinde saklanmıştır.

3.2.2. Aday Antagonist İzolasyonu İçin Örneklerinin Toplanması

Mersin ili Erdemli ve Toroslar ilçeleri sınırları içinde yer alan, ticari olarak domates yetiştiriciliği yapılan 18 farklı alan Ağustos-Ekim 2021 tarihleri arasında ziyaret edilmiştir. Ayrıca domates yetiştirilen altı adet ev bahçesinde de inceleme yapılmıştır. Domates üretim alanlarında diğerlerine göre gelişimi daha iyi olan

domates bitkileri kökünden sökülmüş ve kök ile kök bölgesi toprağı kese kağıtlarına yerleştirilmiştir. Her bir örneğin alındığı yer, üretici ismi ve domates çeşidi not edilerek etiket bilgileri oluşturulmuştur. Toplanan örnekler serin bir şekilde muhafaza edilerek mümkün olan en kısa zamanda Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarına getirilmiştir.



Şekil 3.1. Domates kök bölgesi toprak örneğinin alınması, paketlenmesi ve etiketlenmesi

3.2.3 Aday Antagonist Bakterilerin İzolasyonu ve Saflaştırılması

Mersin ili Erdemli ve Toroslar ilçelerinden toplanan 18 adet örnek kök ve kök bölgesi toprağı olarak ikiye ayrılmış ve toplam 36 adet örnekten aday antagonist izolasyonu yapılmıştır. Domates kök bölgesindeki toprak partikülleri temizlenip kılcal köklerden parçalar alınmıştır. Her bir üretim alanından elde edilen kılcal kökler birleştirilmiş ve paçal yapılarak 10 gr kökten izolasyonlar yapılmıştır. Kök bölgesi toprağı ise gazete kâğıdı üzerine serilerek oda sıcaklığında kurutulmuş ve ardından 0.2 mm deliklere sahip elekten geçirilmiştir. Bir üretim alanından elde

edilen toprak örnekleri birleştirilerek tek bir örnek haline getirilmiş ve 10 gr topraktan bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzolasyona hazır hale gelen 10'ar gr'lık toprak ve kök örnekleri 90 ml Saline Buffer (%085 NaCl çözeltisi) içerisinde oda sıcaklığında 200 dev/dak'da çalışan çalkalayıcıda en az 3 saat çalkalanmıştır. Çalkalanan örneklerden 1ml alınarak 9ml salin buffer içeren tüplere seyreltme serileri hazırlanmıştır. Her bir seyretmeden 100µl alınarak 3 tekrarlı olacak şekilde TSA besiyeri yerine ekim yapılmıştır. Petrilerin 25°C'de 48 saat inkübasyonundan sonra gelişen koloniler incelenerek şekilsel ve renksel olarak farklı morfolojik gelişim gösteren tek kolonilerden TSA besiyeri yerine saflaştırmalar yapılmıştır.

3.2.4. Aday Antagonistlerin *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmanın bu kısmında domates köklerinden ve domates yetiştirilen topraktan izole edilen 323 adet aday antagonist ve Ziraat Mühendisi Buse Canpolat'ın lisansüstü tez çalışmaları kapsamında *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış olan 14 adet bakteri izolatu kullanılmıştır. Bu aday antagonistlerin patojen bakteri *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi *in vitro* petri denemeleriyle ortaya konmuştur. Aday antagonistler TSA besiyeri yerine üç nokta inokulasyonu ile ekilip (Mitchell, 1992; Horuz ve Aysan, 2018) 25°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Benzer şekilde, besiyerinde 48 saatlik taze geliştirilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatının spektrofotometre yardımıyla 10^6 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyonu hazırlanmıştır. Besiyerinde üç nokta inokulasyonu ile geliştirilen aday antagonistlere 15-20 cm uzaklıktan el pülverizatörüyle patojen bakteri süspansiyonu püskürtülmüştür. Her aday antagonist izolatu patojen bakteriye karşı üç tekrarlı olarak test edilmiştir. Kontrol olarak üç adet TSA besiyeri yerine herhangi bir aday antagonist bakteri aşılması yapılmadan sadece patojen bakteri püskürtmesi yapılmıştır. İnkübatörde 25°C'de 48 saat inkübe edilen petrilere oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülerek

kaydedilmiştir. İnhibisyon zonu oluşturan aday antagonist bakteriler *in vivo* tohum denemeleri için seçilmiştir.

3.2.5. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Kökenli Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi

Çalışmanın bu kısmında, *in vitro* petri denemelerine göre *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi saptanmış 12 adet bakteriyel antagonist kullanılmıştır. Bu antagonistlerin suni olarak *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile bulaştırılmış domates tohumlarındaki hastalığı baskılama oranı tohum denemeleriyle araştırılmıştır. Denemeye alınan 12 adet antagonist içerisinde en başarılı bulunan ve farklı yerlerden izole edilen dört antagonistle tohum sayıları artırılarak ikinci bir deneme daha kurulmuştur.

Domates Tohumlarının Patojen bakteriyle Bulaştırılması: YA-845 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatu TSA besiyerinde 25°C'de 48 saat geliştirildikten sonra Aktepe (2021)'e göre yaklaşık 2.9×10^6 hücre/ml (dansiyometre 1.27 değerinde) yoğunluğunda bir süspansiyon hazırlanmıştır. Herhangi bir kimyasalla ilaçlanmamış domates tohumları hazırlanan bu patojen bakteri süspansiyonuna 30 dakika süreyle daldırılarak bulaştırılmıştır (Horuz ve ark., 2018; Karabüyük ve Aysan., 2019). Tohumlar patojen bakteriyle bulaştırıldıktan sonra tülbentten geçirilerek süzölmüş ve 20x20 ebatlarında tahta çerçeveler üzerine yayılarak bulaştırma işlemi tamamlanmıştır. Negatif kontrol uygulaması olarak ilk denemede 105, ikinci denemede 150 adet domates tohumu sadece steril suya daldırılmış ve ekimi yapılmıştır.

Aday Antagonistlerin Tohuma Uygulanması: *In vitro* denemelerde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenen 12 adet antagonistin 48 saatlik taze kültüründen dansiyometreyle (2.0 değerinde) süspansiyonları ayrı ayrı hazırlanmıştır. Yaklaşık bir saat önce patojenle bulaştırılmış domates tohumları hazırlanan antagonist süspansiyonuna 30 dakika süre ile daldırılarak muamele edilmiştir. Bu süre sonunda süzgeçle süzülen antagonistlerle uygulama görmüş

bulaşık tohumlar steril torfla dolu plastik küvetlere ekilmiştir. İlk denemede, her bir antagonist uygulaması için 3 tekrar ve her tekrarda 35 tohum olacak şekilde deneme kurulmuştur. Her bir antagonist için toplamda 105 adet tohum kullanılmıştır. İkinci denemede yine 3 tekrar, her tekrarda 50 tohum olmak üzere her uygulama için 150 tohum kullanılarak deneme kurulmuştur. Uygulama görmüş tohumların ekildiği küvetler %75 nem ve $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Yaklaşık olarak 14 gün sonra çimlenen tohumlardan gelişen fidelerin kotiledon yaprakları günlük olarak incelenerek pozitif kontrole ait uygulamada gözle görülür Bakteriyel Benek Hastalığı belirtileri oluştuğunda değerlendirme yapılmıştır.

Değerlendirme: Tohumlar çimlendikten sonra pozitif kontrol uygulamasındaki fidelerin kotiledon yapraklarında lekeler ortaya çıktığında bitkiler hasta olarak kabul edilmiştir. Her bir antagonist bakteri uygulamasında hasta bitki sayıları çimlenen bitki sayılarına bölünerek her tekerrürün hastalık %'si hesaplanmıştır. Hastalık yüzdesi ortalamaları antagonist bakterinin % kaç etkili olduğunu bulmada yardımcı olmuştur. Bu etki Abbott formülü ($\% \text{ etki} = (\text{kontrol} - \text{uygulama}) / \text{kontrol} \times 100$) kullanılarak yapılmıştır (Karman, 1971). Bu hesaplama sonucunda antagonistin fide üzerindeki hastalık çıkışına etkisi % olarak hesaplanmıştır. Antagonist bakterinin fidelerde oluşturduğu hastalık şiddetini değerlendirirken Aysan (1999b) tarafından geliştirilen 0-3 skalası (0: kotiledonlarda leke yok, 1: kotiledonlarda 1 leke var, 2: kotiledonlarda 2 veya 3 leke var, 3: kotiledonlarda 4 ve daha fazla leke var) kullanılmıştır. Değerlendirme yapıldıktan sonra her uygulamanın bir tekerrüründeki hasta bitkilerden bir adet hastalıklı yaprak örneği alınarak oluşan belirtilerden patojen bakteri izolasyonu yapılarak Tütünde Aşırı Duyarlılık Testi (HR) ile hastalık belirtilerinin *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'dan kaynaklandığı ispatlanmıştır.

Elde edilen skala değerleri, Townsend-Heuberger formülü kullanılarak % hastalık şiddeti değerlerine dönüştürülmüştür (Karman, 1971). Uygulamalarının hepsinin % hastalık şiddeti oranları hesaplanmıştır. Antagonist bakterilerin hastalık şiddetini azaltma oranı Abbot formülü ile hesaplanmıştır.

Yapılan uygulamalar arasındaki istatistiki farklar ANOVA istatistikî programında LSD çoklu karşılaştırma testi ile ($p \leq 0.05$) uygulamalar arasındaki farklılıklar ortaya konulmuştur.

3.2.6. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Çimlenmesine Etkisi

Tohuma yapılan uygulamalarda ilaçsız domates tohumları plastik küvet içindeki steril torflara ekilerek uygun koşullarda çimlenmeleri sağlanmıştır. 14 gün sonunda kotiledon yapraklar oluştuktan sonra steril torflara ekilen ve çimlenen tohum sayıları not edilmiştir. Antagonist uygulamaları yapılmış tohumların çimlenme %'si hesaplanarak pozitif kontroldeki çimlenme %'si ile karşılaştırılmıştır. Antagonistlerin çimlenmeye % etki Abbott formülüne göre hesaplanmıştır. Anova istatistik programında LSD çoklu karşılaştırma testinde $p \leq 0.05$ önem düzeyinde uygulamalar arasındaki istatistiki farklar hesaplanmıştır.

3.2.7. Bakteriyel Antagonistlerin Tanısı

Denemede kullanılan antagonistlerin tanısı Tryptic Soy Agar (TSA) besi yerine çizildikten ve 48 saatlik inkübasyon sonrası MALDI-TOF MS ile yapılmıştır. Günümüzde mikroorganizmaların tanısında yaygın olarak kullanılan MALDI-TOF MS teknolojisi ile antagonist bakterilerin tanısı Prof. Dr. Soner SOYLU'nun denetiminde Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır. MALDI-TOF MS' de mikroorganizmaların protein yapılarının kütle spektrometresindeki izolasyonu ve m/z değerlerine göre bulunan spektraların grafiksel görüntülerinin sistemin kendi veri tabanındaki referans organizmalara uyumuna göre mikroorganizmaların cins ve türleri tanımlanmaktadır (Pavlovic ve ark., 2012).



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Patojen Bakteri İzolatının Geliştirilmesi ve Virülensliğinin Artırılması

Patojen bakteri, YA-845 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatından hazırlanan 10^6 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon domates fidelerinin yaprak altına püskürtüldükten sekiz gün sonra etrafı sarı hale ile çevrili siyah lekeler tipik Bakteriyel Benek Hastalığı belirtileri gözlenmiştir. Bakteriyolojik tekniklere göre tek bir lekeden patojen bakteri izolasyonu yapılmış ve virülensliği artırılmış bu izolatın dört adet saf kültürü elde edilmiştir. Patojen bakterinin gram negatif, floresan tipte koloni oluşturduğu ve LOPAT karakterine (+ - - - +) göre *Pseudomonas syringae* olduğu teyit edilmiştir. Patojenite testiyle de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olduğu bdlirlenmiştir.

4.2. Aday Antagonist İzolasyonu İçin Örneklerinin Toplanması

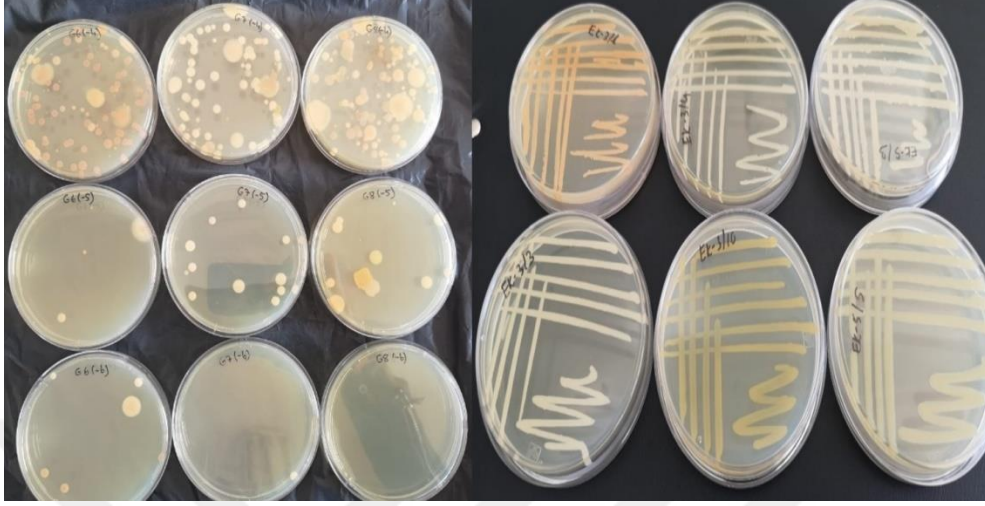
Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi aday antagonist bakteri izolasyonu için, Mersin ilinin Erdemli ilçesinde domates yetiştirilen iki seradan ve altı tarladan toprak ve kök örneği alınırken Toroslar ilçesinde domates yetiştirilen bir sera, üç tarla ve altı ev bahçesinden 10 adet toprak ve 10 adet kök örneği alınmıştır. Mersin ilinin Erdemli ve Toroslar ilçelerinden üçü sera, dokuzu tarla ve altısı ev bahçesinden olmak üzere toplam 36 adet toprak ve kök örneği toplanmıştır.

Çizelge 4.1. Mersin ilinden alınan örnek ve bu örneklerden elde edilen bakteri izolat sayıları

Örnekler		Kök Örneği	Toprak Örneği	Kökten İzole Edilen Bakteri	Topraktan İzole Edilen Bakteri
Erdemli	Sera	2	2	16	20
	Tarla	6	6	54	68
	Ev bahçesi	-	-	-	-
Toroslar	Sera	1	1	7	11
	Tarla	3	3	22	28
	Ev bahçesi	6	6	46	51
Toplam		18	18	145	178

4.3 Aday Antagonist Bakterilerin İzolasyonu ve Saflaştırılması

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi, Mersin ilinden alınan 36 adet toprak ve kök örneğinden bakteriyolojik tekniklere göre yapılan izolasyon işlemi sonunda farklı morfolojik karaktere sahip toplam 323 adet aday antagonist bakteri izolatu saflaştırılmıştır (Şekil 4.1). Bu izolatların 70 adedi Erdemli ilçesinden alınan kök örneklerinden, 88 adedi ise toprak örneklerinden izole edilmiştir. Toroslar ilçesinden alınan kök örneklerinden 75 adet ve toprak örneklerinden 99 adet olmak üzere bu ilçeden 174 adet aday antagonist saf olarak elde edilmiştir. Mersin ilinden izole edilen 323 aday antagonistin 145 adedi domates bitkisinin kök bölgesinden ve 178 adedi domates üretimi yapılan topraktan izole edilerek saflaştırılmıştır.



Şekil 4.1. Domates kökünden yapılan izolasyonda gelişen farklı koloni morfolojileri (a) ve saflaştırılan farklı renklerdeki bakteri izolatlarının besi yerindeki gelişimi (b)

4.4. Aday Antagonistlerin *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya Antibakteriyel Etkisinin Belirlenmesi

Domates köklerinden ve domates yetiştirilen topraktan izole edilen 323 adet aday antagonist ve *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış 14 adet bakteri izolatı olmak üzere toplam 337 adet aday antagonist bakteriyle yapılan *in vitro* petri denemelerinde, 12 izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi saptanmıştır. Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de görüldüğü gibi, TSA besi yerinde oluşan inhibisyon zonları ortalamasının 2.3 ile 11.0 mm arasında değiştiği saptanmıştır. *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış dört izolat *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nın da besi yerinde gelişimini baskı altına almıştır. Mersin ili Erdemli ilçesinden beş izolat ve Toroslar ilçesinden iki izolatın antibakteriyel özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu yüksek lisans tezinde izole edilen antagonist özellikteki yedi bakteriyel izolatın beşi topraktan ikisi kökten elde edilmiştir.

Çizelge 4.2'de görüldüğü üzere, Erdemli'de domates yetiştirilen topraktan izole edilen OG/6-8 kodlu izolat 11.00 mm, *Xanthomonas* türlerine antagonist

özelliği saptanmış AE/2-6 kodlu izolat 10.60 mm ve YL/4-3 kodlu izolat 10.00 mm, Toroslar'da yetiştirilen domates kökünden izole edilen KG/8-9 kodlu izolat 9.60 mm, yine Erdemli'de domates yetiştirilen topraktan izole edilen OG/6-14 kodlu izolat 9.30 mm inhibisyon zonu oluşturarak besi yerinde patojenin gelişimini engellemiştir. OG/7-1, Suruç/4-3, OG/7-13 ve YL/5-3 kodlu izolatlar sırasıyla ortalama 7.60, 7.60, 7.30 ve 6.00 mm inhibisyon zonu oluştururken TOH/4, OG/6-7 ve KG/6-6 kodlu izolatlar 3.60, 2.30 ve 2.30 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur. Şekil 4.2'de YL4-3 kodlu izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu görülmektedir.

Çizelge 4.2. Patojen bakteriye karşı antimikrobiyal madde üreten antagonist izolatlar

İzolat Kodu	Yer	Toprak/Kök	Domates Çeşidi	Inhibisyon Zonu Ort (mm)
OG/6-8	Erdemli	Toprak	Miras F1	11.00
AE/2-6	Laboratuvarımız kültür koleksiyonu izolatı			10.60
YL/4-3	Laboratuvarımız kültür koleksiyonu izolatı			10.00
KG/8-9	Toroslar	Kök	Lapçin(yerel)	9.60
OG/6-14	Erdemli	Toprak	Miras F1	9.30
OG/7-1	Erdemli	Toprak	Android F1	7.60
Suruç/4-3	Laboratuvarımız kültür koleksiyonu izolatı			7.60
OG/7-13	Erdemli	Toprak	Android F1	7.30
YL/5-3	Laboratuvarımız kültür koleksiyonu izolatı			6.00
TOH/4	Laboratuvarımız kültür koleksiyonu izolatı			3.60
OG/6-7	Erdemli	Toprak	Miras F1	2.30
KG/6-6	Toroslar	Kök	Lapçin(yerel)	2.30



Şekil 4.2. YL4-3 kodlu izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya karşı oluşturduğu inhibisyon zonu

4.5. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Kökenli Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi

Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile bulaşık domates tohumlarına 12 bakteriyel antagonistin uygulandığı birinci denemede Bakteriyel Benek Hastalığı %33.00-100.00 oranında baskılanmıştır. Sadece patojen bakteriyle bulaştırılmış domates tohumları çimlendiğinde gelişen fidelerin %26.07'sinin kotiledon yapraklarında lekelerin olduğu ve pozitif kontrolde yer alan lekeli fidelerdeki hastalık şiddetinin ortalama %15.55 olduğu hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Antagonistlerin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi (Birinci Deneme)

İzolat Kodu	Hastalık Oranı (%)	% Etki	Hastalık Şiddeti (%)	% Etki
OG/6-7	1.23 ^d	95.30	0.82 ^c	94.72
OG/6-14	4.61 ^{cd}	84.73	4.61 ^{bc}	70.32
Suruç/4-3	4.51 ^{cd}	82.70	2.63 ^c	83.08
OG/7-13	6.23 ^{cd}	76.10	3.66 ^c	76.46
YL/5-3	6.66 ^{cd}	74.45	3.70 ^c	76.20
KG/8-9	6.91 ^{cd}	73.49	2.62 ^c	83.15
TOH/4	7.50 ^{bcd}	71.23	4.17 ^c	73.18
KG/6-6	8.18 ^{bcd}	68.62	5.08 ^{bc}	67.33
OG/7-1	8.45 ^{bcd}	67.59	6.52 ^{bc}	58.07
YL/4-3	10.27 ^{bc}	60.60	3.40 ^c	78.13
OG/6-8	11.07 ^{bc}	57.53	5.17 ^{bc}	66.75
AE/2-6	17.38 ^{ab}	33.33	11.25 ^{ab}	27.65
Pozitif Knt.	26.07 ^a	-	15.55 ^a	-

İstatistiksel olarak incelendiğinde AE/2-6 kodlu izolat hariç tüm uygulamalar tohum kökenli bakteriyel hastalığı engellemede başarılı bulunmuştur. OG/6-7 kodlu izolat hastalığı %95.30 düzeyinde baskılayarak en başarılı uygulama olarak belirlenmiş ve tek bir istatistiki grupta yer almıştır. İkinci istatistiki grubu OG/6-14, Suruç/4-3, OG/7-13, YL/5-3 ve KG/8-9 kodlu izolatlar oluşturmıştır. Bu beş izolat hastalığı %73.49-84.73 oranında baskılayıp hastalık şiddetini %76.20-83.15 oranında azaltmıştır. TOH/4, KG/6-6 ve OG/7-1 kodlu izolatlar da diğer bir etkili grubu oluşturmuş ve hastalık çıkışını %67.59-71.23, hastalık şiddetini %58.07-73.18 oranında azaltmışlardır. YL/4-3 ve OG/6-8 kodlu izolatlar Bakteriyel Benek Hastalığını %57.53-60.60 ve hastalık şiddetini de % 66.75-78.13 düzeyinde engellemiştir.

İstatistiksel olarak en başarılı bulunan ilk iki grupta yer alan altı izolat dört farklı üretim alanında izole edilmiştir ve her birinden seçilen dört antagonistle yapılan ikinci tohum denemesinde bu izolatların başarısı bir kez daha teyit edilmiştir. Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi KG/8-9, Suruç/4-3, YL/5-3 ve OG/6-7 kodlu izolatlarla yapılan ikinci denemede pozitif kontrol uygulamasında yer alan

fidelerin % 24.90'ında hastalık görülürken antagonist bakteri uygulaması yapılmış tohumlardan gelişen fidelerin %4.24-4.68'i hasta olarak belirlenmiştir. Antagonistlerle yapılan tohum uygulamaları hastalığı %81.16-100.00 oranında baskılamıştır. Benzer şekilde hastalık şiddeti de %53.32-100.00 oranında azalmıştır. Uygulamaların başarısı istatistiksel olarak da teyit edilmiştir.

Çizelge 4.4. Antagonistlerin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi (İkinci Deneme)

İzolat Kodu	Hastalık Oranı (%)	% Etki	Hastalık Şiddeti (%)	% Etki
KG/8-9	0.00 ^c	100.00	0.00 ^b	100.00
Suruç/4-3	4.24 ^{bc}	82.97	1.63 ^b	90.96
YL/4-3	4.61 ^b	81.44	2.80 ^b	53.32
OG/6-7	4.68 ^b	81.16	2.51 ^b	86.08
Pozitif Knt.	24.90 ^a	-	18.04 ^a	

Detaylı araştırmalar için seçilen dört antagonist ile yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneme sonuçları Çizelge 4.5'de toplu olarak görülmektedir. Mersin ili Toroslar ilçesinde ev bahçesinde yetiştirilen domates toprağından elde edilen KG/8-9 kodlu izolat *in vitro* denemelerde 9.60 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuş, tohum kökenli inokulumdan kaynaklı hastalık oluşumunu ilk denemede %73.49 ikinci denemede tamamen (%100) baskılamıştır. Bu durum KG/8-9 kodlu izolatla üçüncü bir deneme yapılmasına ihtiyaç olduğunu göstergesidir. Mersin ili Erdemli ilçesinde serada yetiştirilen domates toprağından elde edilen OG/6-7 kodlu izolat 2.30 mm ile en küçük inhibisyon zonuna sahip olmasına rağmen hastalığı %95.30 ve %81.16 oranında baskılamıştır.

Çizelge 4.5. Seçilen Antagonistlerin Domateste Bakteriyel Benek Hastalığına Etkisi (*In vitro* ve *In vivo* Denemeler)

İzolat Kodu	İnhibisyon Zonu (mm)	Birinci Deneme		İkinci Deneme	
		Hastalık Oranında Azalış (%)	Hastalık Şiddetinde Azalış (%)	Hastalık Oranında Azalış (%)	Hastalık Şiddetinde Azalış (%)
OG/6-7	2.30	95.30	94.72	81.16	86.08
Suruç/4-3	7.60	82.70	83.08	82.97	90.96
YL/4 -3	6.00	74.45	76.20	81.44	53.32
KG/8-9	9.60	73.49	83.15	100.00	100.00

4.6. Bakteriyel Antagonistlerin Tohum Çimlenmesine Etkisi

Çizelge 4.6’da görüldüğü gibi hiçbir uygulama yapılmamış pozitif kontrolde bulunan domates tohumlarının %98.24’sı çimlenmiştir. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde, pozitif kontrol, OG/7-1, OG/6-8, KG/8-9, AE/2-6 ve TOH/4 uygulamaları pozitif kontrol ile aynı grupta yer almış ve çimlenmeye olumsuz bir etki yapmadıkları belirlenmiştir. Bu uygulamalarda çimlenme oranı %82.45 ile %98.24 arasında olmuştur. Diğer uygulamalarda (OG/6-14, OG/7-13, OG/6-7, YL/5-3, KG/6-6, Suruç/4-3ve YL/4-3) çimlenmedeki azalış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Biyolojik Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi (Birinci Deneme)

İzolat Kodu	Çimlenme Oranı (%)	Çimlenmedeki Azalış (%)
Pozitif Kontrol	98.24 ^a	-
TOH/4	93.86 ^{ab}	4.40
AE/2-6	85.96 ^{abc}	12.50
KG/8-9	84.21 ^{abc}	14.28
OG/6-8	82.45 ^{abcd}	16.07
OG/7-1	82.45 ^{abcd}	16.07
Suruç/4-3	78.07 ^{bcd}	20.53
YL/4-3	78.07 ^{bcd}	20.53
KG/6-6	71.93 ^{cde}	26.87
YL/5-3	66.66 ^{def}	31.58
OG/6-7	56.14 ^{ef}	42.85
OG/7-13	54.38 ^f	44.64
OG/6-14	51.75 ^f	47.32

Çizelge 4.7’de seçilen antagonistlerle (KG/8-9, OG/6-7, YL/4-3 ve Suruç/4-3) daha fazla tohum sayısı ile yapılan ikinci denemede YL/4-3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların istatistiksel olarak tohum çimlenmesine herhangi bir olumsuz etki yaratmadığı saptanırken KG/8-9 ve OG/6-7 kodlu izolatlar çimlenmesi sırasıyla %37.24 ve %26.89 düzeyinde azaltmıştır.

Çizelge 4.7. Seçilen Antagonistlerle Yapılan Tohum Uygulamalarının Çimlenmeye Etkisi

İzolat Kodu	Çimlenme Oranı (%)	Çimlenmedeki Azalış (%)
Pozitif Kontrol	96.66 ^a	-
Suruç/4-3	92.00 ^a	4.82
YL/4-3	85.33 ^a	11.72
OG/6-7	70.66 ^b	26.89
KG/8-9	60.66 ^b	37.24

Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, laboratuvarımız kültür koleksiyonunda bulunan Ziraat Mühendisi İrem Buse Canbolat’ın yüksek lisans

çalışması kapsamında Adana ve Urfa ili biber üretim alanından izole edilen YL/4 - 3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların hem Bakteriyel Leke (*Xanthomonas euvesicatoria*) hem de Bakteriyel Benek Hastalığını (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) engelleneme yeteneğinde olduğu ve tohum çimlenmesine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı bu çalışmayla ortaya konmuştur. Domates tohumlarındaki *Xanthomonas euvesicatoria* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu azaltmak için gelecekte YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların biyolojik tohum uygulamaları olarak kullanımı başarı getirebilecektir.

Dost mikroorganizmalar olarak adlandırılan, bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesinde kullanılan antagonist bakteriler, bakteriyofajlar ve funguslar ile ilgili araştırmalar son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Gıda güvenliği, çevre ve insan sağlığı ile sürdürebilir tarım konularına verilen önem arttıkça biyolojik mücadele araştırmaları da dikkat çekmeye başlamıştır. Dost mikroorganizmalar organik veya geleneksel üretim yapılan alanlarda toprak mikrobiyal aktivitesini artırarak toprak yapısı ve özelliklerini iyileştirir ayrıca bitkinin hastalıklara karşı daha dayanıklı olmasını sağlar. Bu durum domateste yapılan pek çok araştırmayla ortaya konmuştur. Örneğin solucan gübresi kullanımıyla toprak mikrobiyotası zenginleştirilmiş ve domateste Bakteriyel Benek Hastalığına karşı direnç sağlanmıştır (Karnez ve ark., 2021). Diğer bir araştırmada *Bacillus pumilus* ve *Bacillus amyloliquefaciens* adlı antagonist bakteriler tohumu uygulandığında domateste Bakteriyel Benek Hastalığına karşı dayanıklılık mekanizması harekete geçirilmiştir (Lanna-Filho ve ark., 2017). Dost mikroorganizmaların kullanıldığı bir diğer alan da bakıra direnç geliştirmiş patojen bakteri popülasyonun yaygın olduğu üretim alanlarıdır. Örneğin Güney Afrika'da bakıra direnç geliştirmiş *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonu ile mücadelede entegre hastalık yönetiminde *Bacillus subtilis* izolatları başarıyla kullanılmıştır (McLeod ve ark., 2017).

Bu yüksek lisans tez çalışmasında farklı *Bacillus* türüne ait izolatlar kullanılarak tohum kökenli hastalığı baskılama yetenekleri araştırılmış ve oldukça

başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Hatta *Bacillus subtilis* YL/4 -3 ve *Bacillus subtilis* Suruç/4-3 kodlu izolatların hem Bakteriyel Leke (*Xanthomonas euvesicatoria*) hem de Bakteriyel Benek Hastalığını (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) engelleneme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmada her ne kadar bu izolatların etki mekanizmaları ortaya konmamış olsa da ümit var sonuçlar olduğu açıktır. Gelecekte bu izolatların etki mekanizmaları, diğer antagonistlere, bitki patojenlerine ve insanlara etkisi araştırılmalıdır. Pratikte kullanımı için kitle üretimleri, ruhsat ve patent alma gibi detaylı çalışmalara da ihtiyaç vardır.

4.7. Bakteriyel Antagonistlerin Tanısı

MALDI TOF MS ile yapılan tanı sonucunda, YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların indeks değeri 1.976 ve 1.876 olarak belirlenerek *Bacillus subtilis* ile tür düzeyinde tam eşleşme sağlanmıştır. OG/6-7 kodlu izolat 1.974 indeks değeri ile *Bacillus pumilus* olarak KG/8-9 kodlu izolat 1.984 indeks değeri ile *Paenobacillus polymyxa* olarak tanılanmıştır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun tohum kaynaklı bulaşıklığını azaltmak için yerel antagonistler kullanılarak yapılan biyolojik tohum uygulamalarının etkinlikleri araştırılmıştır.

Domates köklerinden ve domates yetiştirilen topraktan izole edilen 323 adet aday antagonist ve *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış 14 adet bakteri izolatu olmak üzere toplam 337 adet aday antagonist bakteriyle yapılan *in vitro* petri denemelerinde, 12 izolatu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi saptanmıştır. Patojenle bulaşık domates tohumlarına 12 bakteriyel antagonisten uygulandığı birinci denemede Bakteriyel Benek Hastalığı %33-100 oranında baskılanmıştır. Detaylı araştırmalar için seçilen dört antagonist (KG/8-9, Suruç/4-3, YL/5-3 ve OG/6-7) ile yapılan ikinci denemede, tohuma uygulanan antagonistler hastalığı %81.16-100.00 oranında baskılamıştır. Çimlendirme denemelerinde KG/8-9 kodlu izolat birinci denemede, Suruç/4-3 ve YL/5-3 kodlu izolatlar ikinci denemede çimlenmeye herhangi bir olumsuz etki yapmadıkları belirlenmiştir. MALDI TOF MS ile yapılan tanı sonucunda, YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatlar *Bacillus subtilis*, OG/6-7 kodlu izolat *Bacillus pumilus* ve KG/8-9 kodlu izolat *Paenobacillus polymyxa* olarak tanımlanmıştır.

Domates tohumlarındaki *Xanthomonas euvesicatoria* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu azaltmak için gelecekte YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların biyolojik tohum uygulamaları olarak kullanımı başarı getirebileceği sonucuna varılmıştır. Bu antagonistlerin pratikte kullanımı ile ilgili daha detaylı yapılacak araştırmalara (diğer antagonistlere, patojenlere, insanlara etkisi, kitle üretimleri, ruhsat ve patent alma vb) gereksinim vardır.



KAYNAKLAR

- Anonim, 2021a. Tarım Ürünleri Piyasası. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü Ocak 2020, Ürün No: BÜ-06. Erişim Tarihi 26.12.2021
- Anonim, 2021b. Örtü Altı Domates Yetiştiriciliği. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü, Erdemli-Mersin. Erişim:26.12.2021
- Anonim, 2022c.
https://adana.tarimorman.gov.tr/Belgeler/SUBELER/bitkisel_uretim_ve_bitki_sagligi_sube_mudurlugu/sebze_yetistirciligi_ve_mucadelesi/Domates.pdf. Erişim Tarihi: 02.02.2022
- Anonim, 2021d. Türkiye İstatistik Kurumu. <https://www.tuik.gov.tr/> Erişim Tarihi: 26.12.2021
- Aktepe B. P., 2021. The effect of different plant activators and biological preparete on the biological control of bacterial speck disease in tomato. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 26(2): 355-364.
- Aysan, Y., 1999. Domates bakteriyel leke hastalığının tanımı, ırklarının tespiti, domates tohumlarında saptanması ve kimyasal savaşıma alternatif yöntemlerin araştırılması üzerine çalışmalar. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dal, Doktora Tezi 106 sayfa
- Aysan, Y., Saygılı, H., 2008. Domates Bakteriyel Kara Leke Hastalığı, Domates Bakteriyel Benek Hastalığı. In: Fitobakteriyoloji (Saygılı, H., Şahin, F., Aysan, Y. Edits.) 123-126. Mete Basım Matbaacılık Hizmetleri İzmir.
- Aysan Y., Üstün, N., Mirik, M., Saygılı, H., Şahin, F., 2019. Domates Bakteriyel Benek Hastalığı, sayfa 159-165. In: Bitki Bakteri Hastalıkları (Ed: Saygılı, H., Aysan, Y., Şahin, F., Soylu, S., Mirik, M.), Toprak Ofset Matbaacılık, Tekirdağ. 382 sayfa.

- Bashan, Y., and De-Bashan, L. E., 2002. Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv. tomato by using the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6), 2637-2643.
- Campbel, H.L., Kloepper, J.W., Jones, J.B., Suslow, T.V. and Wilson, M., 2006. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control* 36:358–367.
- Cemen, A., Aysan, Y., Horuz, S., and Saygılı, H., 2018. Biological control of tomato bacterial speck disease using bacteriophages. *Integrated Control in Protected Crops, Temperature Climate, IOBC, WPRS Bulletin* 124: 146.
- Devash, Y., Okon, Y., Henis, Y., 1980. Survival of *Pseudomonas tomato* in soil and seeds. *Phytopathologische Zeitschrift*. 99: 175-185.
- Fousia S., Epaminondas J., Paplomatas and Sotirios E., Tjamos., 2016. *Bacillus subtilis* QST 713 confers protection to tomato plants against *Pseudomonas syringae* pv *tomato* and induces plant defence-related genes. *Journal of Phytopathology* 164: 264-270.
- Horuz, S., Ocal, A. and Aysan, Y. 2018. Efficacy of hot water and chemical seed treatments on bacterial speck of tomato in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(5): 3185-3190.
- Horuz, S. and Aysan, Y. 2018. Biological control of watermelon seedling blight caused by *Acidovorax citrulli* using antagonistic bacteria from the genera *Curtobacterium*, *Microbacterium* and *Pseudomonas*. *Plant Protection Science* 54: 138-146.
- Jardine, D. J., and Stephens, C. T., 1987. Influence of timing of application and chemical on control of bacterial speck of tomato. *Plant Disease* 71:405-408
- Jones, J. B., J.P. Jones, R. E. Stall and T.A. Zitter, 1991. *Compendium of Tomato Diseases*. ASP Pres, Minnesota, USA.

- Jones, J. B., Jackson, L. E., Balogh, B., Obradovic, A., Iriarte, F. B., Momol, M. T., 2007. Bacteriophages for plant disease control. Annual Review of Phytopathology. 45: 245-262.
- Karabüyük, F., Aysan Y., 2019. Bazı bitki ekstraktlarının *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu domates bakteriyel benek hastalığına antibakteriyel etkisi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(2) 231-243.
- Karman, M., 1971. Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Demelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. T. C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, 279 s.
- Karnez, E., Güldoğan, Ö., Ercan, N., Korkmaz, K., Aysan, Y., 2021. Domateste bakteriyel benek hastalığının mücadelesinde vermikompost uygulamasının etkisi. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 26(3): 726-735.
- Lanna-Filho R., Souza R.M, Alves E., 2017. Induced resistance in tomato plants promoted by two endophytic bacilli against bacterial speck. Tropical Plant Pathology 42: 96-108.
- Lelliott, R.A., and Stead, D.E., 1987. Methods for The Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Methods in Plant Pathology, (T. F. Preece, Series editor), Volume 2, Published on behalf of the British Society for Plant Pathology by Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK., 219p.
- Liu K., Newman M., McInroy J. A., Hu C. H., Kloepper J. W., 2017. Selection and assessment of plant growth-promoting rhizobacteria for biological control of multiple plant diseases. Phytopathology 107 (8) 928-936.
- Campbel, H.L., Kloepper, J.W., Jones, J.B., Suslow, T.V. and Wilson, M., 2006. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. Biological Control 36:358–367.

- Mc Carter, S.M., Jones, J.B., Gitaitis, T.D., and Smitley, D.R., 1983. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in association with tomato scald, soil, host tissue and epiphytic weed hosts in Georgia. *Phytopathology* 73:1393-1398.
- McLeod A., Masimba T., Jensen T., Serfontein S. C., 2017. Evaluating spray programs for managing copper resistant *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* populations on tomato in the Limpopo region of South Africa. *Crop Protection* 102: 32-42.
- Miller, S.A., and Jones, J.B., 2014. Bacterial Speck. (Editors: J.B Jones, T.A Zitter, T.M. Momol and S.A. Miller) In: *Compendium of Tomato Diseases and Pests*, Second Edition, The American Phytopathological Society, 54-55p.
- Mitchell, R. E., 1992. Metabolites from pseudomonads that inhibit the growth of *Erwinia amylovora*. Sixth Int. Workshop on Fire Blight, Athens, Greece 21.
- Niu D. D., Wang, C. J., Guo, Y. H., Jiang, C. H., Zhang W. Z., Wang, Y. P., Guo J. H., 2012. The plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 induces resistance in tomato with induction and priming of defence response. *Biocontrol Science and Technology*, 22 (9) 991-1004.
- Obradovic A., Jones J. B., 2005. Integration of biological control agents and systemic acquired resistance inducers against bacterial spot on tomato. *Plant Disease* 89:712-716.
- Pavlovic M, Konrad R, Iwobi A. N, Sing A, Busch U, Huber I., 2012. A dual approach employing MALDI-TOF MS and Real-Time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters* 328: 46-53.
- Saad A. T., Hassan H.A., 2000. Pathogenesis and control of bacterial speck, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, on tomato. *EPPO Bulletin* 30:341-345.

- Silva, J. R. C., de Souza, R. M., Zacarone A. B., da Silva, L. H. C. P., Castro, A. M.S., 2008. Control with endophytic bacteria and in vitro inhibition of *Pseudomonas syringae* pv *tomato*, agent of bacterial speck of tomato. *Ciência e Agrotecnologia* 32 (4) 1062-1072.
- Weller David M., Dmitri V. Mavrodi, Johan A. van Pelt, Corné M. J. Pieterse, Leendert C. van Loon, and Peter A. H. M. Bakker., 2012. Induced Systemic Resistance in *Arabidopsis thaliana* against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by 2,4-Diacetylphloroglucinol-Producing *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology* 102 (4) 403-412.
- Wilson, M., Cambell, H L., Ji, P., Jones, J. B., Cuppels D. A., 2002. Biological control of bacterial speck of tomato under field conditions at several locations in North America. *Phytopathology* 92(12):1284-92.
- Yunis, H., BASHAN. Y. .and Henis. Y., 1980. Weather dependence. yield losses. and control of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas tomato*. *Plant Disease* 64: 937-939.



ÖZGEÇMİŞ

Özgür GÜLDOĞAN, İlköğretim Okulu'nda başlamış, Osmangazi Ortaokulu'nda ve Mersin Ticaret ve Sanayi Odası Anadolu Lisesi'nde Mersin'de tamamlamıştır. Üniversite eğitimini Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünde 2019'da tamamlamıştır. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Bilim dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır. 2019 yılından beri Türkiye Büyük Millet Meclisi'nde Tarım, Orman ve Köy İşleri Komisyonuna danışmanlık yapmaktadır.



EKLER



Ek-1. Antagonistlerin hastalık çıkışına etkisi (I. deneme sonuçları)

Uygulamalar	Tekerrür	Hastalık oranı (%)
Pozitif Kontrol	1	36.11
Pozitif Kontrol	2	26.32
Pozitif Kontrol	3	15.79
AE/2-6	1	14.28
AE/2-6	2	21.21
AE/2-6	3	16.66
YL/5-3	1	0.00
YL/5-3	2	0.00
YL/5-3	3	20.0
OG/7-1	1	8.57
OG/7-1	2	9.09
OG/7-1	3	7.69
TOH/4	1	7.89
TOH/4	2	2.86
TOH/4	3	11.76
OG/6-8	1	5.71
OG/6-8	2	12.12
OG/6-8	3	15.38
KG/6-6	1	4.34
KG/6-6	2	6.89
KG/6-6	3	13.33
Suruç/4-3	1	3.03
Suruç/4-3	2	6.66
Suruç/4-3	3	3.84
OG/7-13	1	0.00
OG/7-13	2	10.00
OG/7-13	3	8.69
KG/8-9	1	0.00
KG/8-9	2	14.28
KG/8-9	3	6.45
OG/6-14	1	0.00
OG/6-14	2	4.76
OG/6-14	3	9.09
YL/4-3	1	3.33
YL/4-3	2	12.12
YL/4-3	3	15.38
OG/6-7	1	0.00
OG/6-7	2	0.00
OG/6-7	3	0.00

Ek-2. Antagonistlerin hastalık şiddetine etkisi (I. deneme sonuçları)

Uygulamalar	Tekerrür	H. şiddeti (%)
Pozitif Kontrol	1	20.37
Pozitif Kontrol	2	15.78
Pozitif Kontrol	3	10.52
AE/2-6	1	9.52
AE/2-6	2	13.13
AE/2-6	3	11.11
YL/5-3	1	11.11
YL/5-3	2	0.00
YL/5-3	3	0.00
OG/7-1	1	11.42
OG/7-1	2	3.03
OG/7-1	3	5.12
TOH/4	1	2.77
TOH/4	2	1.90
TOH/4	3	7.84
YL/4-3	1	1.11
YL/4-3	2	9.09
YL/4-3	3	0.00
OG/6-8	1	3.80
OG/6-8	2	4.04
OG/6-8	3	7.69
OG/6-7	1	2.46
OG/6-7	2	0.00
OG/6-7	3	0.00
KG/6-6	1	2.89
KG/6-6	2	4.59
KG/6-6	3	7.77
Suruç/4-3	1	2.02
Suruç/4-3	2	3.33
Suruç/4-3	3	2.56
OG/7-13	1	6.66
OG/7-13	2	4.34
OG/7-13	3	0.00
KG/8-9	1	5.71
KG/8-9	2	2.15
KG/8-9	3	0.00
OG/6-14	1	3.17
OG/6-14	2	6.06
OG/6-14	3	0.00

Ek-3. Antagonistlerin çimlenmeye etkisi (I. deneme sonuçları)

Uygulama	Tekerrür	Çimlenen	Ekilen	Çimlenme Oran (%)
Pozitif Kontrol	1	36	38	94.74
Pozitif Kontrol	2	38	38	100.00
Pozitif Kontrol	3	38	38	100.00
AE/2-5	1	35	38	92.11
AE/2-5	2	33	38	86.84
AE/2-5	3	30	38	78.95
YL/5-3	1	20	38	52.63
YL/5-3	2	26	38	68.42
YL/5-3	3	30	38	78.95
OG/7-1	1	35	38	92.11
OG/7-1	2	33	38	86.84
OG/7-1	3	26	38	68.42
TOH/4	1	38	38	100.00
TOH/4	2	35	38	92.11
TOH/4	3	34	38	89.47
YL /4-3	1	30	38	78.95
YL /4-3	2	33	38	86.84
YL /4-3	3	26	38	68.42
OG/6-8	1	35	38	92.11
OG/6-8	2	33	38	86.84
OG/6-8	3	26	38	68.42
OG/6-7	1	16	38	42.11
OG/6-7	2	21	38	55.26
OG/6-7	3	27	38	71.05
KG/6-6	1	23	38	60.53
KG/6-6	2	29	38	76.32
KG/6-6	3	30	38	78.95
SURUÇ/4-3	1	33	38	86.84
SURUÇ/4-3	2	30	38	78.95
SURUÇ/4-3	3	26	38	68.42
OG/7-13	1	19	38	50.00
OG/7-13	2	20	38	52.63
OG/7-13	3	23	38	60.53
KG/8-9	1	30	38	78.95
KG/8-9	2	35	38	92.11
KG/8-9	3	31	38	81.58
OG/6-14	1	16	38	42.11
OG/6-14	2	21	38	55.26
OG/6-14	3	22	38	57.89
Negatif Kontrol	1	38	38	100.00
Negatif Kontrol	2	39	39	100.00
Negatif Kontrol	3	33	38	86.84

Ek-4. Antagonistlerin hastalık çıkışına etkisi (II. deneme sonuçları)

Uygulamalar	Tekerrür	H. Oranı (%)
Pozitif Kontrol	1	24.00
Pozitif Kontrol	2	22.45
Pozitif Kontrol	3	28.26
YL/4-3	1	9.09
YL/4-3	2	2.33
YL/4-3	3	2.44
Suruç/4-3	1	6.12
Suruç/4-3	2	4.17
Suruç/4-3	3	2.44
OG/6-7	1	3.13
OG/6-7	2	4.88
OG/6-7	3	6.06
KG/8-9	1	0.00
KG/8-9	2	0.00
KG/8-9	3	0.00

Ek-5. Antagonistlerin hastalık Şiddetine etkisi (II. deneme sonuçları)

Uygulamalar	Tekerrür	H. Şiddeti (%)
Pozitif Kontrol	1	16.66
Pozitif Kontrol	2	14.28
Pozitif Kontrol	3	23.18
YL/4-3	1	6.06
YL/4-3	2	1.55
YL/4-3	3	0.81
Suruç/4-3	1	2.72
Suruç/4-3	2	0.81
Suruç/4-3	3	1.38
OG/6-7	1	2.08
OG/6-7	2	2.43
OG/6-7	3	3.03
KG/8-9	1	0.00
KG/8-9	2	0.00
KG/8-9	3	0.00

Ek-6. Antagonistlerin çimlenmeye etkisi (II. deneme sonuçları)

Uygulamalar	Tekerrür	Çimlenme oranı (%)
Pozitif Kontrol	1	100.00
Pozitif Kontrol	2	98.00
Pozitif Kontrol	3	92.00
YL/4 -3	1	88.00
YL/4 -3	2	86.00
YL/4 -3	3	82.00
Suruç/4-3	1	98.00
Suruç/4-3	2	96.00
Suruç/4-3	3	82.00
OG/6-7	1	64.00
OG/6-7	2	82.00
OG/6-7	3	66.00
KG/8-9	1	70.00
KG/8-9	2	58.00
KG/8-9	3	54.00
Negatif Kontrol	1	100.00
Negatif Kontrol	2	100.00
Negatif Kontrol	3	94.00

Tohuma Uygulanan Antagonistlerin Çimlenmeye Etkisine Göre Varyans Analiz
 Sonuçları (I. deneme)
 2021-08-04 14:31:24

Source	df	Type I SS	MS	F	P

Main Effects					
Uygulama	13	8977.546695	690.58052	7.6988375	.0000 ***
Error	28	2511.581067	89.699324	<-	

Total	41	11489.12776			

Test: LSD

Significance Level: 0.05

Variance: 89.6993238095

Degrees of Freedom: 28

n Means = 14

LSD 0.05 = 15.8403668907

Rank	Mean Name	Mean	n Non-significant ranges

1	P. Kontrol	98.2466666667	3 a
2	N. Kontrol	95.6133333333	3 a
3	TOH/4	93.86	3 ab
4	AE/2-6	85.9666666667	3 abc
5	KG/8-9	84.2133333333	3 abc
6	OG/6-8	82.4566666667	3 abcd
7	OG/7-1	82.4566666667	3 abcd
8	Suruç/4-3	78.07	3 bcd
9	YL/4-3	78.07	3 bcd
10	KG/6-6	71.9333333333	3 cde
11	YL/5-3	66.6666666667	3 def
12	OG/6-7	56.14	3 ef
13	OG/7-13	54.3866666667	3 f
14	OG/6-14	51.7533333333	3 f

Tohuma Uygulanan Antagonistlerin Hastalık Çıkışına Etkisinin Varyans Analiz Sonuçları (I. deneme)

Filename: 1WCR.AOV - 1 Way Completely Randomized

Source	df	Type I SS	MS	F	P

Main Effects					
uygulamala	12	1526.093477	127.17446	3.6025335	.0030 **
Error	26	917.8362667	35.301395	<-	

Total	38	2443.929744			

Model	12	1526.093477	127.17446	3.6025335	.0030 **

Test: LSD

Significance Level: 0.05

Variance: 35.3013948718

Degrees of Freedom: 26

Keep If:

n Means = 13

LSD 0.05 = 9.97181021866

Rank Mean Name	Mean	n Non-significant ranges

1 P. kontrol	26.0733333333	3 a
2 AE/2-6	17.3833333333	3 ab
3 OG/6-8	11.07	3 bc
4 YL/4-3	10.2766666667	3 bc
5 OG/7-1	8.45	3 bcd
6 KG/6-6	8.1866666667	3 bcd
7 TOH4	7.5033333333	3 bcd
8 KG/8-9	6.91	3 cd
9 YL/5-3	6.6666666667	3 cd
10 OG/7-13	6.23	3 cd
11 OG/6-14	4.6166666667	3 cd
12 Suruç/4-3	4.51	3 cd
13 OG/6-7	1.23	3 d

Tohuma Uygulanan Antagonistlerin Hastalık Şiddetine Etkisinin Varyans Analiz Sonuçları (I. deneme)

2021-08-04 14:38:33

Source	df	Type I SS	MS	F	P

Main Effects					
C1	12	560.8167009	46.734725	3.7011391	.0028 **
Error	25	315.6779833	12.627119	<	

Total	37	876.4946842			

Model	12	560.8167009	46.734725	3.7011391	.0028 **

Test: LSD

Significance Level: 0.05

Variance: 12.6271193333

Degrees of Freedom: 25

n Means = 13

Since the n's are unequal (minimum n=2), there is no single LSD value.

But a conservative LSD is: LSD 0.05 = 7.31849985201

Rank	Mean Name	Mean	n Non-significant ranges

1	P. Kontrol	15.5566666667	3 a
2	AE/2-6	11.2533333333	3 ab
3	OG/7-1	6.5233333333	3 bc
4	OG/6-8	5.1766666667	3 bc
5	KG/6-6	5.0833333333	3 bc
6	OG/6-14	4.615	2 bc
7	TOH/4	4.17	3 c
8	YL/5-3	3.7033333333	3 c
9	OG/7-13	3.6666666667	3 c
10	YL/4-3	3.4	3 c
11	Suruç/4-3	2.6366666667	3 c
12	KG/8-9	2.62	3 c
13	OG/6-7	0.82	3 c

Tohuma Uygulanan Antagonistlerin Çimlenmeye Etkisine Göre Varyans Analiz Sonuçları (II. deneme)

Source	df	Type I SS	MS	F	P

Main Effects					
C1	4	2716.266667	679.06667	12.606436	.0006 ***
Error	10	538.666667	53.866667	<-	

Total	14	3254.933333			

Model	4	2716.266667	679.06667	12.606436	.0006 ***

Test: LSD
Significance Level: 0.05
Variance: 53.866666667
Degrees of Freedom: 10
n Means = 5
LSD 0.05 = 13.352318179

Rank Mean Name	Mean	n Non-significant ranges

1 P. Kontrol	96.666666667	3 a
2 Suruç/4-3	92	3 a
3 YL/4-3	85.3333333333	3 a
4 OG/67	70.666666667	3 b
5 KG/8-9	60.666666667	3 b

Tohuma Uygulanan Antagonistlerin Hastalık Şiddetine Etkisinin Varyans Analiz Sonuçları (II. deneme)

Source	df	Type I SS	MS	F	P

Main Effects					
C1	4	652.0434933	163.01087	26.724759	.0000 ***
Error	10	60.9962	6.09962<-		

Total	14	713.0396933			

Model	4	652.0434933	163.01087	26.724759	.0000 ***

Test: LSD

Significance Level: 0.05

Variance: 6.09962

Degrees of Freedom: 10

Keep If:

n Means = 5

LSD 0.05 = 4.49311993962

Rank Mean Name	Mean	n Non-significant ranges

1 P. Kontrol	18.04	3 a
2 YL/4-3	2.80666666667	3 b
3 OG/6-7	2.51333333333	3 b
4 Suruç/4-3	1.63666666667	3 b
5 KG/8-9	0	3 b

Tohuma Uygulanan Antagonistlerin Hastalık Çıkışına Etkisinin Varyans Analiz Sonuçları (II. deneme)

Source	df	Type I SS	MS	F	P
Main Effects					
C1	4	1157.291356	289.32284	48.807326	.0000 ***
Error	10	59.27856854	5.9278569		
Total	14	1216.569925			

Model 4 1157.291356 289.32284 48.807326 .0000 ***

Test: LSD

Significance Level: 0.05

Variance: 5.92785685413

Degrees of Freedom: 10

Keep If:

n Means = 5

LSD 0.05 = 4.42940585952

Rank	Mean Name	Mean	n Non-significant ranges
1	P. Kontrol	24.9032833333	3 a
2	OG/6-7	4.687885	3 b
3	YL/4-3	4.61850466667	3 b
4	Suruç/4-3	4.24271333333	3 bc
5	KG/8-9	0	3 c