

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**HIYAR TOHUMLARINDA FARKLI KAPLAMA
YÖNTEMLERİNİN VE DEPOLAMA KOŞULLARININ
ENDOFİTİK BAKTERİLERİN KOLONİZASYONUNA
VE RAF ÖMRÜNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Tuğçe LAÇIN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 501.03.01

Sunuş Tarihi: 03.02.2015

Bornova-İZMİR

2015

Tuğçe LAÇİN tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “**Hıyar Tohumlarında Farklı Kaplama Yöntemlerinin Ve Depolama Koşullarının Endofitik Bakterilerin Kolonizasyonuna Ve Raf Ömrüne Etkisinin Araştırılması**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’ nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 03.02.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN
Raportör Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ
Üye : Yrd. Doç. Dr. Nedim ÇETİNKAYA

İmza

.....
.....
.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum **“Hıyar Tohumlarında Farklı Kaplama Yöntemlerinin ve Depolama Koşullarının Endofitik Bakterilerin Kolonizasyonuna ve Raf Ömrüne Etkisinin Araştırılması ”** başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

03 / 02 / 2015



Tuğçe LAÇIN

ÖZET**HIYAR TOHUMLARINDA FARKLI KAPLAMA
YÖNTEMLERİNİN VE DEPOLAMA KOŞULLARININ
ENDOFİTİK BAKTERİLERİN KOLONİZASYONUNA VE RAF
ÖMRÜNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

LAÇİN, Tuğçe

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Şubat 2015, 53sayfa

Bu tez projesinin amacı, sağlıklı hıyar (*Cucumissativus* L., cv. Gordion) tohumlarına bitki gelişimini artırıcı etkisi ve biyolojik savaş potansiyeli önceki çalışmalarda saptanmış olan bazı endofitik bakterilerin (EB) farklı tohum bakterizasyonu yöntemleriyle uygulanmasının etkisini araştırmak olmuştur. Tohum uygulamalarının ve farklı depolama koşullarının tohum çimlenme / çıkış potansiyeline ve tohumdaki canlı bakteri popülasyonuna etkisini test etmek amacıyla tohum bakterizasyonu işleminden sonra hıyar tohumları 6 ay süreyle oda sıcaklığı ve buzdolabında koşullarında depolanmıştır. Bu tohumlarda zamana bağlı olarak EB popülasyonundaki ve tohumlardaki vigorite indeksindeki (VI) değişim periyodik olarak, aylık saptanmıştır. Oda sıcaklığında ve buzdolabında 6 ay süreyle bekletilen tohumlarda bakterilerin canlılığı ve tohumların VI değerleri açısından en başarılı tohum uygulamalarının CMC (Karboksi metil selüloz, %1) ve bakteri süspansiyonu ile kaplama olduğu sonucuna varılmıştır. Vakum infiltrasyon ve film kaplama uygulamalarının ise başarısız olduğu saptanmıştır. EB ile uygulama görmüş tohumların en uygun depolanma seçeneğinin ise, buzdolabı koşulları olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: bio-priming, tohum bakterizasyonu, endofitik bakteri, vigorite indeksi.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS ON SHELF LIFE AND COLONIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA OF DIFFERENT SEED COATING TECHNIQUES AND STORAGE CONDITIONS ON CUCUMBER SEEDS

LAÇIN, Tuğçe

MSc in Department of Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

February 2015, 53 pages

The purpose of this thesis was to investigate the efficacy of different seed coating techniques of endophytic bacteria (EB), which were previously determined the biocontrol potential and plant growth promoting effects on healthy cucumber (*Cucumis sativus* L., cv. Gordion) seeds. Cucumber seeds after bacterization were kept at room temperature and in the refrigerator for 6 months in order to test the efficacy of different storage conditions and seed coating techniques on the viability and population density of EB and the potential of seed germination/emergence. Changing the population density of EB and VI of tested seeds were monitored periodically as once a month. It was determined that the most promising seed coating techniques were seed bacterization with CMC (carboxymethylcellulose, 1 %) and only bacterial suspension in respect to viability of bacteria and VI of seeds kept at room temperature and in the refrigerator for six months. However, the applications of vacuum infiltration and film coating were recorded as unsuccessful seed coating techniques. It has been observed that the most appropriate storage condition for coated seeds with EB was refrigerator atmosphere.

Keywords: bio-priming, seed bacterization, endophytic bacteria, vigor index.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince desteğini benden esirgemeyen, katkılarıyla ufkumu açan değerli hocam Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN'a, fikirleriyle her aşamada yardımcı olan Prof. Dr. İbrahim DUMAN'a, istatistiksel analizler konularında desteğini gördüğüm Araş. Gör. Mustafa AKBABA'ya, Tohum teknolojisi uygulama ve araştırma merkezi (TOTEM)'de film kaplama sırasında bana her türlü imkanı sağlayan Dr. Adem GÖKÇÖL'e, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Ziraat mühendisi arkadaşım İnci ŞAT, Şahika AKAT'a tezimin yazımı aşamasında yardım gördüğüm Araş. Gör. Nihan GÜNEŞ'e teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen annem Safiye LAÇİN ve kardeşim Ayçe LAÇİN'e teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM	12
3.1 Çalışmada Kullanılan Endofitik Bakteriler	12
3.2 Çalışmada Kullanılan Hıyar Çeşidi	12
3.3 EB'lerin Tohuma Kaplanmasında Kullanılan Kimyasallar	12
3.4 Çalışmada Etkisi Araştırılan Tohum Bakterizasyonu Testleri	13
3.5 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Bakterizasyonu Uygulamalarının Bakteri Populasyonuna ve Vigorite İndeksine Etki Testleri	15
3.5.1 Verilerin Analizi	17
4. BULGULAR	18

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

4.1 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Kaplama Uygulamalarının Bakterilerin Yokluğunda Vigorite İndeksine Etkisi Testleri Sonuçları.....	18
4.2 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Bakterizasyonu Uygulamalarının Vigorite İndeksine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Testleri	20
4.2.1 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında bekletilen tohumların vigorite indeksine etkisi	21
4.2.2 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında (+4 ⁰ C) bekletilen tohumların vigorite indeksine etkisi	24
4.3 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Bakterizasyonu Uygulamalarının Endofitik Bakterilerin Canlılık ve Populasyon Değişimine Etkisi Testleri Sonuçları.....	27
4.3.1 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında bekletilen tohumların canlılık ve populasyon değişimine etkisi	27
4.3.2 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında (+4 ⁰ C) bekletilen tohumların canlılık ve populasyon değişimine etkisi	31
5.TARTIŞMA	36
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	43
KAYNAKLAR DİZİNİ	44
ÖZGEÇMİŞ	53
EKLER.....	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1	Dünyada hıyar üretiminin kıtalara göre dağılımı 1
3.1.	Bakteri süspansiyonlarının tohumlara uygulanması..... 13
3.2.	Tohuma CMC içinde hazırlanmış bakteri süspansiyonlarının uygulanışı 14
3.3.	Tohumlara bakteri süspansiyonlarının Cc-lab (Centricoater) yardımıyla film kaplama tekniğinin uygulanışı..... 14
3.4.	Tohumlara bakteri süspansiyonlarının vakum infiltrasyonu tekniğiyle uygulanışı 15
3.5.	Farklı tohum uygulamalarının EB'lerin popülasyon yoğunluğuna etkilerinin testlenmesi..... 15
3.6.	Uygulama görmüş tohumların VI'ni saptamak amacıyla her depolama koşulu için 3 petride, her petride 10 tohum olacak şekilde nemlendirilmiş steril çift katlı kurutma kağıdına ekim işlemi 16
4.1.	Farklı tohum kaplama uygulamalarının bakterilerin yokluğunda zamana bağlı olarak oda sıcaklığında VI'ne negatif kontrol'e göre etkisi 19
4.2.	Farklı tohum kaplama uygulamalarının, bakterilerin yokluğunda, zamana bağlı olarak buzdolabı koşullarında(+4 ⁰ C) VI'ne, negatif kontrol'e göre etkisi..... 20

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3. 80 numaralı bakteri ile yapılan tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında tutulan tohumlarda, zamana bağlı olarak, negatif kontrole göre, tohumların VI'ne etkisi	21
4.4. 83 numaralı bakteri ile yapılan tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında tutulan tohumlarda, zamana bağlı olarak, negatif kontrole göre, tohumların VI'ne etkisi	22
4.5. 99 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından hemen sonra, negatif kontrole göre, tohumların VI'ne etkisi	24
4.6. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında tutulan (+4 ⁰ C) tohumlarda, zamana bağlı olarak, negatif kontrole göre tohumların VI'ne etkisi	25
4.7. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında tutulan (+4 ⁰ C) tohumlarda, zamana bağlı olarak, tohum çimlenme ve çıkışına etkisi.....	26
4.8. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra oda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.....	28
4.9. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından hemen sonra tohumlarda gelişen EB kolonileri	29

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.10. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra oda sıcaklığında bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri.....	29
4.11. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra oda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim	30
4.12. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından hemen sonra tohumlarda gelişen EB kolonileri.....	31
4.13. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra oda sıcaklığında bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri.....	31
4.14. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra buzdolabında (+4 ⁰ C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim	32
4.15. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 4 ay sonra buzdolabında (+4 ⁰ C) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri.....	33
4.16. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra buzdolobında (+4 ⁰ C) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri.....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.17. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonrabuzdolabında (+4 ⁰ C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.....	34
4.18. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 5 ay sonra buzdolabında (+4 ⁰ C) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri	35
4.19. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra buzdolabında (+4 ⁰ C) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Tez Projesinde kullanılacak Endofitik bakteri izolatlarına ilişkin bilgiler.....	12
4.1. Farklı tohum kaplama uygulamalarının, bakterilerin yokluğunda, oda sıcaklığında tohum çimlenme ve VI'ne, negatif kontrol'e göre etkisi	18
4.2. Farklı tohum kaplama uygulamalarının, bakterilerin yokluğunda, buzdolabı koşullarında (+4 ⁰ C) tohum çimlenme ve VI'ne, negatif kontrol'e göre etkisi.....	19
4.3. 80 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve oda sıcaklığında bekletilen tohumların vigorite indeksindeki değişim.....	21
4.4. 83 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve oda sıcaklığında bekletilen tohumların vigorite indeksindeki değişim.....	22
4.5. 99 numaralı bakteri ile tohum bakterizasyonundan hemen sonra, tohuma yapılan uygulamaların VI'ne etkisi	23
4.6. 80 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve buzdolabında bekletilen (+4 ⁰ C) tohumların vigorite indeksindeki değişim	24
4.7. 83 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve buzdolabında bekletilen (+4 ⁰ C) tohumların vigorite indeksindeki değişim	26

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

Çizelge

Sayfa

- 4.8. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra oda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve popülasyon yoğunluğundaki değişim.....28
- 4.9. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra oda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve popülasyon yoğunluğundaki değişim.....30
- 4.10. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra buzdolabında (+4⁰C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve popülasyon yoğunluğundaki değişim.....32
- 4.11. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra buzdolabında (+4⁰C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve popülasyon yoğunluğundaki değişim.....34

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

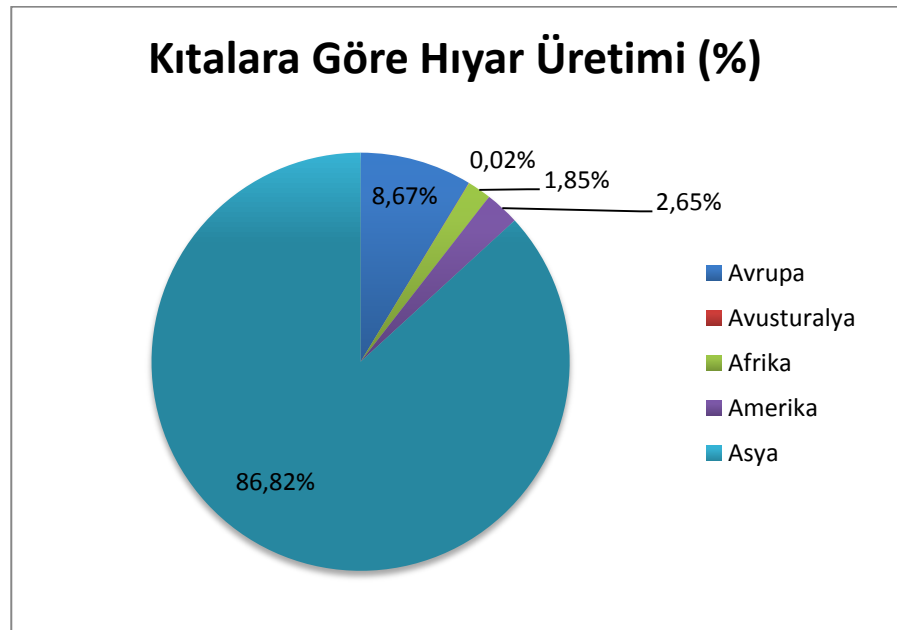
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
BSE	Biyolojik Savaş Elemanı
CA(MO ₃) ²	Kalsiyum Nitrat
Cc-lab	Centricoater
CFU	Koloni oluşum birimi
CMC	Karboksi Metil Selüloz
EB	Endofitik Bakteri
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
KCl	Potasyum Klorür
KNO ₃	Potasyum Nitrat
NH ₄ NO ₃	Amonyum Nitrat
NK	Negatif Kontrol
OD	Optik yoğunluk
PEG	Polietilen Glikol
PSL	Hıyar köşeli yaprak lekesi hastalığı(<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>)
TSA	Tryptic Soya Agar
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
VI	Vigorite İndeksi
XS	Xanthane sakızı

1. GİRİŞ

Cucurbitacea familyası türlerinden hıyar (*Cucumis sativus* L.), günümüzde en çok tüketilen sebzelerin biridir. Geliştirilen verimli ve erkenci çeşitler sonucunda ülkemiz 1,7 milyon tonluk üretimiyle dünya genelinde Çin'den sonra ikinci sırayı almaktadır (Anonim, 2005).

FAO'nun (2011) verilerine göre; hıyar, 65.334.911 tonluk dünyadaki toplam üretimi ile tarımsal üretim içerisinde önemli bir yere sahiptir. Bu üretimin % 86,82'si Asya kıtasından, geriye kalan kısmı ise diğer kıtalardan elde edilmektedir (Şekil 1.1).

Ülkemizde 2011 yılı verilerine göre toplam 62.746 ha. alanda gerçekleştirilen 1.749.170 tonluk hıyar üretiminin; 143.855 tonunu turşuluk hıyar ve 1.605.319 tonunu ise sofralık hıyar üretimi oluşturmaktadır (FAO, 2011; TÜİK, 2011).



Şekil 1.1 Dünyada hıyar üretiminin kıtalara göre dağılımı (FAO, 2011).

Bitkisel üretim; toprak, su ve iklim gibi doğal kaynaklar ile birlikte tohum, kimyasal ve organik gübreler ile tarım ilaçları gibi girdiler kullanılarak yapılır. Burada en önemli unsur başlangıç materyali olan tohumluktur. Tohumun verim ve

Üretim artışındaki payı ortalama %25 civarında olup bu oranı bazı durumlarda %40'lara çıkarmak mümkündür (Kavak ve Eser, 2006). Üretimde kullanılan girdilerin ve uygulanan tekniklerin çoğu aslında tohumun genetik ve fizyolojik etkinliğini ortaya çıkarmak içindir. Aynı zamanda tohum, üretimde kullanılan materyallerden girdi maliyeti en yüksek ürünlerden birisidir. Günümüzde bitkisel üretimde kullanılan gübre, tarımsal ilaçlar ve tarımsal mekanizasyon aletlerinin teknolojileri ile karşılaştırıldığında tohum teknolojisinin ve tohum kalitesinin önemi daha belirgin hale gelmiştir.

Kaliteli bir tohumda bulunması gereken özellikler arasında ise tür ve çeşit saflığı, çimlenme ve çıkış gücü ile hızı, tarla çıkış performansı, hastalık ve zararlılardan temizliğini ifade eden hijyen sağlığı bulunmaktadır. Hem doğrudan ekim yapılarak hem de fidesi ile üretilen türlerde ekilen tohumun en kısa sürede çimlenmesi ve toprak yüzeyine çıkması istenir (Demir and Ellis, 1992). Hızlı, homojen ve erken çimlenme ile toprak üzerine çıkış gösterebilme özelliği de ancak kalitesi yüksek tohumlarda gözlenebilmektedir.

Günümüzde tohum kalitesinin iyileştirilmesine yönelik yapılan uygulamaların başında tohum nimlendirme(=priming) uygulamaları ve tohum kaplama uygulamaları gelmektedir.

Tohum kaplama uygulaması film kaplama ve pellet (katı materyal ile tohum yüzeyinin dzgnleştirilmesine ve iriliğinin artırılması) kaplama olarak iki şekilde uygulanmaktadır. Pellet kaplama, fiziksel yapısı bozuk tohumların dış yüzeyinin düzgünleştirilmesi, küçük tohumların irileştirilmesi ekim işlemlerinin kolaylaştırılması,çimlenme ve çıkış performanslarının iyileştirilmesi, hastalık zararlılar ile kolayca mücadele yapılabilmesi amacıyla uygulanmaktadır (Bewleyand Black, 1994;Kavak ve Eser, 2006).

Film kaplama uygulamasında ise tohumun dış yüzeyinde herhangi bir değişim yapılmadan tohum yüzeyi ince bir film tabakası ile kaplanır. Film kaplama uygulamasında farklı yapıdaki polimer türevleri kullanılır. Günümüzde bu amaca yönelik farklı renklerde polimerler ticari boyutlarda kullanılmaktadır. Film kaplama tekniğinde tohumlara kaplanan polimer içerisine hastalık ve zararlılara karşı pestisit yükleme ile çimlenmeyi kolaylaştırıcı etkili maddeler

yada besin maddesi ilavesi yapılabilmesi bu uygulamanın etkinliğini ön plana çıkarmaktadır. (Taylor and Kwiatkowski, 2001;Kavak ve Eser, 2006).

Tohum kaplama ile kaplama materyali ile birlikte tohuma pestisit, hormon, bitki büyüme düzenleyici gibi maddeler yüklenebilmektedir. Bu şekilde uygulanabilen bu yöntem tohumda çimlenmeyi ve çıkışı teşvik etmektedir. Ancak film kaplamada kullanılan polimerlerin başarılı bir sonuç için bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Polimerlerin sahip olması gereken özellikler, suda çözünen yapıda olmalı, tohum için herhangi bir toksik etki oluşturmamalıdır (Halmer, 1994; Robani,1994).

Son yıllarda, tohuma antagonist uygulanmasında, daha ideal formülasyonlar elde etmek üzere tohumlar BSE ile kaplanarak kapsül haline getirilmektedir. Tohumluğun BSE ile kaplanması işlemi “biopriming” olarak adlandırılmaktadır. Biopriming uygulaması tohumun hızlı ve uniform çıkışını sağlamaktadır.Biopriming işleminin bir avantajı da, tohuma uygulanması gereken bakteriyel inokulum miktarını azaltmasıdır.

Bu konunun araştırılmasına gerek duyulmasının nedeni ise olumsuz çevre faktörlerine veya doğrudan tohum kalite ve yapısına bağlı olarak çimlenme ve çıkış esnasında yaşanabilecek sorunları en aza indirmek, kısa sürede üniform fide çıkış, kuvvetli bir fide gelişimi sağlamak ve stres şartlarına dayanıklılığı artırılması amacı ile tohuma antagonist uygulanmasında, daha ideal formülasyonlar elde etmek üzere tohumlar BSE ile kaplanarak kapsül haline getirmesidir.

Bu tez projesinin amacı: yüzey dezenfeksiyonu yapılmış sağlıklı hıyar tohumlarına bitki gelişimini artırıcı etkisi ve biyolojik savaş potansiyeli saptanmış olan bazı endofitik bakterilerin (EB) farklı tohum bakterizasyonu yöntemleriyle uygulanması ve bu uygulamaların tohum çimlenme/çıkış potansiyeline ve tohumdaki canlı bakteri popülasyonuna etkisini test etmek, tohum bakterizasyonu işleminden sonra oda sıcaklığı ya da buzdolabında (+4⁰C) 6 ay süreyle tutulan tohumlarda zamana bağlı olarak EB popülasyonundaki değişimi saptamaktır. Böylece en uygun tohum bakterizasyon yöntemi ve en ideal saklama yöntemi belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Geç ve düzensiz çimlenme ile birlikte oluşan yabancı otlar, hastalık ve zararlılar bitki gelişimini yavaşlatarak hem verimde hem de kalite özelliklerinde olumsuz etki yapmaktadır (Muhyaddinand Wiebe,1989). Bu olumsuz koşullarda tohumun vigor gücünü artırmak, çimlenmeyi hızlandırmak ve homojenleştirmek amacıyla ön çimlendirme (priming) olarak tanımlanan (Heydeckerand Gibbins,1978) ve tohumlara farklı şekillerde uygulanan ekim öncesi tohum uygulamaları geliştirilmiştir. Ekim öncesi tohum uygulamalarının Umbelliferae ve Liliaceae familyası sebzeleri gibi tohum olgunluğu farklı kademelerde oluşan türlerde olumlu sonuçlar verdiğini belirten Dearman et al. (1986;1987) özellikle doğrudan ekim yöntemiyle üretilen türlerin tohumlarında ön çimlendirme uygulamalarının mutlaka yapılması gerektiğini ileri sürülmüştür.

Hardegreeand Van Vactor (2000), soğuk mevsimde ve yağışlı ilkbaharda ekilen çim tohumlarının yıllık yabancı otlardan önce çıkışını tamamlaması gerektiğini belirterek bu tür tohumlarda ön çimlendirme işleminin mutlaka kullanılması gerektiğini ifade etmişlerdir. Ön çimlendirme uygulamasının soğuk dönemde hem çimlenme hem de çıkış oranını iyileştirmiştir. Erken ilkbahar veya geç kış ekimlerinde ön çimlendirme uygulamasının mutlaka kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Duman (2005), tohum ön çimlendirme uygulamalarından yararlanılarak yapılan birçok araştırmada; başta sebze tohumları olmak üzere süs bitkisi, yem bitkisi ve tarla bitkileri türleri tohumlarında çimlenme ve fide çıkışı oranı artırılmış, bazı önemli türlerde verim ve kalitede önemli iyileşmeler sağlanmıştır.

Demir andEllis (1992), hem doğrudan ekim yapılarak hem de fidesi ile üretilen türlerde, ekilen tohumun en kısa zamanda çimlenmesi ve toprak üzerine çıkmasının istendiğini bu özelliğin ancak kaliteli bir tohumla sağlanabileceğini vurgulamıştır.

Thompson (1979), tohumda kalite unsurlarını kimlik özellikleri, performans özellikleri ve hijyen olmak üzere üç grup halinde toplandığını ifade etmiştir. Bu

özelliklerin tümü eşit değerde olmadığı gibi her koşuldaki önem sıralarının da aynı olmadığını belirtmiştir.

Taylor (1997), kaliteli tohum, hızlı çimlenen, homojen çıkış gösteren ve normal fide gelişimi olan tohum olarak tanımlanmaktadır. Bu yüzden yüksek kalitedeki tohumun yüksek çimlenme oranı gösterdiğini, canlılığını ve dayanıklılığını uzun süre muhafaza edebildiğini aynı zamanda da bu tür tohumların üretici ve pazar tarafından ilgi göreceğini ileri sürmektedir.

Kavak ve Eser (2006), tohum kalitesinin ve canlılığının belirlenmesinde standart çimlendirme testi kabul edildiğini; ancak her koşulda standart çimlendirme testi tohum performansını tam anlamıyla belirleyemez. Yüzde çimlenme oranı yüksek olan bir tohumun gücü düşük olabilir. Dolayısıyla kaliteli bir tohum denildiği zaman yüksek canlılığa sahip vigor (güç) özelliği iyi olan ve bu kalitesini depolama süresince en üst düzeyde sürdürebilen tohum anlaşılması gerektiğini belirtmektedir.

Şeniz ve ark. (2005), tohum kalite özellikleri arasında tohumun hızlı ve homojen çimlenmesinin büyük önem taşıdığını belirtmektedir. Böylece ekim alanında tohum kayıpları fazla olmamakla erken çimlenme ve çıkış sayesinde yüksek oranda ve kaliteli fide elde edilmektedir.

Taylor et al. (1998), tohum kalitesinin iyileştirilmesine yönelik pek çok uygulama yapıldığını bildirmektedir. Bu uygulamalar iyi bir tohum depolama süreci, ekim öncesi uygulamalar (priming), tohum işleme (seedconditioning) teknolojileri ve tohum kaplama uygulamaları (pelet ve film kaplama) olarak sıralanmaktadır.

Bewleyand Black, (1994); Kavak ve Eser (2006), tohumlarda film kaplama veya pellet kaplama yapılması amaçları arasında fiziksel yapısı bozuk olan tohumların dış yüzeyinin düzgünleştirilmesi, küçük tohumların irileştirilmesi, çimlenme ve çıkış işleminin hızlandırılması ile hastalık ve zararlılar ile mücadele yapmanın sayılabileceğini belirtmişlerdir.

Walsh et al. (1998); Çavuşlar ve Eser (2002), film kaplama uygulaması ile sıcaklık kontrollü polimerlerin kaplamada kullanılabileceğini ifade etmişlerdir. Tohumlar istenilen sıcaklığa yükselinceye kadar çimlenme için gerekli suyun emilimini engelleyen polimerlerle kaplanabilirliğini belirtmişlerdir.

Zeng ve Wang (2010), buğday tohumlarına çevre ile dost polimerler ile film kaplama uygulaması yapmışlar ve pestisit, mikroelement ve diğer katkı maddelerini bu uygulama ile tohumlara vermişlerdir. Laboratuvar sonuçlarına göre; film kaplama uygulamasının %16 oranında buğday bitkisinin gelişimini arttırdığını ve diğer ticari buğday tohumlarına göre girdi maliyetini 1/6 oranında azalttığını gözlemlemişlerdir. Dolayısıyla çevre kirliliğine yol açmayan, ekonomik ve çevreye önemli derecede katkısı bulunan bir yetiştiriciliğin gerçekleştirebileceğini ifade etmişlerdir.

Duan and Burris (1997), şeker pancarı tohumlarının çimlenmesi üzerine polimer film kaplama uygulamasının etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, tohum partilerinin başlangıçta çimlenme oranlarının %89-95 arasında değiştiğini ve film kaplama uygulamasından sonra (20 g polyvinyl polimer/kg/tohum) şeker pancarı tohumlarının çimlenme oranının %64-94 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Tohum film kaplama uygulamasında kullanılan farklı renkler öncelikle tohum kalitesi açısından üreticilere güven sağlamakta ve ekim işlemi sırasında da ekim sıklığı ve ekim derinliğinin sağlanmasında hataların oluşumunu engellemektedir (Duman ve İlbi, 2001; Gençkan ve ark. 2005). Tohum üzerine uygulanan polimerin homojen bir şekilde kaplanması ve kaplama sonrası polimer katmanının kalınlığının gözlemlenmesi de mümkündür (Pamuk et al., 2002).

Halmer (1987), film kaplamada kullanılan polimer maddesi (plastikliği sağlayıcı madde) suda çözünmeli ve tohumda toksik etki göstermemesi gerektiğini belirtmiştir.

Zhang et all. (2007), iki farklı çeşit olan erkenci çeltik tohumları üzerinde yaptıkları çalışmada soğuk stresi altında 4 farklı polimer (HET, YKJ, YKZYJ,

ABA) ile kaplanmış tohumlardan elde edilen sonuçların son derece önemli olduğunu belirtmişlerdir. Buna göre kontrol tohumları ile film kaplama uygulaması yapılan tohumlar karşılaştırıldığında, uygulama yapılmış tohumların oldukça yüksek vigorlu olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak tohum kaplama uygulamasının çeltik fidelerinin soğuğa karşı dayanımını arttırdığını ifade etmişlerdir.

Tuncel, (2012) özellikle fide ile üretilen farklı familyalara ait sebze türlerinde tohumların ekildikleri ortamlardaki farkındalıklarının sağlanması, çeşit renk kodlaması yapılarak genetik özelliklerinin belirlenmesi, hastalık ve zararlı mücadelesi amaçlı kullanılan pestisit ya da fungusitlerin tohuma yüklenmesi ve tohum çimlenmesini engellemeyecek optimum kaplama dozunun belirlenmesini amaçladığı çalışmasında biber tohumları için 3,0 polimer+2,0 ml safsu karışımını optimum doz olarak önermiştir.

Scheineiderand Renault (1997), polimerler su tutucu (hidrofilik) ve su tutmayan (hidrofobik) polimerler olmak üzere iki grupta toplanmışlardır. Su tutucu polimerlerin düşük su stresine karşı tohumu koruyarak su alımının artmasını sağladığını, buna karşın su tutmayan polimer ise tohumların fazla su alımını azaltmakta böylece yüksek su stresine karşı koruma sağladığını belirtmişlerdir.

Taylor andKwiatkowski (2001), tarafından geliştirilen SB2000 (hidrofobik) adlı film kaplama materyali ile kaplanan fasulye tohumlarında kaplamadan sonra %0-4 ağırlık artışı olması istenmiş ve %0,5 ağırlık artışı olan tohumlarda 25⁰C'deki stres koşullarında çimlenme artış gözlenmiştir. Böylelikle kaplanan tohumda su alımını ve sızıntının azaldığını belirtmişler ve kaplama materyalinin ortam ile çevre arasında fiziksel olarak engelleyici olduğunu ifade etmişlerdir.

Scott (1989); Kavak ve Eser (2006), tohum kaplama sayesinde; ekim işlemini kolaylaştırma, tohuma mikroorganizma yükleme, tohuma bitki besin maddelerinin yüklenmesi, herbisit ve oksijen sağlayan kimyasalların yüklenmesi gibi birçok kaliteyi iyileştirici ya da koruyucu işlemler yapılabildiğini ileri sürmüştür.

Raveton et al., (2007), ayçiçeği tohumlarında yaptıkları araştırmada tohum kaplamanın tohum kaynaklı zararlılara karşı bitkiyi koruduğunu ifade etmişlerdir. Böylece zararlılardan kaynaklanan tohum kayıplarının önüne geçilebildiğini ifade edilmiştir.

Ester et al., (2003), lahana ve karnabahar tohumlarında *Deliaradicum*, *Phyllatretanemarum*, *Brevicorynebrassicae* zararlıları ile savaşımında film kaplama uygulamasının alternatif ve çevreye dost bir koruma yöntemi olduğunu ifade etmişlerdir.

Ester et al., (1997), 1993-1995 yılları arasında *Thripstabaci* böceğine karşı pırasa tohumlarına (*Alliumporrum* L.) tohum kaplama uygulaması ile insektisit yükleyerek mücadele etmişlerdir. Tohum kaplama uygulaması ile verilen fipronil ve imidoclopiridinsektisitleri ile mücadelede etkinlik sağlanmış, fiproniltoksik etkide bulunmazken; imidoclopiridin çimlenmeyi yavaşlatıp azalttığını gözlemlemişlerdir. Diflubenzuron, methiocahr, tefluhenzuron ve vamidothion adlı insektisitlerin etkili olmadığını ifade etmişlerdir.

Son yıllarda, tohuma antagonist mikroorganizmaların uygulanmasında, daha ideal formülasyonlar elde etmek üzere tohumlar biyolojik savaş elemanı (BSE) ile kaplanarak kapsül haline getirilmektedir. Tohumluğun BSE ile kaplanması işlemi “biopriming” olarak adlandırılmaktadır. Biopriming işlemi tohuma bazı avantajlar sağlar: aşırı nemli, su basmış ya da soğuk ve *Pythiummultimum* ile bulaşık topraklarda hızlı ve üniform bir tohum çıkışı sağlar. Aşırı ıslak bir toprakta, biopriming işleminden geçen tohumlardaki çıkış oranı %38 ve sadece bakteri süspansiyonu uygulanmış tohumlardaki çıkış oranı %5 olurken, hiç uygulama görmemiş tohumlarda çıkış saptanamamıştır. Biopriming işleminin bir avantajı da, tohuma uygulanması gereken bakteriyel inokulum miktarını azaltmasıdır. Normalde *Pythium* tohum çürüklüğünün önlenmesi için 10^7 cfu/tohum oranında bir bakteriyel inokulum gerekliken, biopriming’deki bakteriler çok hızlı çoğalacağı için, başlangıçta 10^4 - 10^5 cfu/tohum olan inokulum kısa sürede 10^7 CFU/tohuma ulaşmıştır (Bora ve Özaktan, 1998).

Pereira et al., (2005), tohum kaplama ile serada yetiştirilen soya fasulyesi tohumlarında fungusit, film kaplama uygulaması yapmışlar ve *Bradyrhizobium* bakterisini inoküle etmişler ve sonuçları yorumlamışlardır. Böylelikle film kaplama uygulamasının bu tip çalışmalarda uygulanabileceğini ifade etmişlerdir.

Priming işleminde, *Trichoderma* da *Enterobacter cloacae* içeren süspansiyonla çimlenme için gerekli olan düzeyin daha aşağısındaki düzeyde nemlendirilen tohumlar, daha sonra, ya şist, maden kömürü ya da yosun ile karıştırılmıştır. Taşıyıcılarla birlikte tohumlar hafif nemlendirilip, ekimden önce inkubasyona bırakılmıştır. Priming işleminden sonra, tohumlar aliminyum folyo üzerine yayılmış ve gece boyunca steril kabinde kurutulmuştur, daha sonra %1'lik CMC içinde süspanse edilmiş *Trichoderma harzianum* formülasyonu ile kaplanmıştır (yaklaşık 10^7 cfu/ml). Kaplanan tohumlar gece boyunca kurutulmuştur.

Pill et al., (2009), priming yapılmış ve yapılmamış hıyar tohumlarında kaplama ile birlikte fungusit olan *Trichoderma* mikroorganizmasının etkinliğini incelemişlerdir. Sonuç olarak priming yapılmış tohumların priming yapılmamış tohumlara göre bu fungusiti daha kolay elemine ettiği böylece fidelerde sağlıklı ve hızlı bir büyümenin gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Pereira et al., (2009), soya fasulyesi üretiminde özellikle toprak kaynaklı patojenler için tohumların film kaplama ile verilen fungusitler ile kaplanması yetiştiricilik açısından son derece önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir. Diğer yandan bu çalışmanın ışığında sera koşullarında soya fasulyesi tohumlarına polimer ile birlikte farklı fungusit uygulamaları ve *Bradyrhizobium* (220 mL 50 kg tohum ve 4×10^9 hücre gr) uygulaması yapmışlardır. Derosal ve Tegrin adlı iki fungusiti (200 mL polimer 100 kg tohum) polimer maddesi ile tohumlara uyguladıkları çalışmada polimerin fungusitin tohum yüzeyine kolayca tutunmasını sağladığı ve etkileşiminin çok daha iyi olduğunu vurgulamışlardır.

Taylor et. al., (2004), sıvı kaplama formülasyonları ile *Trichoderma harzianum* adlı biyolojik ajanı tohuma vererek toprakta mevcut olan

zararlı fungusların bitkiye saldırmasını engellemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada model olarak hıyar (*Cucumis sativus* L.) tohumları kullanılmış ve toprak *Pythium* spp. ile bulaştırılmıştır. Sıvı kaplama formülasyonu süspansiyon haline getirilmiş, içerisine *Trichoderma harzianum* 1295-22 olan biyolojik koruyucu ve toprağa uygulanmak üzere granüller yapıda humik ve fulvik asitler ilave edilmiştir. Ardından üniform bir şekilde 0.1 mm'den daha az kalınlıkta ve tohumun etrafına gelecek şekilde bu süspansiyon uygulanmıştır. Kaplanan tohumların bir kısmını ayırarak, tohumlar 4 gün 25⁰C'de bekletilmiştir. Ardından katı kaplama materyali hazırlanmış ve sıvı kaplama materyalinde olduğu gibi *Trichoderma harzianum* 'la birlikte humik ve fulvik asitler ilave edilmiştir. Sıvı kaplama ya da toz kaplama ile yapılan uygulamalarda *T. Harzianum*'un etkinliği daha önce bulamaç halinde yapılmış uygulamalara göre karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak kuluçka süresi boyunca suda bekletilen kaplanmış tohumların bekletilmeyen kaplanmış tohumlara göre bitki dayanımında artış gözlemlenmiştir. Aynı zamanda sıvı kaplama formülasyonu ile kaplanan tohumların *Pythium* spp. ile bulaşık toprağa ekildiğinde *T. Harzianum*'un verimliliğini arttırdığı belirlenmiştir. Kaplamanın tohumda fiziksel bir bariyer olarak patojen saldırılarına karşı engel olabileceği ve *T. Harzianum*'un gelişimi için uygun çevre koşullarının sağlanmasına yardım edebileceği ifade edilmiştir.

Wilson and Geneve (2004) fungusitkombinasyonu (Apron FL + Captan 400 + Thiram 42S + Vitavax 34) ve polime film laplama (CellPass TMCerpil, Manteca, CA) ayrı ayrı veya fungusit kombinasyonu + film kaplama uygulamalarının sh2 tatlı mısır tohumlarının su alımını ve düşük sıcaklıkta su alım zararını azaltmadaki etkileri incelenmiştir. Film kaplamanın düşük ve yüksek vigorlu sh2 tohumlarının normal çimlendirme ve stres çimlendirme koşullarında çimlenmesinin önemli derecede etkilemediği ifade edilmiştir. Film kaplamalı veya kaplamasız fungusit uygulamasının, çimlenme sıcaklığına bakılmaksızın düşük vigorlu tohumlarda fide çıkışını arttırdığı, çimlenme sıcaklığına 10⁰C'den 25⁰C'ye artarken fungusit uygulamasız ve film kaplanmış tohumlarda her iki genotipte de (düşük ve yüksek vigorlu) su alımının arttığını belirtmişlerdir.

Biyoprimering yöntemiyle tohum kaplamanın faydaları hızlı ve düzgün fide çıkışı sağlanması erken çimlenme ve büyümeyi teşvik etmesi, hastalık direncini

artırması olarak özetlenebilir. Tatlı mısır tohumları *Pseudomonas fluorescens* 'in AB254 straini ile 1×10^7 cfu/ g tohum dozunda biyopriming uygulaması görmüştür. Biyopriming sırasında başlangıçtaki inokulum düzeyine bağlı olarak *Pseudomonas fluorescens* popülasyonu 10 katından 10 000 katına artmıştır (Callan et al., 1990). Biyopriming uygulaması, metalaxly ile tohum uygulamasından daha etkili bulunmuştur.

Endofit teriminin sözcük olarak anlamı “bitki içinde” demektir. Bu kavram içinde simbiyotik ilişkiden fakültatif saprofitik, parazitik ve mutualistik ilişkiye kadar uzanan geniş bir yelpazeyi kapsar (Kobayashi and Palumbo 2000). Hıyar bitkisinden izole edilen *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, ve *Stenotrophomonas* vb. gibi bakterilerle endofitler arasında patojenler kadar antagonistik bakteriler de yer almaktadır (Mahaffee and Kloepper, 1997a, 1997b; McInroy and Kloepper, 1995). Endofitik bakteriler yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularından izole edilen ya da bitki içsel dokularından ekstrakte edilen ve bitkilere herhangi bir zarar vermeyen bakteriler olarak tanımlanır (Hallmann et al., 1998).

İçsel bitki dokuları endofitik bakteriler için korunaklı bir ortam sağlayarak, bitki patojenlerine özellikle de vasküler solgunluk patojenerine benzer şekilde kolonize olmalarına olanak sağlar. Bu nedenle, antagonistik endofitik bakteriler biyolojik savaş elemanı olarak umut verici bulunmaktadır (Berg and Hallmann, 2006).

Pek çok ülkede endofitik bakterilerinin bitkilerde verimi artırıcı etkisi üzerinde çalışılmaktadır (Chen ve ark., 1996; Arias, 2000; Luz, 2000; Romeiro, 2000; Wall, 2000).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışmada Kullanılan Endofitik Bakteriler

Çalışmada Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji labortauvarı stoklarında bulunan, sağlıklı hıyar bitkilerinden yüzeysel dezenfeksiyon sonrası içsel dokulardan izole edilen, daha önce yürütülen çalışmalar sonucunda in vitro koşullarda bitki gelişimini artırıcı ve hıyar bitkisinde sorun olan bazı fungal ve bakteriyel hastalıklara karşı biyolojik savaş etkisi saptanan ve Çizelge 3.1’de detaylı bilgileri verilmiş olan endofitik bakteri izolatları kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan EB izolatlarının tümü rifamycine (200 ug/ml) dayanıklı olarak etiketlenmiştir.

Çizelge 3.1. Tez Projesinde kullanılacak Endofitik bakteri izolatlarına ilişkin bilgiler.

EB İzolat No	İzole edildiği yer	Türü	Bakteriyel Genus
80	Ödemiş / yaprak	Gram (-)	Gram (-) non floresent
83	Ödemiş / kök	Gram (-)	<i>Pantoea sp.</i>
99	Bayındır –Buruncuk/ yaprak	Gram (+)	<i>Bacillus sp.</i>

3.2 Çalışmada Kullanılan HıyarÇeşidi

Ülkemizde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan hibrit hıyar (*Cucumis sativus* L.) çeşidi Gordion bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

3.3 EB’lerin Tohuma Kaplanması ve Kullanılan Kimyasallar

EB’lerin hıyar tohumlarına manuel olarak kaplanmasında Carboxymethylcellulose (%1’lik CMC) ve tohum film kaplama makinasında kaplanmasında ise sentetik boyar madde içeren INCOTEC firmasından sağlanan her EB izolatı için farklı renkler kullanılmıştır. Bu amaçla Disco HP Pearl Green 506 (Yeşil), Disco HP Pearl Blue L-504 (Açık mavi) ve Disco AG 321(kırmızı) renkli polimerler kullanılmıştır.

3.4 Çalışmada Etkisi Araştırılan Tohum Bakterizasyonu Testleri

Bu tez çalışmasında aşağıda belirtilen tohum bakterizasyonu uygulamalarının hıyar tohumlarının içindeki EB popülasyonuna ve tohumun çimlenme/çıkışına etkisi test edilmiştir. Tohum bakterizasyonu uygulamasından önce hıyar tohumlarının yüzeyi %0.2'lik Na-hipoklorit ile dezenfekte edilmiştir. Farklı tohum bakterizasyonu uygulamaları aşağıdaki gibi özetlenmiştir:

I. TEKNİK: Tryptic Soya Agar (TSA)'da 24 – 48 saat süreyle geliştirilen EB'lerden steril suda çalkalanarak hazırlanmış bakteri süspansiyonu ile hıyar tohumları 30' süreyle 120 rpm'de kaplanmış ve kurutma kağıtları arasında 24°C'de 1 saat kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil3.1. Bakteri süspansiyonlarının tohumlara uygulanması.

II. TEKNİK: Tryptic Soya Agar (TSA)'da 24 – 48 saat süreyle geliştirilen EB'lerden steril CarboxyMethylCellulose (%1.'lik CMC) ile süspanse edilmiş, hıyar tohumları (5g tohum / 10ml bakteri süspansiyonu, 10^9 cfu/ml, (OD600=0.5) bu bakteri süspansiyonu içinde 30 dakika boyunca bekletilmiş ve kurutma kağıtları arasında 24°C'de 1 saat kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Tohuma CMC içinde hazırlanmış bakteri süspansiyonlarının uygulanışı.

III. TEKNİK: Tryptic Soya Agar (TSA)’da 24 – 48 saat süreyle geliştirilen EB’lerden steril suda hazırlanmış bakteri süspansiyonu ve sentetik polimer aynı anda TOTEM’de bulunan ‘CIMBRIA’ marka laboratuvar tipi Cc-lab (Centricoater) tohum film kaplama cihazı yardımıyla bakteri süspansiyonu ile kaplanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Tohumlara bakteri süspansiyonlarının Cc-lab (Centricoater) yardımıyla film kaplama tekniğinin uygulanışı.

IV. TEKNİK: Tryptic Soya Agar (TSA)’da 24 – 48 saat süreyle geliştirilen EB’lerden steril suda hazırlanmış bakteri süspansiyonu vakum pompası yardımıyla tohumlara infiltrasyon yöntemiyle uygulanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Tohumlara bakteri süspansiyonlarının vakum infiltrasyonu tekniğiyle uygulanışı.

3.5 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Bakterizasyonu Uygulamalarının Bakteri Populasyonuna ve Vigorite İndeksine Etki Testleri

Bu tez projesinin materyalini oluşturan, rifamicinedayanıklı 3 EB izolatı oda sıcaklığında ve buzdolabında olmak üzere 2 farklı depolama seçeneğinde vakumlu paketler içerisinde 6 ay süreyle depolanmıştır. Farklı depolama koşullarında tutulan her bir tohum bakterizasyonu uygulamasından hemen sonra başlanarak, 30 günlük periodlarla örnekler alınarak tohumdaki endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğu belirlenmiştir (Şekil 3.5).

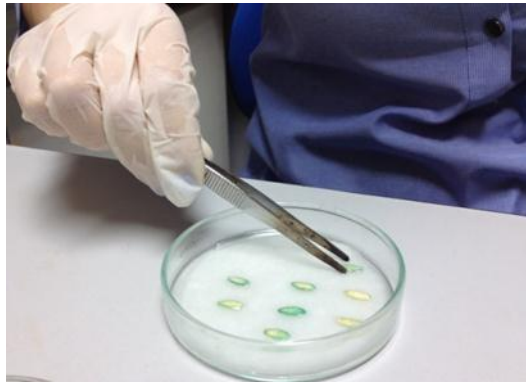


Şekil 3.5. Farklı tohum uygulamalarının EB'lerin populasyon yoğunluğuna etkilerinin testlenmesi (soldan sağa: tohumların tartılıp ezilmesi, seyreltme serilerinin hazırlanması ve rif200ppm içeren TSA besiyerine ekilmesi).

Tohum bakterizasyonu yapılan hıyar tohumlarında 1 gram örnekte EB populasyonu (cfu/g hıyar tohumu) izolasyon işlemi ile denemenin başlangıcında belirlenmiştir. Bu amaçla, %1'lik Na-hipoklorit ile 3' süreyle yüzey

dezenfeksiyonu yapılan hıyar tohumları 3 kez steril sudan geçirildikten sonra kurutma kağıtları arasında kurutulmuştur. Stoemaker yardımıyla ezilen tohumlardan seyreltme serileri hazırlanarak TSA(200 ppmrif içeren) üzerine ekim yapılmıştır. 24°C’de 48-72 saatlik inkubasyondan sonra gelişen koloniler sayılarak gram tohum başına EB sayısı (cfu/g tohum) saptanmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu işleminin başarısını kontrol etmek için son yıkama suyundan da TSA(200ppmrif içeren)’a ekim yapılmış, eğer hiç bakteriyel gelişme yoksa izolasyon işlemi başarılı olarak kabul edilmiştir.

Ayrıca, depolama koşullarının tohum çimlenme ve çıkışına etkisi de Vigorite indeksi testi ile saptanmıştır. Farklı depolama koşullarında bekletilen her bir tohum bakterizasyonu uygulamasından başlangıçtan itibaren 30 gün aralıklarla tohum örnekleri nemlendirilmiş steril kurutma kağıtlı petrilere ekilmiştir. Her izolat, her uygulama ve her depolama koşulu 3 petride, her petride 10 tohum olacak şekilde yinelenmiştir(Şekil 3.6). Sadece steril su ile uygulama görmüş, sadece CMC ile uygulama görmüş ve sadece sentetik polimer ve steril su ile film kaplama cihazında uygulama görmüş hıyar tohumları da Negatif Kontrol olarak kullanılmıştır. 24°C’de 7 günlük inkubasyondan sonra, çimlenme %’si, radisil ve hipokotil uzunluğu ölçülerek Vigoriteİndeksi hesaplanmıştır. VI: % çimlenme X (radicil uzunluğu + hipokotil uzunluğu) (Gerhardson ve ark., 1985).



Şekil 3.6. Uygulama görmüş tohumların VI’ni saptamak amacıyla her depolama koşulu için 3 petride, her petride 10 tohum olacak şekilde nemlendirilmiş steril çift katlı kurutma kağıdına ekim işlemi.

3.5.1 Verilerin Analizi

Uygulamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar ve interaksiyonlar ANOVA analizi ile SPSS 17.0 programı kullanılarak yapılmıştır. Kategoriler arasındaki farklılıklar %95 güven aralığında DUNCAN analizi ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR

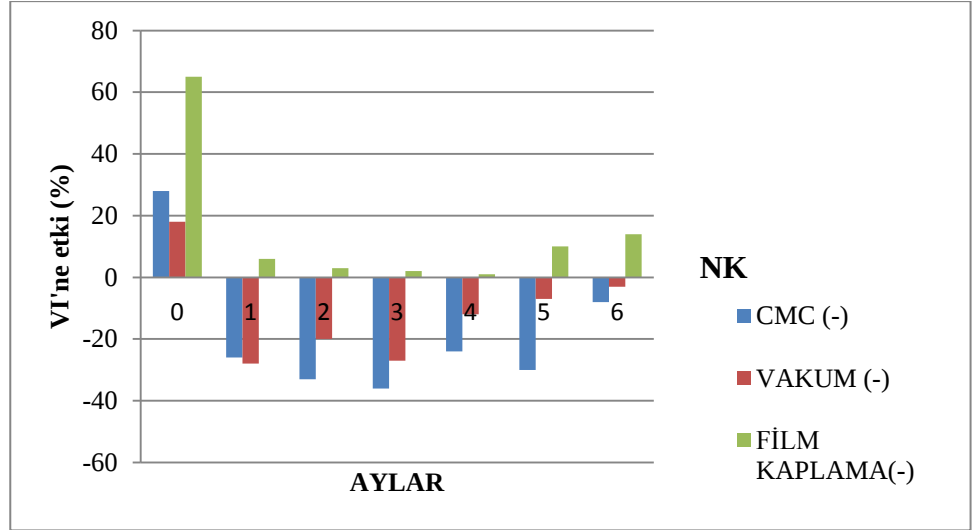
4.1 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Kaplama Uygulamalarının Bakterilerin Yokluğunda Vigorite İndeksine Etkisi Testleri Sonuçları

Farklı tohum kaplama uygulamalarının bakterilerin yokluğunda tohum çimlenme ve VI'ne olası olumlu ya da olumsuz etkileri, sadece steril su uygulanmış NK ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Kaplanan tohumlar oda sıcaklığında ve buzdolabında olmak üzere 2 farklı depolama seçeneğinde vakumlu paketler içerisinde 6 ay süreyle depolanmıştır. Depolama koşullarının ve tohum kaplama uygulamalarının tohum çimlenme ve çıkışına etkisi de Vigorite indeksi testi ile saptanmıştır. Oda sıcaklığında bekletilen tohumlardan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1- Şekil 4.1 ve Çizelge 4.2- Şekil 4.2' görülmektedir.

Çizelge 4.1. Farklı tohum kaplama uygulamalarının, bakterilerin yokluğunda, oda sıcaklığında tohum çimlenme ve VI'ne, negatif kontrol'e göre etkisi.

Aylara göre vigorite indeksi (VI) değerleri*	Tohum uygulamaları			
	CMC (-)	VAKUM(-)	FİLM KAPLAMA(-)	NEGATİF KONTROL(St eril Su)
0.ay	5360 a	4957 a	6917 a	4180 a
1.ay	2800 ab	2700 b	4006 ab	3772 a
2.ay	2300 ab	2741 b	3532 b	3442 ab
3.ay	2198 b	2510 b	3493 b	3458 ab
4.ay	2000 b	2320 b	2707 b	2648 bc
5.ay	1801 b	2400 b	2861 b	2581c
6.ay	1900 b*	2000 b*	2364 b*	2070c*

*Değerler herbirinde 10 tohum bulunan 3 tekerrür ortalamasıdır.



Şekil 4.1.Farklı tohum kaplama uygulamalarının bakterilerin yokluğunda zamana bağlı olarak oda sıcaklığında VI'ne negatif kontrol'e göre etkisi.

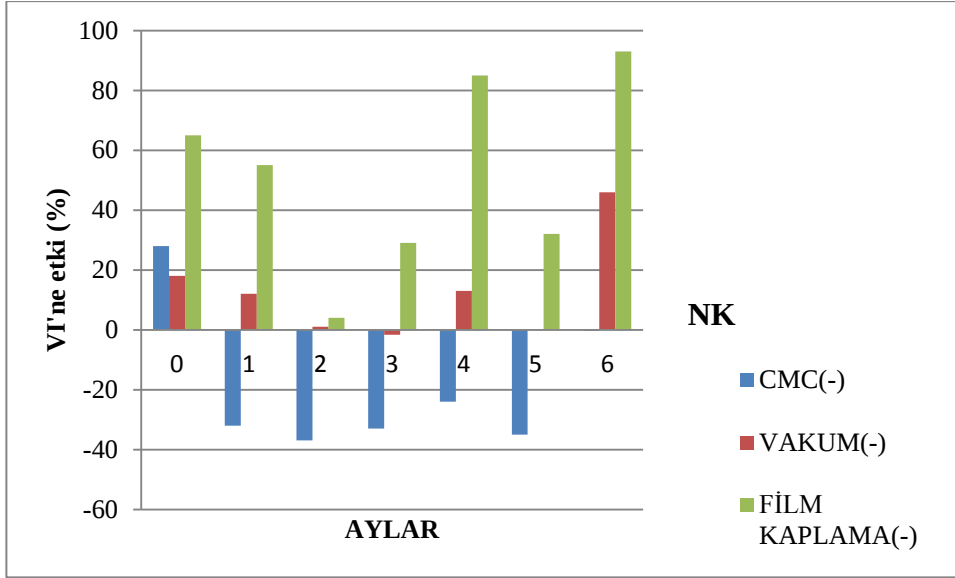
Altı ay boyunca yapılan uygulamalar sonucubakterilerin yokluğunda oda sıcaklığında negatif kontrol olan steril su ile kıyaslandığında film kaplama uygulamasının en başarılı uygulama olduğu sonucuna varılmıştır. CMC ve vakum infiltrasyon uygulamalarının ise tohumun vigoritesini, oda sıcaklığında beklettiklerinde, olumsuz etkiledikleri sonucuna varılmıştır.

Buzdolabında bekletilen ve farklı kaplama uygulamaları yapılmış tohumların zamana bağlı olarak VI'ndeki değişim ise Çizelge4.2-Şekil 4.2'de görülmektedir.

Çizelge 4.2. Farklı tohum kaplama uygulamalarının, bakterilerin yokluğunda, buzdolabı koşullarında(+4°C) tohum çimlenme ve VI'ne, negatif kontrol'e göre etkisi.

Aylara göre vigorite indeksi (VI) değerleri*	Tohum uygulamaları			
	CMC (-)	VAKUM(-)	FİLM KAPLAMA(-)	NEGATİF KONTROL (Steril Su)
0.ay	5360 a	4957 a	6917 a	4180 a
1.ay	2700 ab	3500 ab	6199 a	3995 ab
2.ay	2452 b	3938 ab	4048 a	3897 ab
3.ay	2300 b	3400 ab	4458 a	3458 abc
4.ay	2000 b	3000 b	4887 a	2648 cd
5.ay	1987 b	3066 ab	4050 a	3066 bc
6.ay	1960 b*	2877 b*	3798 a*	1968 d*

*Değerler herbirinde 10 tohum bulunan 3 tekerrür ortalamasıdır.



Şekil 4.2. Farklı tohum kaplama uygulamalarının, bakterilerin yokluğunda, zamana bağlı olarak buzdolabı koşullarında (+4⁰C) VI'ne, negatif kontrol'egöre etkisi.

Altı ay buzdolabı koşullarında (+4⁰C) depolama sırasında, bakterilerin yokluğunda, tohum vigoritesine olumlu ya da olumsuz etkileri testlenen tohum uygulamaları negatif kontrol olan steril su ile kıyaslandığında, sadece CMC uygulamasında olumsuz etki saptanırken; film kaplama ve vakum infiltrasyon yönteminin başlangıçtan itibaren VI'ni olumlu etkilediği gözlenmiştir (Çizelge 4.2- Şekil 4. 2).

4.2 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Bakterizasyonu Uygulamalarının Vigorite İndeksine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Testleri

Bu tez çalışmasında tohum bakterizasyonu yapmak üzere kullanılan 3 EB izolatı oda sıcaklığında ve buzdolabında olmak üzere 2 farklı depolama seçeneğinde vakumlu paketler içerisinde 6 ay süreyle depolanmıştır. Depolama koşullarının tohum çimlenme ve çıkışına etkisi de Vigorite indeksi testi ile saptanmıştır.

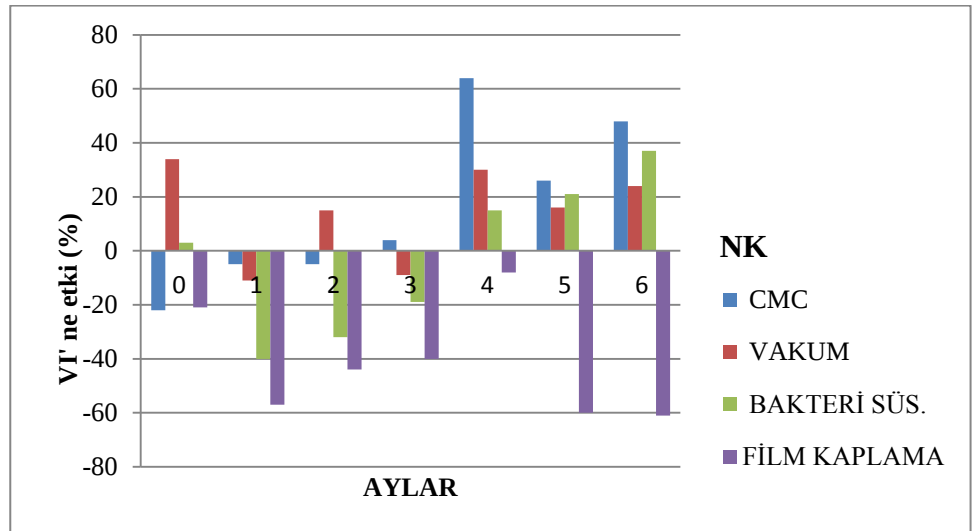
4.2.1 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında bekletilen tohumların vigorite indeksine etkisi

Oda sıcaklığı koşullarında bekletilen her bir tohum bakterizasyonu uygulamasından başlangıçtan itibaren 6 ay süreyle, 30 gün aralıkla tohum örnekleri nemlendirilmiş steril kurutma kağıtlı petrilere ekilmiştir. 80, 83 ve 99 no.lu EB izolatlarının uygulandığı farklı tohum bakterizasyonu işlemleri sonucunda oda sıcaklığında tutulan tohum örneklerinden elde edilen VI değerleri, sırasıyla Çizelge 4.3 -Şekil 4.3, Çizelge 4.4- Şekil 4.4 ve Çizelge 4.5- Şekil 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.3.80 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve oda sıcaklığında bekletilen tohumların vigorite indeksindeki değişim.

Aylara göre vigorite indeksi (VI) değerleri*	Tohum uygulamaları				
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA	NEGATİF KONTROL(steril su)
0.ay	3272 ab	5613 a	4290 a	3289 a	4180a
1.ay	3584 ab	3346 bc	2249 b	1635 c	3772 a
2.ay	3283 ab	3973 b	2350 b	1926 bc	3442 ab
3.ay	3590 ab	3146 bc	2809 b	2084 bc	3458 ab
4.ay	4340 a	3448 bc	3048 b	2424 b	2648 bc
5.ay	3247 ab	2997 bc	3130 b	1032 d	2581 c
6.ay	3064 b*	2565 c*	2848 b*	812 d*	2070 c*

*Değerler herbirinde 10 tohum bulunan 3 tekerrür ortalamasıdır.



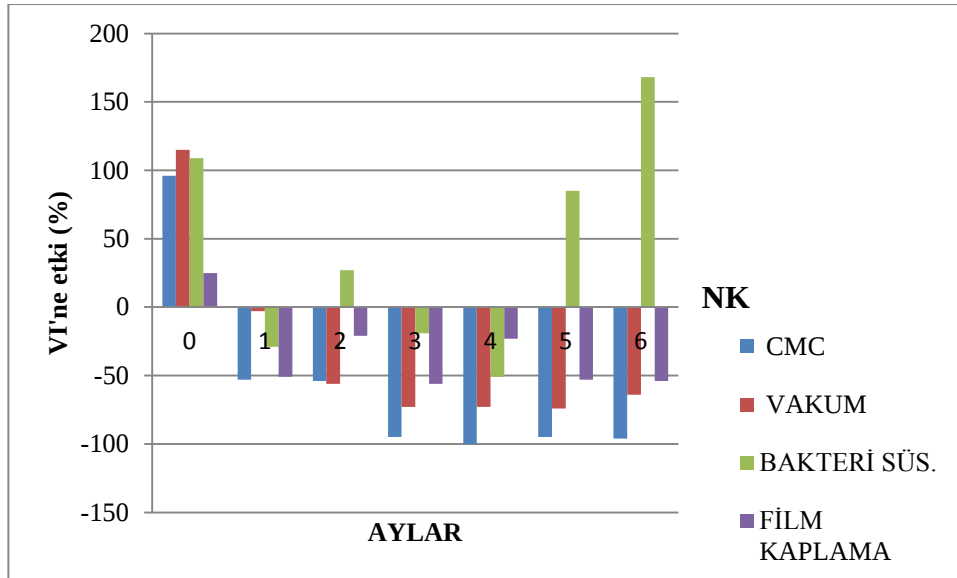
Şekil 4.3. 80 numaralı bakteri ile yapılan tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında tutulan tohumlarda, zamana bağlı olarak, negatif kontrole göre, tohumların VI'ne etkisi.

Çizelge 4.3. ve Şekil 4.3.'de görüldüğü gibi, 80 numaralı bakteri ile farklı kaplama uygulamaları arasında, 6 ay boyunca oda koşullarında saklandığında, hıyar tohumlarının VI değerleri açısından; Negatif Kontrole kıyasla en olumsuz uygulamanın film kaplama olduğu sonucu çıkmaktadır. En başarılı uygulamanın ise CMC ile tohum bakterizasyonu uygulaması olduğu, bunu vakum infiltrasyonu ve bakteri süspansiyonu uygulamalarının izlediği söylenebilir.

Çizelge 4.4. 83 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve oda sıcaklığında bekletilen tohumların vigorite indeksindeki değişim.

Aylara göre vigorite indeksi (VI) değerleri*	Tohum uygulamaları				
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA	NEGATİF KONTROL (steril su)
0.ay	8201a	8995a	8748a	5240 a	4180 a
1.ay	1773 b	3667 b	2687 de	1842 bc	3772 a
2.ay	1582 b	1495 c	4375 bcd	2713 b	3442 ab
3.ay	170 c	914 c	2790 cde	1523 bc	3458 ab
4.ay	10 c	721 c	1284 e	2043 bc	2648 bc
5.ay	132 c	660 c	4790 bc	1206 bc	2581 c
6.ay	76 c*	744 c*	5560 b*	952 c*	2070 c*

*Değerler herbirinde 10 tohum bulunan 3 tekerrür ortalamasıdır.



Şekil 4.4. 83 numaralı bakteri ile yapılan tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında tutulan tohumlarda, zamana bağlı olarak, negatif kontrole göre, tohumların VI'ne etkisi.

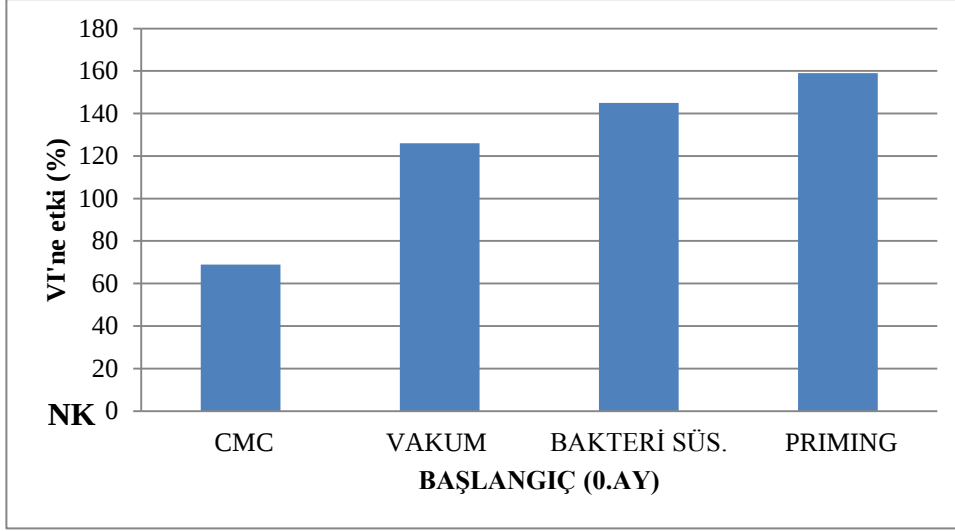
Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4’de görüldüğü gibi, 83 numaralı bakteri ile farklı kaplama uygulaması görmüş hıyar tohumları oda koşullarında saklandığında, bakteri süspansiyonu hariç, diğer uygulamaların ikinci aydan itibaren VI’nde ciddi düşüslere neden olduğu saptanmıştır. Bakteri süspansiyonu ile uygulama gören tohumlar oda sıcaklığında bekletilmeleri durumunda, negatif kontrole kıyasla, VI’ndeki olumsuzluğun diğer uygulamalara göre en az olması nedeniyle, 83 no.lu EB uygulamasının bireysel olarak tohum çimlenme ve çıkışına olumsuz etkisinin olmadığı, ancak tohum uygulama yöntemlerinin oda sıcaklığı koşullarında VI’ni olumsuz etkilediği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.5. 99 numaralı bakteri ile tohum bakterizasyonundan hemen sonra, tohuma yapılan uygulamaların VI’ne etkisi.

Başlangıçtaki vigorite indeksi (VI) değerleri*	Tohum uygulamaları				
0.AY	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA	NEGATİF KONTROL (steril su)
	7052	9457	10265	10842	4180

*Değerler herbirinde 10 tohum bulunan 3 tekrerr ortalamasıdır.

99 numaralı bakteri ile tohum bakterizasyonundan hemen sonra, tohuma yapılan uygulamaların tohum çimlenme ve çıkışına etkisi değerlendirildiğinde, genel olarak tüm tohum bakterizasyonu uygulamalarının negatif kontrole göre VI’ni olumlu etkilediği gözlenmiştir (Çizelge 4.5, Şekil 4.5). Ancak; 99 no.lu EB ile gerçekleştirilen tohum uygulamalarından 1 ay sonra yapılan canlılık ve popülasyonizleme çalışmalarında hiç bakteriyel gelişme saptanamamıştır. Deneme ikinci kez yinelendiğinde de benzer sonuçların alınması nedeniyle bu bakterinin gerçek anlamda bir endofitik mikroorganizma gibi davranmadığı ve tohumun iç dokularına giremediği sonucuna varılmıştır. Bu olumsuzluk nedeniyle, söz konusu bakteri ile daha sonraki aylarda VI çalışmalarına devam edilememiştir.



Şekil 4.5. 99 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından hemen sonra, negatif kontrole göre, tohumların VI'ne etkisi.

4.2.2 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında (+4°C) bekletilen tohumların vigorite indeksine etkisi

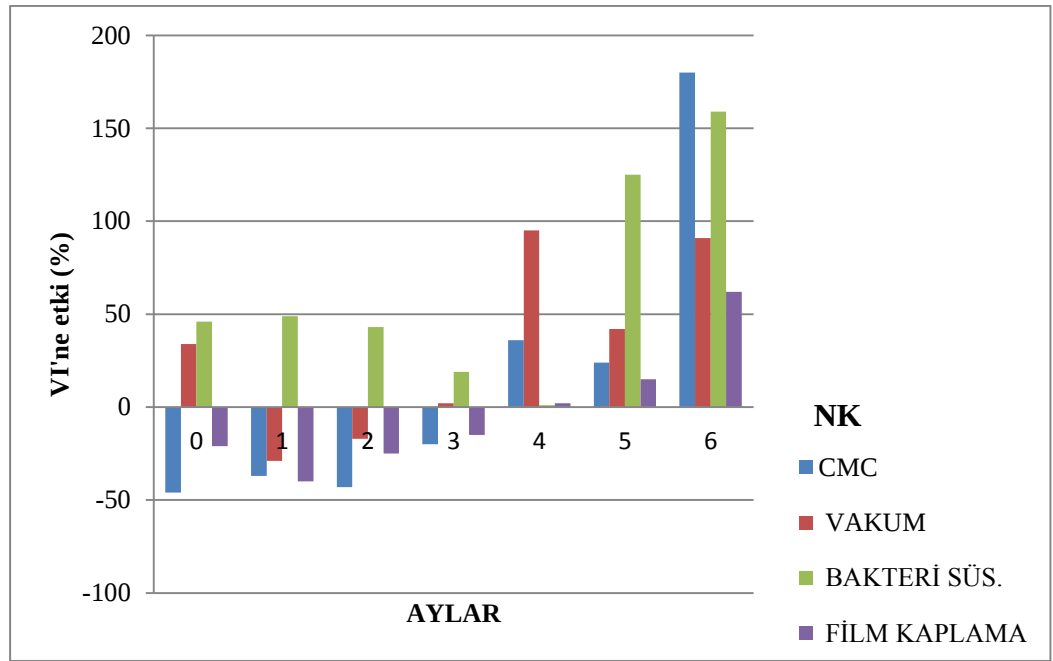
Buzdolabı koşullarında (+4°C)'de bekletilen her bir tohum bakterizasyonu uygulamasından başlangıçtan itibaren 6 ay süreyle, 30 gün aralıkla tohum örnekleri nemlendirilmiş steril kurutma kağıtlı petrilere ekilmiştir. 80, 83 ve 99 no.lu EB izolatlarının uygulandığı farklı tohum bakterizasyonu işlemleri sonucunda tohum örneklerinden elde edilen VI değerleri, sırasıyla Çizelge 4.6 - Şekil 4.6, Çizelge 4.7- Şekil 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.6. 80 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve buzdolabında bekletilen (+4°C) tohumların vigorite indeksindeki değişim.

Aylara göre vigorite indeksi (VI) değerleri*	Tohum uygulamaları				
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA	NEGATİF KONTROL (steril su)
0.ay	2272 b	5613 a	6100 abc	3289 ab	4180 a
1.ay	2528 b	2821 d	5954 abc	2382 b	3995 ab
2.ay	2235 b	3234 cd	5560 bc	2938 ab	3897 ab
3.ay	2775 b	3545 cd	4121 d	2947 ab	3458 abc
4.ay	3592 ab	5175 ab	6260 ab	2701 ab	2648 cd
5.ay	3808 ab	4365 abc	6900 a	3528 a	3066 bc
6.ay	5508 a*	3760 bcd*	5090 c*	3186 ab*	1968 d*

*Değerler herbirinde 10 tohum bulunan 3 tekerrür ortalamasıdır.

Çizelge 4.6'de görüldüğü gibi; VI değerleri açısından tohum kaplama uygulamaları arasında 6 ay süreyle buzdolabında depolama sonucunda, sadece steril su uygulaması görmüş negatif kontrol tohumları ile karşılaştırıldığında, en iyi sonuç CMC uygulamasından elde edilmiş, bunu bakteri süspansiyonu uygulaması izlemiştir. Benzer şekilde, Ek Çizelgelerde ve Şekil 4.6'da 80 no.lu bakterinin farklı tohum uygulamaları ile hıyar tohumlarına kaplanması için vigorite indeksine etkisi negatif kontrol ile karşılaştırıldığında elde edilen sonuçlar görülmektedir.



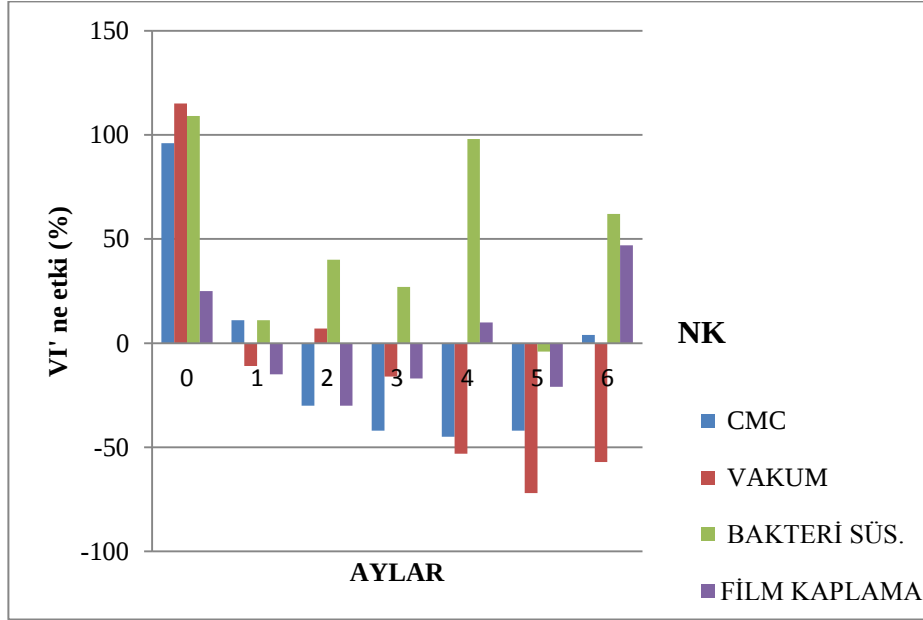
Şekil 4.6. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında tutulan (+4°C) tohumlarda, zamana bağlı olarak, negatif kontrole göre tohumların VI'ne etkisi.

Şekil 4.6'da negatif kontrol uygulaması ile karşılaştırıldığında; tohum çimlenmesi ve VI'ni olumsuz etkileyen uygulamaların film kaplama ve vakum infiltrasyonu uygulamaları olduğu anlaşılmaktadır. Bakteri süspansiyonu uygulamasının tohum VI'i üzerine negatif kontrole oranla olumlu etkisinin olduğu gözlenmektedir. Bu durumda, 80 no.lu bakterinin çimlenme ve VI üzerine olumsuz bir etkisi olmadığı sonucu çıkmaktadır. Altı ay boyunca buzdolabında bekletilen tohumlardaki VI değerleri NK ile karşılaştırıldığında ise; CMC ve bakteri süspansiyonu uygulamasının başarılı olduğu sonucu çıkmaktadır.

Çizelge 4.7.83 no.lu EB ile farklı yöntemler kullanılarak kaplanan ve buzdolabında bekletilen (+4°C) tohumların vigorite indeksindeki değişim.

Aylara göre vigorite indeksi (VI) değerleri*	Tohum uygulamaları				
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA	NEGATİF KONTROL (steril su)
0.ay	8201 a	8995 a	8748 a	5240 a	4180 a
1.ay	4421 b	3558 b	4453 bc	3405 ab	3995 ab
2.ay	2739 c	4177 b	5478 b	2733 ab	3897 ab
3.ay	1893 cd	2891 b	4391 bc	2882 ab	3458 abc
4.ay	1536 d	1255 c	5240 b	2910 ab	2648 cd
5.ay	2844 c	845 c	2933 c	2408 b	3066 bc
6.ay	2041 cd*	848 c*	3186 c*	2904 ab*	1968 d*

*Değerler herbirinde 10 tohum bulunan 3 tekerrür ortalamasıdır.



Şekil 4.7. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında tutulan (+4°C) tohumlarda, zamana bağlı olarak, tohum çimlenme ve çıkışına etkisi.

Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7’de görüldüğü gibi, 83 numaralı bakteri ile farklı kaplama uygulaması görmüş hıyar tohumları buzdolabı koşullarında saklandığında tohum uygulamaları açısından zamana bağlı olarak, VI’nde 30 günlük depolama sonrasında düşüşler gözlenmeye başlamıştır. Ancak, bakteri süspansiyonu uygulanmış tohumların CMC, vakum infiltrasyon ve film kaplama yöntemleri uygulanan tohumlara göre daha iyi bir başarı sağladığı 6 ay boyunca

yapılan vigorite indeksi testleri ile saptanmıştır. Bakteri süspansiyonu uygulamasının NK’de elde edilen VI değerlerine oranla daha başarılı bulunması (Şekil 4.7), 83 numaralı EB uygulamasının tohum çimlenme yeteneği ve VI açısından olumlu katkısı olduğunu göstermiştir.

4.3 Farklı Depolama Koşullarında Tohum Bakterizasyonu Uygulamalarının Endofitik Bakterilerin Canlılık ve Populasyon Değişimine Etkisi Testleri Sonuçları

Farklı depolama koşullarında tutulan her bir tohum bakterizasyonu uygulamasından hemen sonra başlanarak 6 ay süreyle, 30 günlük periodlarla örnekler alınarak tohumdaki endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğu belirlenmiştir.

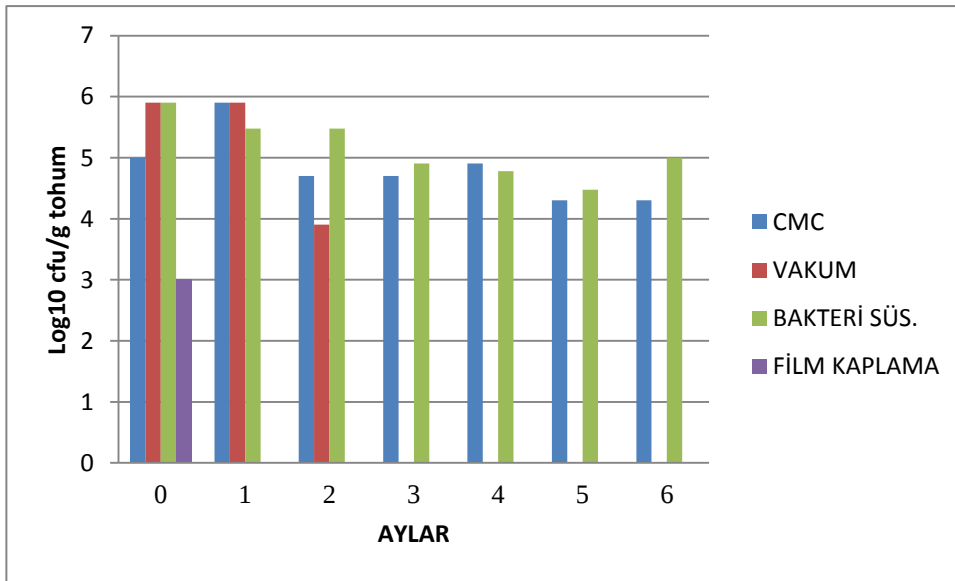
4.3.1 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının oda sıcaklığında bekletilen tohumların canlılık ve populasyon değişimine etkisi

Oda sıcaklığı koşullarında bekletilen her bir tohum bakterizasyonu uygulamasından başlangıçtan itibaren 6 ay süreyle, 30 gün aralıkla tohum örneklerinden EB’ler için uygulanan dezenfeksiyon kurallarına uyularak izolasyonlar gerçekleştirilmiştir. 80 ve 83 numaralı EB izolatlarının uygulandığı farklı tohum bakterizasyonu işlemleri sonucunda oda sıcaklığında tutulan tohum örneklerinden 6 ay süreyle elde edilen canlılık ve populasyon değişimi değerleri, sırasıyla Çizelge 4.8 -Şekil 4.8–4.9– 4.10ve Çizelge 4.9- Şekil 4.11–4.12- 4.13 verilmiştir.

Çizelge 4.8.80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra oda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.

Uygulama görmüş tohumlarda zamana bağlı olarak saptanan bakteri popülasyonu (cfu/g tohum)	Tohum uygulamaları			
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA
0.ay	1×10^5	8×10^5	8×10^5	1×10^3
1.ay	8×10^5	8×10^5	3×10^5	0
2.ay	5×10^4	8×10^3	3×10^5	0
3.ay	5×10^4	0	8×10^4	0
4.ay	8×10^4	0	6×10^4	0
5.ay	2×10^4	0	3×10^4	0
6.ay	2×10^4	0	1×10^5	0

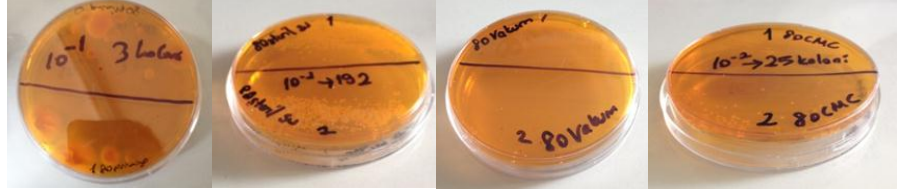
İzolasyonlar EB izolasyonu için uygulanan dezenfeksiyon kurallarına göre gerçekleştirilmiştir.



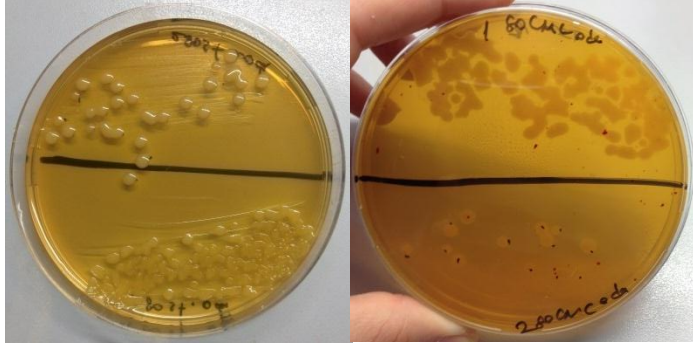
Şekil 4.8. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonraoda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.

Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8’de görüldüğü gibi,80 numaralı bakteri ile farklı kaplama uygulaması görmüş hıyar tohumları oda koşullarında saklandığında, bakteri süspansiyonu ve CMC uygulamalarından tohumdaki endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğusun aylara kadar başarıyla korunmuştur (Şekil 4.8, Şekil 4.8). Bu uygulamalarda başlangıçta, yaklaşık, 10^5 cfu/g tohum olan

popülasyon yoğunluğu, 6. ayın sonunda 10^4 - 10^5 cfu/g tohum düzeyini korumuş, oda sıcaklığında bekletilmeleri durumunda logaritmik anlamda en fazla 10-100 katı bir azalış saptanmıştır (Şekil 4.10). Ancak; film kaplama ve vakum yöntemlerinin ise en başarısız yöntemler olduğu ve ikinci aydan itibaren tohumlardaki bakteri popülasyonunun izlenemez hale geldiği saptanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9.80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından hemen sonra tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: film kaplama, bakteri süspansiyonu, vakum infiltrasyonu, CMC).

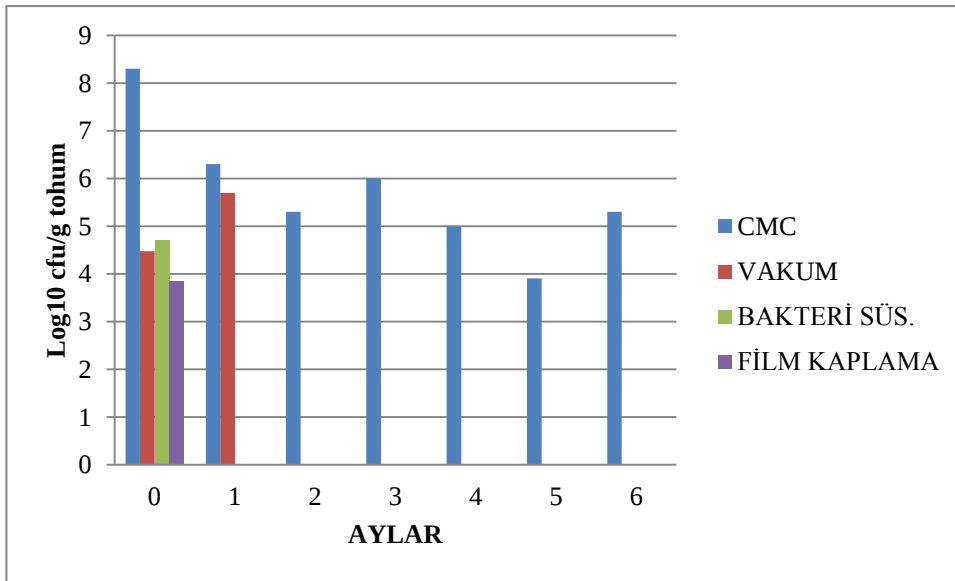


Şekil 4.10.80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra oda sıcaklığında bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: bakteri süspansiyonu, CMC).

Çizelge 4.9.83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra oda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.

Uygulama görmüş tohumlarda zamana bağlı olarak saptanan bakteri popülasyonu (cfu/g tohum)	Tohum uygulamaları			
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA
0.ay	2×10^8	3×10^4	5×10^4	7×10^3
1.ay	2×10^6	5×10^5	0	0
2.ay	2×10^5	0	0	0
3.ay	1×10^6	0	0	0
4.ay	1×10^5	0	0	0
5.ay	8×10^3	0	0	0
6.ay	2×10^5	0	0	0

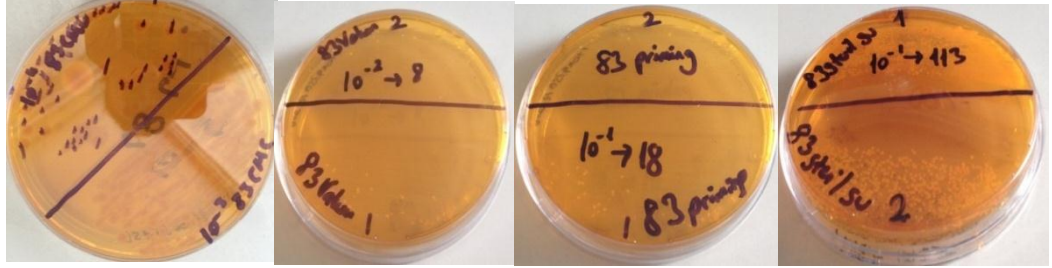
İzolasyonlar EB izolasyonu için uygulanan dezenfeksiyon kurallarına göre gerçekleştirilmiştir.



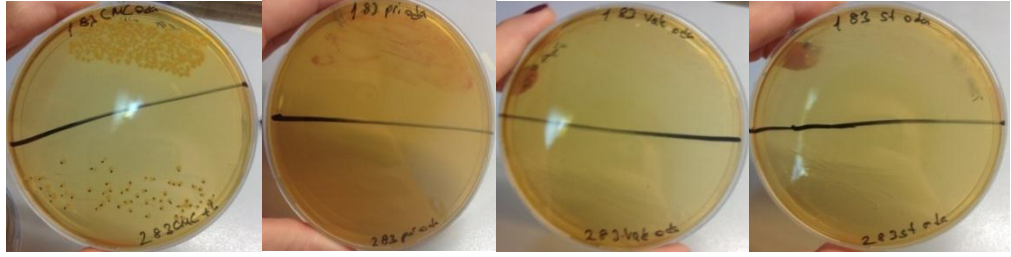
Şekil 4.11. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra oda sıcaklığında tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.

Çizelge 4.9 ve Şekil 4.11’de görüldüğü gibi, 83 numaralı bakteri ile farklı kaplama uygulaması görmüş hıyar tohumları oda koşullarında saklandığında tohumdaki endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğu; başlangıçta $10^3 - 10^8$ cfu/g tohum düzeyinde olmasına karşın, 30. günden başlayarak CMC

uygulaması hariç, hızlı bir canlılık kaybı saptanmıştır(Şekil 4.12). Ancak, CMC uygulaması gören tohumlar oda sıcaklığında 6 aylık bekletilme süreci sonunda yaklaşık 10^5 cfu/g tohum düzeyini koruyarak bakterinin canlılık ve populasyon yoğunluğunu en iyi koruyan uygulama olmuştur(Şekil 4.13).



Şekil 4.12.83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından hemen sonra tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: CMC,vakum infiltrasyonu, film kaplama, bakteri süspansiyonu).



Şekil 4.13.83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra oda sıcaklığında bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: CMC, film kaplama, vakum infiltrasyonu,bakteri süspansiyonu).

4.3.2 Farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarının buzdolabında(+4°C) bekletilentohumların canlılık ve populasyon değişimine etkisi

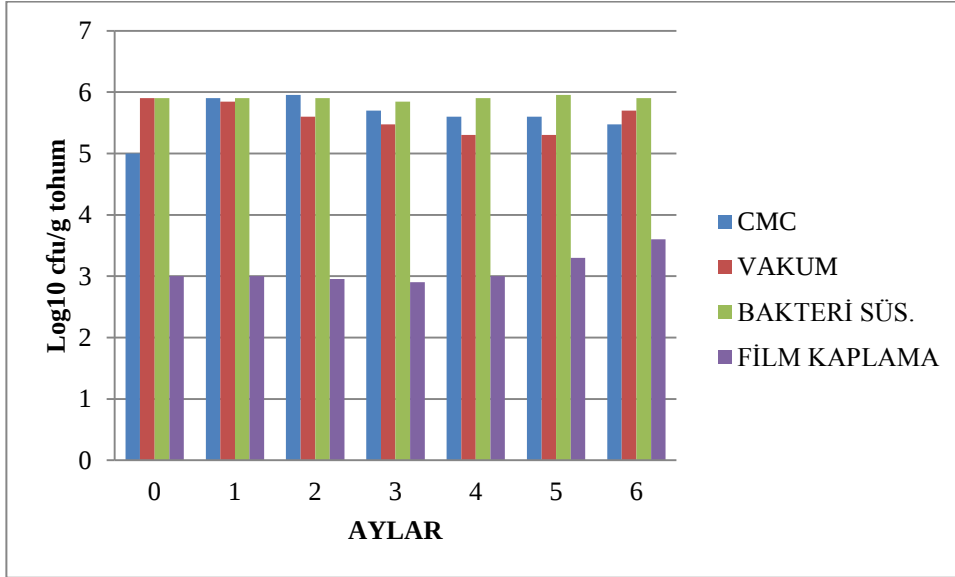
EB'ler ile farklı tohum uygulaması gören hıyar tohumları buzdolabı koşullarında bekletildiğinde, zamana bağlı olarak bakterinin canlılık ve populasyon değişimini periyodik olarak örnekleme yapılarak değerlendirilmiştir. 80 ve 83 numaralı EB izolatlarının uygulandığı farklı tohum bakterizasyonu işlemleri sonucunda buzdolabında (+4°C) tutulan tohum örneklerinden 6 ay

süreyle elde edilen canlılık ve populasyon değişimi değerleri, sırasıyla Çizelge 4.10-Şekil 4.14 - 4.15 - 4.16 ve Çizelge 4.11-Şekil 4.17 - 4.18 - 4.19 verilmiştir.

Çizelge 4.10.80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra buzdolabında(+4°C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.

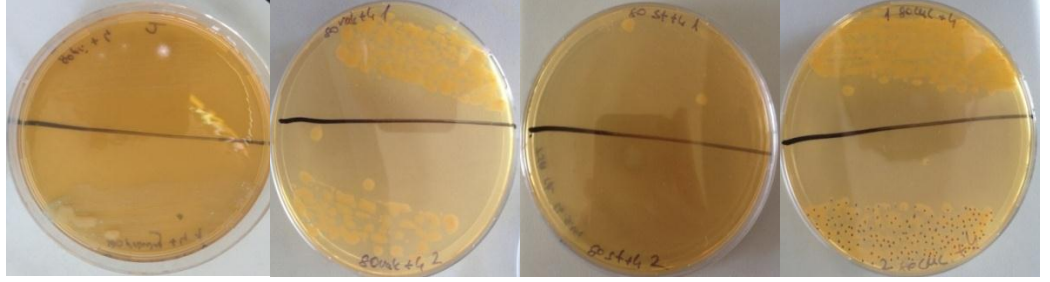
Uygulama görmüş tohumlarda zamana bağlı olarak saptanan bakteri popülasyonu (cfu/g tohum)	Tohum uygulamaları			
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA
0.ay	1×10^5	8×10^5	8×10^5	1×10^3
1.ay	8×10^5	7×10^5	8×10^5	1×10^3
2.ay	9×10^5	4×10^5	8×10^5	9×10^2
3.ay	5×10^5	3×10^5	7×10^5	8×10^2
4.ay	4×10^5	2×10^5	8×10^5	1×10^3
5.ay	4×10^5	2×10^5	9×10^5	2×10^3
6.ay	3×10^5	5×10^5	8×10^5	4×10^3

İzolasyonlar EB izolasyonu için uygulanan dezenfeksiyon kurallarına göre gerçekleştirilmiştir.

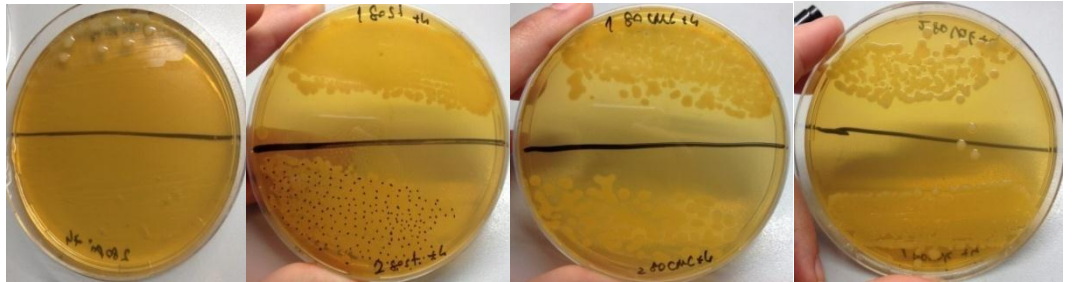


Şekil 4.14.80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonrabuzdolabında (+4°C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve populasyon yoğunluğundaki değişim.

Çizelge 4.10 ve Şekil 4.14’de görüldüğü gibi, tohum bakterizasyonundan hemen sonra elde edilen bakteri popülasyon değerlerine bakıldığında, tohumdaki bakteri popülasyonunun en yoğun olarak bakteri süspansiyonu, vakum uygulaması ve CMC uygulamasında yaklaşık 1×10^5 - 8×10^5 cfu/g tohum olarak saptandığı, film kaplama uygulamasının ise bakterilerin tohumda endofitik olarak tutunması için başarısız bir teknik olduğu anlaşılmaktadır. Buzdolabında 6 ay süreyle depolama sırasında, benzer şekilde bakteri süspansiyonu, vakum uygulaması ve CMC uygulamasında 80 nolu EB izolatinin popülasyon yoğunluğunda önemli bir düşüş saptanmamış, yaklaşık 3×10^5 - 8×10^5 cfu/g tohum düzeyini korumuştur (Şekil 4.15). Bu uygulamalarda 80 no.lu EB izolatinin popülasyon yoğunluğundaki artışının 6 ay boyunca sürdürdüğü, film kaplama yönteminin ise bu yöntemlere göre başarısının düşük kaldığı saptanmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.15. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 4 ay sonra buzdolabında ($+4^{\circ}\text{C}$) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: film kaplama, vakum infiltrasyonu, bakteri süspansiyonu, CMC).

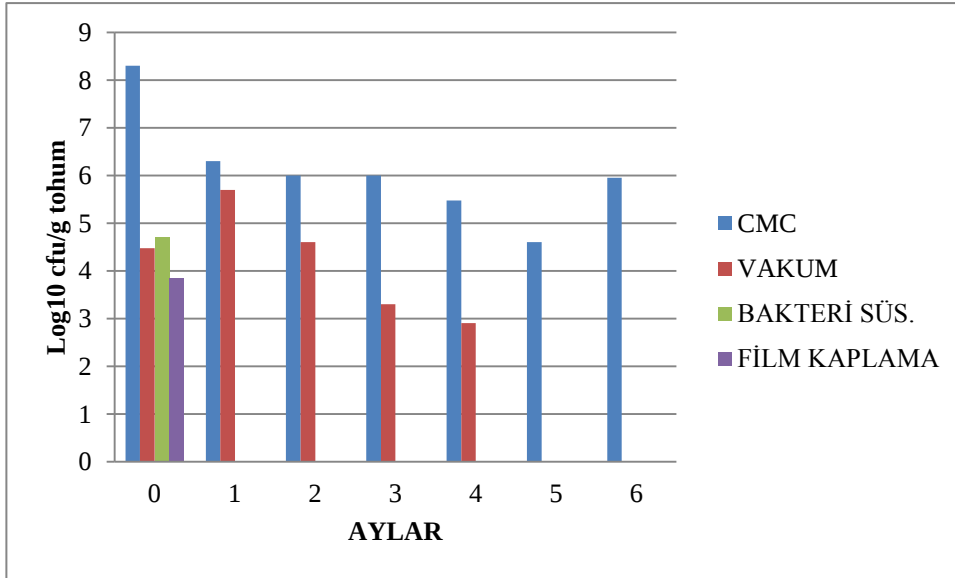


Şekil 4.16. 80 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra buzdolabında ($+4^{\circ}\text{C}$) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: film kaplama, bakteri süspansiyonu, CMC, vakum infiltrasyonu).

Çizelge 4.11.83numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra buzdolabında (+4°C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve popülasyon yoğunluğundaki değişim.

Uygulama görmüş tohumlarda zamana bağlı olarak saptanan bakteri popülasyonu (cfu/g tohum)	Tohum uygulamaları			
	CMC	VAKUM	BAKTERİ SÜS.	FİLM KAPLAMA
0.ay	2×10^8	3×10^4	5×10^4	7×10^3
1.ay	2×10^6	5×10^5	0	0
2.ay	1×10^6	4×10^4	0	0
3.ay	1×10^6	2×10^3	0	0
4.ay	3×10^5	8×10^2	0	0
5.ay	4×10^4	0	0	0
6.ay	9×10^5	0	0	0

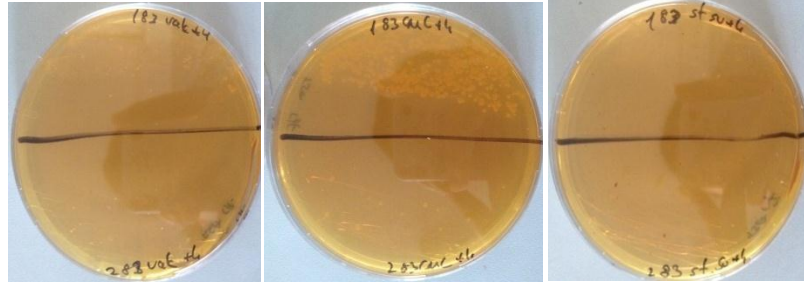
İzolasyonlar EB izolasyonu için uygulanan dezenfeksiyon kurallarına göre gerçekleştirilmiştir.



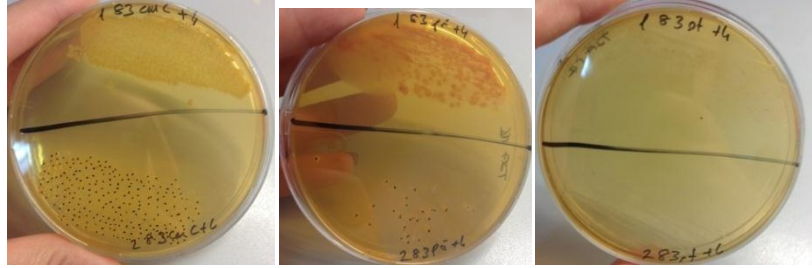
Şekil 4.17. 83numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından sonra buzdolabında (+4°C) tutulan hıyar tohumlarında, zamana bağlı olarak, endofitik bakterilerin canlılık ve popülasyon yoğunluğundaki değişim.

Çizelge 4.11 ve Şekil 4.17’de görüldüğü gibi, 83 numaralı bakteri ile farklı kaplama uygulaması görmüş hıyar tohumları buzdolabı koşullarında saklandığında, tohumdaki endofitik bakterilerin canlılık ve popülasyon yoğunluğu; başlangıçta 7×10^3 – 2×10^8 cfu/g tohum düzeyinde olmasına karşın, 30.

günden başlayarak CMC ve vakum infiltrasyonu uygulaması hariç, diğer uygulamalarda hızlı bir canlılık kaybı saptanmıştır. Uygulamaların yapılmasından 4 ay sonra, vakum uygulamasından da canlı bakteri saptanamazken, CMC uygulaması görmüş tohumlar, 6 ay süreyle buzdolabında bekletilmeleri sonucunda populasyon yoğunlukları 9×10^5 cfu/g tohum düzeyini koruyarak bakterinin canlılık ve populasyon yoğunluğunu en iyi koruyan uygulama olmuştur (Şekil 4.18, Şekil 4.19).



Şekil 4.18. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 5 ay sonra buzdolabında (+4°C) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: vakum infiltrasyonu, CMC, bakteri süspansiyonu).



Şekil 4.19. 83 numaralı bakteri ile farklı tohum bakterizasyonu uygulamalarından 6 ay sonra buzdolabında (+4°C) bekletilen tohumlarda gelişen EB kolonileri (soldan sağa: CMC, film kaplama, bakteri süspansiyon).

5.TARTIŞMA

Tohum kalitesinin iyileştirilmesine yönelik pek çok uygulama yapılmaktadır. Bu uygulamalar arasında uygun dönemde yapılan hasat, uygun koşullarda kurutma, uygun koşullarda işleme teknolojisi, uygun nem içeriğinin sağlanması, uygun tohum depolama koşulunun sağlanması yanında ekim öncesi yapılan bazı uygulamalar (priming, vs.), tohum işleme (seed conditioning) ve kaplama teknolojileri (pellet ve film kaplama uygulamaları) sayılabilmektedir (Taylor et. al., 1998). Tohum kalitesinin iyileştirilmesi amacıyla ekim öncesinde tohumlara yapılan fiziksel uygulamaların başında gelen tohum kaplama uygulamaları, ekilecek tohumların çimlenme ve çıkış performansının artırılmasına, tohum iriliğinin artırılmasına ve şeklinin düzgünleştirilmesine, ekim işleminin kolaylaştırılmasına, hastalık ve zararlılara karşı korunmasına yönelik yapılan bir uygulamadır.

Bu tez çalışmasında, farklı kaplama yöntemleri kullanılarak EB'ler hıyar tohumlarına uygulanmış ve bu uygulamalarla birlikte farklı depolama koşullarının tohum çimlenme ve Vigorite İndeksi (VI)'ne olası etkilerinin yanı sıra EB'lerin tohumlarda tutunma ve kolonizasyonlarına etkileri de araştırılmıştır. Tohum kaplama uygulamalarının EB'lerin yokluğunda tohum VI'ne olası olumlu ya da olumsuz etkileri değerlendirildiğinde buzdolabında bekletilen tohumlarda film kaplama ve vakum infiltrasyonu uygulamalarının, oda sıcaklığında bekletilen tohumlarda ise film kaplama uygulamasının, sadece steril su uygulanmış NK tohumlarına oranla VI'ni olumlu etkilediği değerlendirilmiştir. Ancak, her koşulda VI'ne etkisi bakımından en iyi uygulama yöntemi CMC uygulaması olmuştur. Film kaplama ve vakum infiltrasyonu gibi diğer tohum kaplama uygulamalarının VI'ne olumsuz etkilerinin bu proses sırasında tohumların fiziksel olarak etkilenmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Film kaplamada kullanılan polimer maddesinin (plastikliği sağlayıcı madde) suda kolay çözünmesinin ve tohumda toksik etki göstermemesinin gerekliliğini ifade eden Halmer (1987)'in bulgularına benzer şekilde çalışmada kullanılan polimer maddesinin hıyar tohumlarındaki çimlenme oranı düşüşü bulgularını destekler nitelikte toksik etkinin varlığından söz edilebileceği düşünülmektedir.

Yapmış olduğumuz tez çalışmasında oda sıcaklığı ve buzdolabı koşulları çimlenme ve canlılık açısından kıyaslandığında buzdolabı koşullarının tohum uygulamaları açısından daha başarılı olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlara benzer bir örnekte tohum uygulamaları konusunda ilk çalışmaları başlatan bilim adamlarından olan Heydecker (1973) tohum uygulamalarının en temel etkisinin çimlenme ve çıkış hızına bağlı olduğunu, bunun da tohumun çimlenmesi için gereksinim duyduğu üç su alım evresinin ilk ikisini uygulama periyodunda tamamlamış olmasından kaynaklandığını belirtmiştir. Toplam çimlenme etkilenmemiş olsa bile, hızdaki bu olumlu farklılık kısa zaman dilimi içinde iyi gelişmiş, homojen ve sağlıklı fide oluşumuna büyük katkılar sağlayacağı düşünülmüştür. Bu da özellikle erken ilkbahar döneminde düşük sıcaklığın, geç yaz döneminde de yüksek sıcaklığın tohum çimlenmesine, dolaylı olarak da fide üretimine yapmış olduğu sınırlayıcı etkiyi azaltmada yardımcı olacaktır. Tohum uygulamaları maydanoz (Akers 1987), domates (Alvarado et. all., 1987), lahana (Rao et. all., 1987), karpuz (Sachs 1977), karnabahar (Fujikura et.all., 1993)'da düşük sıcaklıklar, marul (Guedes and Cantliffe 1980), pırasa (Perare and Cantliffe 1994) ve ıspanak (Atherton and Farooque 1983)'ta yüksek sıcaklıkların çimlenmeye olan kısıtlayıcı etkisini kırmak amacıyla kullanılmıştır.

Bu tez çalışmasında da kullanılan polimer PEG'in tohum vigoritesine olumsuz etkilerinin saptandığını gösteren bazı araştırmalara rastlanmıştır. Hergüner(1993) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, PEG (polietilen glikol)-4000 ve 6000' in -2, -7 ve -15 bar basınca sahip olan 3 farklı dozu (112, 224, 336 g/l) ile KNO_3 , NH_4NO_3 , $\text{Ca}(\text{M}_3)^2$, KCl , % 2' lik solüsyonlarının karpuzlarda normal ve düşük sıcaklıktaki çimlenme ve çıkış özelliklerine etkisi araştırılmıştır. PEG uygulamalarının normal ve düşük sıcaklık koşullarında çimlenme ve çıkış üzerine olumlu etkileri saptanmamıştır (Hergüner, 1993). Çimlenmesi geç ve zor olan küçük embriyolu bazı sebze tohumlarının olumsuz toprak koşullarında çimlenmelerini iyileştirmek ve homojen fide çıkışını sağlamak amacıyla yapılan çalışmalarda, havuç başta olmak üzere kereviz, pırasa, soğan ve maydanoz gibi sebze tohumlarının ekim öncesi bazı tohum uygulamaları (priming) sonunda özellikle düşük ve yüksek toprak sıcaklıklarında hem çimlenme hem de çıkış oranlarının arttığı, hem de erken ve homojen fide çıkışı sağlandığı belirlenmiştir (Duman, 2006).

Yaptığımız tohum uygulamalarının sonuçlarına benzer şekilde yapılan bir çalışmada Brocklehurst et al. (1984) pırasa tohumlarının çimlenmesi ve fide çıkışı üzerine osmotik primingin etkisini inceledikleri araştırmalarında, PEG solusyonu ile tohumlara uygulama yapmışlardır. Uygulamanın çimlenme oranını, seradaki çıkış oranını ve fide ağırlığını artırdığını bildirmişlerdir. Uygulanmış tohumları kurutmanın (uygulanmış ama kurutulmamış tohumlarla karşılaştırıldığında) çimlenme ve çıkışı az da olsa geciktirdiğini çünkü tohumun yeniden su alımına kadar zaman geçtiğini belirtmişlerdir.

Bu tez çalışmasında 80 ve 83 no'lu bakterilerle yapılan film kaplama uygulamaları sonucunda buzdolabı ve oda sıcaklığında bekletilen tohumların çimlenme üzerine olumsuz etkisi yapılan istatistiksel çalışmalarla da desteklenmiştir. Buna benzer bir araştırma Williams and Hopper (1998), polimer kaplama uygulamasının; tohumun dışarı ile nem ve gaz alışverişini kısıtlamakla kalmayıp dışarıdan gelebilecek bir takım zararlılara karşı koruma sağladığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda tohumun yapısında bulunan ve çimlenmeyi sağlayan bir takım maddelerin tohumdan çıkışını engelleyip tohumda yaşlanmayı geciktirdiğini ve çimlenmeyi engellediğini de gözlemlemişlerdir.

Tohuma kaplama yönteminin seçimi kadar depolama koşulları da oldukça önemli bir unsurdur.

Owen and Pill (1994) uygulama görmüş kuskonmaz (*Asparagus officinalis* L.) ve domates tohumlarının 4°C'de düşük tohum neminde 3 ay depolanabildiklerini bildirmişlerdir. Powell et al. (2000) başlangıç güçleri düşük ve yüksek olan karnabahar tohumlarında 20°C'de 12-28 saat yapılan havalandırılmalı hidrasyon uygulamasının ardından tohumları 10°C'de 12 ay, 20°C'de 4 ay depolamıştır. Bu çalışmayla hidrasyon uygulamasının tohum depolama potansiyelini artırabileceği ancak burada tohumun başlangıç kalitesi ve uygulama süresi interaksiyonunun depolama üzerine etkili olduğu belirtilmiştir. Chang and Sung (1998) vermikülit ile uygulama yapılmış mısır tohumlarının depolanması üzerine yaptıkları çalışmalarında uygulama görmüş ve kontrol tohumlarını 12 ay depolamışlardır. Vermikülit uygulamasının çıkış oranını artırdığı belirtilmiştir. Bununla birlikte, uygulanmış tohumlar 12 ay

depolandığında, özellikle 25°C’de, depolama ömrü kısalmış ve uygulamanın olumlu etkisinin azaldığı bildirilmiştir. Mısır tohumlarında primingin etkisinin 10°C de 6 ay depolamadan sonra bile devam ettiği görülmüştür. 25°C de 6 ay depolamanın tohumlarda daha hızlı bozulma meydana getirdiğini saptamıştır. (Chang and Sung, 1998). Bu sonuçlar, tez çalışmasında elde edilen sonuçları destekleyici nitelikte bulunmuştur. Benzer şekilde 80 nolu EB uygulanmış tohumların buzdolabı koşullarında canlılık ve populasyon yoğunluğununda önemli bir düşüş olmazken, oda sıcaklığında hızlı bir düşüş meydana geldiği gözlemlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, film kaplama uygulanan ve 6 ay boyunca oda sıcaklığında bekletilen tohumların canlılık ve çimlenme oranında hızlı bir şekilde düşme olduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde yapılan bir başka çalışmada Argerich et al. (1989) domates tohumlarında primingin ve yaşılanmanın bozulmaya etkisini incelediklerinde, 4°C’de kontrol, uygulama görmüş ve yaşlandırılmış tohumların çimlenme oranı etkilenmezken, 30°C’de canlılık ve çimlenme oranı hem uygulanmış hem de yaşılanmış tohumlarda 6 ay sonunda önemli derecede azalmıştır. Yüksek sıcaklıkta depolama özellikle uygulanmış tohumların çimlenme oranı ve çimlenme hızını olumsuz etkilemiştir.

Bu tez çalışmasında kaplama yapılan tohumlar oda sıcaklığı ve +4°C gibi farklı depolama koşullarında vigorite açısından değerlendirildiğinde; düşük sıcaklık daha başarılı bulunmuştur. Ancak; bu tez çalışmasında tohumlardaki nem içeriği dikkate alınmamıştır. Sundstrom (1990) depolama sırasında biber tohumlardaki canlılık, güç ve dormansi üzerine tohum neminin etkisini incelediği araştırmada, düşük tohum neminin (%5.8) dormansiyi arttırdığını fakat tohum canlılığı ve gücünü etkilemediğini belirlemişlerdir. Yüksek tohum neminde depolamanın tohum canlılığında ve çimlenmesinde önemli azalmaya neden olduğunu ve düşük sıcaklıkta depolama için optimum tohum neminin yaklaşık %10 olduğunu vurgulamışlardır.

Tohumların endofitik bakterilerle kaplanması, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığı uyarma yoluyla yararlı olduğu bilinmektedir. Bu tez çalışmasında kullanılan EB izolatlarının hiyar köşeli yaprak leke hastalığına

(*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, Psl) karşı biyolojik savaş açısından başarılı olduğu Akbaba (2014) tarafından saptanmıştır. Bu çalışmada sağlıklı hıyar bitkilerinin farklı kısımlarından elde edilen endofitik bakteri (EB) izolatlarının hıyar köşeli yaprak leke hastalığına (Psl) karşı biyokontrol etkisi ve bitki içerisinde kolonizasyonunun araştırılmış, EB izolatları CMC süspansiyonu içinde tohumlara uygulanmış ve üretim sezonu boyunca EB izolatlarının bitki içinde tohum bakterizasyonundan 40 gün sonra, kök ve yeşil aksam popülasyonu yaklaşık olarak 1×10^4 - 1×10^5 cfu/g plant düzeyinde seyretmiştir (Akbaba, 2014).

Kök ur nematodlarına antagonist etkilerini test etmek amacıyla *Pseudomonas fluorescens* Strain Pat1 süspansiyonu (10^9 cfu/ml) üç farklı şekilde hıyar yetiştiriciliğinde uygulanmıştır: 1) CMC ile tohum bakterizasyon; 2) Tohum bakterizasyon ve fide içirme ve 3) Fide içirme. Tohum kaplama ile tohum kaplama ve fide daldırma, sadece kök-ur nematodları ile bulaşık bitkilerin bulunduğu pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında, bitkilerin toprak üstü kısımlarındaki hastalık gelişiminin sırasıyla % 35 ve % 21, köklerdeki ur oluşumunun % 44 ve % 39 oranlarında düştüğü belirlenmiştir (Kaşkavalı et. al., 2006).

Benzer şekilde yapılan diğer çalışmalarda priming uygulamasının hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılık sağladığına ilişkin araştırmasonuçları da rapor edilmektedir. Rashid vd. (2004), priming uygulanan mısır fasulyesi tohumlarının daha hızlı ve yüksek oranda çıkış yapmalarının yanı sıra, priming uygulanan bitkilerde sarı mozaik virüs hastalığı belirtilerinin önemli azalış gösterdiğini (belirti görülme sıklığı priming uygulanmayanlarda % 70, uygulananlarda % 14) ve buna bağlı olarak tohum veriminde % 400'e varan artış sağlandığını saptamışlardır. Benzer şekilde, nohutta priming uygulaması gövde çürüklüğü (*Sclerotium rolfsii*) hastalığının şiddetini azaltmış ve priming uygulanan şartlara kıyasla verimde % 33'lük artış sağlamıştır (Musa vd., 2001). Diğer taraftan, priming uygulaması nohutta yeşil kurt zararını azaltmıştır (Harris vd., 1999). Araştırmacılar, priming uygulamalarında hastalık ve zararlılara karşı ortaya çıkan bu dayanıklılığın erken fide çıkışı ve buna bağlı olarak kuvvetli fide ve bitki gelişiminden kaynaklanmış olabileceğine vurgu yapmışlardır. Priming uygulanan tohumlardan meydana gelen fidelerde hızlı ve kuvvetli bir kök gelişimi meydana

gelmekte (Danneberger vd., 1992; Harris, 1996), hızlı ve derin kök sistemi oluşturan bitkiler ise özellikle kurak şartlarda daha verimli olmaktadır (Singh vd., 1988). Priming uygulaması ayrıca baklagillerde nodül oluşumunu artırmaktadır (Musa vd., 2001). McGrady and Cotter (1987) acı pul biberin erken ve geç ekimlerinde gelişimi ve verimi üzerine tohum uygulamasının etkisini inceledikleri çalışmalarında, kuru tohumlar ile 4 mm kökçük çıkışına kadar çimlendirilmiş tohumları kullanmışlardır. Araştırma sonucunda, her iki ekim zamanında da ön çimlendirme yapılan tohumlarda çıkış oranı ve bitki boyunun daha yüksek bulunmasına rağmen verimin etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında, farklı tohum uygulamalarından CMC ile tohum bakterizasyonu uygulamasının 6 ay boyunca buzdolabı koşullarında (4°C) bekletilen hıyar tohumlarında canlılık açısından en az kayba neden olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, yapılan bir başka çalışmada toprak patojenleriyle biyolojik savaş çalışmalarında bakteriyel antagonistlerin tohuma uygulanmasının en ideal çözüm olduğu bilinmektedir. Benzer bir tez çalışmasında, Kavun *Fusarium Solgunluğu*nu engelleme özelliği kanıtlanan *Pseudomonas putida* 30 no.lu izolatın kavun tohumlarına kaplanması sağlayacak en uygun tekniğin saptanması amaçlanmıştır. Bu amaçla, farklı tohum kaplama teknikleri kaplanan aktif organizmanın canlılık/raf ömrü, tohum çimlenmesine ve kök kolonizasyonuna etkileri yönünden karşılaştırılmıştır. 180 gün süreyle 4°C'de tutulan kavun tohumlarında, *P.putida* strain 30'un canlılık ve raf ömrü açısından en az kaybın saptandığı tohum kaplama uygulamalarının Carboksi metil selüloz (CMC, %1..5).+ bakteriyel VI pellet + vermiculit ve Xanthane sakızı (XS, %5) + bakteriyel pellet + vermiculit uygulamaları olduğu saptanmıştır. 180 gün boyunca bakteri popülasyonu 10^{10} cfu/tohum'dan 10^9 cfu/tohum'a düşerek, 10 katı bir azalış göstermiştir. Sadece bakteri süspansiyonu verilen uygulamada ise, 180. günde, bakteri popülasyonunun 10^9 , dan 10^5 cfu/tohum'a düştüğü saptanmıştır. Bu tez çalışmasında da 6 ay boyunca oda sıcaklığında bekletilen hıyar tohumlarında canlılık kaybı açısından en az değişimin CMC ile yapılan tohum uygulaması olduğu sonucuna varılmıştır. Farklı tohum kaplama tekniklerinin 15 günlük kök ucunda bakteri kolonizasyonuna etkisi de test edilmiştir. En başarılı kök kolonizasyonunun CMC ± vermiculit olduğu saptanmıştır. Tohum bakterizasyonu yapılmayan uygulamalarla karşılaştırıldığında, biyopriming işleminin tohum

çimlenmesini ve fide çıkışını olumlu etkilediği görülmüştür (Çetinel, 2005).Yürüttüğümüz bu tez çalışmasında da, hem tohum vigoritesi hem de bakteri canlılığının tohumda korunması açısından en uygun kaplama uygulamasının CMC olduğu kanısına varılmıştır.*Pythium ultimum*'u kontrol etmek için mısır tohumlarına *Pseudomonas fluorescens*'in uygulanması için bir %1.5'luk CMC ve bakteri süspansiyonu ile bio-priming tohum uygulaması geliştirilmiştir (Callan et al.,1990). Bakterizasyona uğramış tohumlar kurutulduktan sonra steril, nemlendirilmiş vermiculit ile kaplanarak kilitli torbalara yerleştirilmiştir. Bio-priming sırasında, başlangıçtaki inokulum düzeyine bağlı olarak, *P.fluorescens* popülasyonu 10 katından 10.000 katına artmıştır. Bio-priming uygulaması, çökertene karşı Metalaxyl ile tohum uygulamasından daha etkili bulunmuştur. Benzer şekilde, *Pseudomonas fluorescens*'in AB254 no.lu straini ile biopriming uygulaması gören bezelye ve kabak tohumlarında fide çıkışı Metalaxyl'e yakın düzeyde gerçekleşmiştir. Yaptığımız çalışmada, buzdolabı koşullarında (+4°C) bekletilen tohumların canlılığı, oda sıcaklığında bekletilen tohumlara oranla daha yüksek olup, 6 ay sonunda önemli bir düşüş gözlenmemiştir. Benzer şekilde yapılmış bir çalışmada AB254'ün tohumlardaki canlılığı düşük depolama sıcaklığında ve düşük oransal nemde artarken, oda sıcaklığında ve yüksek oransal nemde tohum başına canlı hücre sayısı 300 gün içinde 10^8 'den 10^4 cfu/tohuma düşmüştür. *P.fluorescens* strain AB 254 ile 10^8 cfu/tohum dozunda uygulama görmüş tohumlar, 4 ya da 21°C'de 180 gün süreyle depolandıktan sonra canlılık kaybı en fazla 10 kat olmuştur (10^7 cfu/tohum). Oransal nemin kontrol edilemediği durumda, bakteriyel canlılık düzeyi 21°C'e oranla, 4 °C'de çok daha iyi olmuştur.Elde edilen bu sonuçlar, Çetinel (2005) ve Callan et. all, (1990) tarafından elde edilen verilerle oldukça uyumlu bulunmuştur.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Proje sonucunda elde edilen veriler, EB'lerin tohumlara uygulanması konusunda en ideal ve tohum çimlenmesine zarar vermeyecek tekniğin hangisi olduğuna karar vermemizi sağlamıştır. Aşağıda tez çalışmamızın sonuçları kısaca özetlenmiştir;

1. Bu çalışma sonucunda kaplama yapılan tohumların oda sıcaklığı ve buzdolabı (+4⁰C) gibi farklı depolama koşullarında vigorite açısından düşük sıcaklığın daha başarılı olduğu gözlenmiştir.
2. Her iki sıcaklık koşulunda da CMC uygulamasının 6 ay boyunca yapılan çalışmalarda çimlenme ve canlılık açısından en başarılı uygulama olduğu, bunu bakteri süspansiyonunun izlediği gözlenmiştir.
3. Film kaplama ve vakum infiltrasyon uygulamalarının ise başarısız olduğu sonucuna varılmıştır.
4. Özellikle düşük sıcaklıkta depolamanın canlılık ve popülasyon yoğunluğunu artırdığı tespit edilmiştir. Böylece en uygun tohum bakterizasyon yöntemi ve en ideal saklama yöntemi belirlenmiştir.
5. Yararlı bakterilerin tohuma kaplanmasında ve depolanmasında en ideal yöntemin seçilmesi tohum VI kadar yararlı bakterilerin biyokontrol ve bitki gelişimini artırıcı potansiyeline de olumlu katkılar sağlayacaktır.
6. Pratikte, bu tez çalışmasından elde edilecek sonuçlar ticari açıdan tohum ve fide firmaların işine yarayacaktır.
7. Sonuç olarak, bitki gelişimin ilk aşaması olan tohum çimlenmesi, tohumun kendi bünyesindeki engelleyici maddeler, tohumun sert vegeçirimsiz bir yapıda olması ve tohum ekimi sırasında yapılan çeşitliteknik hatalar ve olumsuz çevresel faktörler sonucunda azalmakta veya hiç oluşmamaktadır. Bu nedenle bitki tür ve çeşitlerine göre değişentohum özellikleri veçevre şartları dikkate alınarak tohum çimlenmesini optimum düzeye çıkaracak bazı ön uygulamaların yapılması doğrudan tohum çimlenmesini ve canlılığı ayrıca hastalıklara karşı dayanım açısından olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akbaba, M.**,2014, Bitki gelişimini artıran bakteriyel endofitlerin hıyar bakteriyel köşeli yaprak leke hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) önlenmesinde kullanılma olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 139s.
- Akers. E.**,1987, Seed response to priming in aerated solutions. Search (19). No:2, 8-17pp.
- Alvarado, A.D., Bradford, K.J. and Hewitt, J.d.**, 1987, Osmotic priming of tomato seeds: effects on germination, field emergence, seedling growth, and fruit yield. J.Am. Soc. Hort.Sci., 112:427-432pp.
- Anonymous**,2005,<http://faostat.fao.org/faostat/form?collection=Production.Crops.Primary&Domain=Production&servlet=1&hasbulk=0&version=ext&language=EN> (Erişim tarihi:24 Aralık 2014)
- Argerich, C., Bradford, K.J. and Tarquis, A.M.**, 1989, The Effects of Priming and Ageing on resistance to deterioration of tomato seeds, Journal of Experimental Botany, 40, (214) 593-598pp.
- Arias A.**,2000, Plant growth promoting microorganisms in Uruguay: Status and prospects. Proc.5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Brasil.
- Atherton, J.G. and Farooque, A.M.**,1983, High temperature and germination in spinach:II. Effects of osmotic priming, Scientia Hort., 19: 221-227pp.
- Berg, G. and Hallmann, J.**,2006, Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. In: Schulz B, Boyle C, Sieber TN (eds) Soil biology, vol 9. microbial root endophytes. Springer, Berlin, pp 53–67pp.
- Bewley, J.D. and Black, M.**, 1994, Seeds Physiology of Development and Germination.Second Edition. Plenum Press Newyork, 144p.
- Bora, T. ve Özaktan, H.**, 1998,Bitki Hastalıklarıyla Biyolojik Savaş, PrizmaMatbaacılık, İzmir, 205s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Brocklehurst, P.A. and Dearman, J. And Drew, R.L.K.,** 1984, Effects of osmotic priming on seed germination and seedling growth in leek. *Scientia Hort.*, 24, 201-210pp.
- Callan, N.W., Mathre, D.E. and Miller, J.B.,** 1990, Bio-priming seed treatment for biological control of *Phytophthora ultimum* pre-emergence damping-off in Sh2 Sweet Corn. *PlantDis.* 74:368-372pp.
- Chang, S.M. and Sung, J.M.,** 1998, Deteriorative changes in primed sweet corn seeds during storage. *Seed Sci. & Tech.* 26: 613-626pp.
- Chen Y., Mei R., Lu S., Liu L. and Kloepper j.W.,** 1996, The use of yield increasing bacteria (YIB) as plant growth promoting rhizobacteria in Chinese agriculture. In: *Management of soil borne diseases*, R.S. Uthkede and W.K., Gupta (Eds), Ludhiana: Kalyani Publishers: 164-184pp.
- Çavuşlar, F. ve Eser, B.,** 2002, Domates tohumlarında film kaplama tekniği uygulaması üzerine bir araştırma. Türkiye I. Tohumculuk Kongresi. 11-13 Eylül 2002. Meta Basım İzmir, 191-200s.
- Çetinel, B.,** 2005, Bakteriyel antagonistlerin tohuma kaplanmasıda kullanılan bazı tekniklerin karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, 80 s.
- Danneberg, T.K., Mcdonald, M.B., Geran, C.A. and Kumari, P.,** 1992, Rate of Germination and Seedling Growth of Perennial Ryegrass Seed Following Osmoconditioning *Hortscience* 27 (1):28-30pp.
- Dearman, J., Brocklehurst, P.A. and Drew, R.L.K.,** 1986, Effect of osmotic priming, and ageing on onion seed germination. *Annals of applied biology*, 108:639-648pp.
- Dearman, J., Brocklehurst, P.A. and Drew, R.L.K.,** 1987, Effect of osmotic priming, rinsing and storage on the germination and emergence of carrot seed. *Annals of applied biology*, 111p:723-727.70
- Demir, İ. and Ellis, R. H.,** 1992, Development of pepper seed quality. *Annals of applied Biology*, 121:385-389pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Duan, X. and J.S. Burris**, 1997, Film coating Impairs Leaching of Germination Inhibitors in Sugar Beet Seed. Crop Sci.,37:515-520pp.
- Duman, İ. ve İlbi, H.**, 2001, Bazı Sebze Tohumlarının Optimum Önçimlendirme Sürelerinin ve Yöntemlerinin Belirlenmesi. E.Ü. Araştırma Fonu 99-ZRF-002 nolu proje sonuç raporu, 81s.
- Duman, İ.**, 2005, Tohumlarda Kaliteyi İyileştirici Uygulamalar, Tohum Bilimi ve Teknolojisi, Editörler B.Eser, H.Saygılı ve A.Gökçöl, E.Ü. Tohum Teknolojisi Uygulama ve Araştırma Merkezi Yayınları, No:3, Cilt (2), Bölüm 12, Bornova-İzmir, 559-636s.
- Duman, İ.**, 2006, Sebzeçilikte fide üretimi. Ders Notları, 7,15,20,28,36s.
- Ester, A., Vogel R. and Bouma, E.**, 1997, Controlling Thrips tabaci (Lind.) in leek by film –coating seeds with insecticides, Crop Protection, 16(7):673-677pp.
- Ester, A., Putter, H. and Bilsen, J.G.P.M.**, 2003, Filmcoating the seed of cabbage (Brassica oleracea L. Convar. Capitata L.) and cauliflower (Brassica oleracea L. Var. Botrytis L.) with imidacloprid and spinosad to control insect pests, 22:762-768pp.
- FAO**, 2011,<http://faostat3.fao.org/home/index.html#VISUALIZE> (Erişim tarihi:2 Şubat 2014)
- FAO**, 2011,<http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD> (Erişim tarihi:2 Şubat 2014)
- Fujikura, T., Kraak, H. L., Basra, A. S. and Karssen, C.M.**, 1993, Hydropriming, a simple and inexpensive priming method. Seed Science and Technology, 21, 639-642pp.
- Gençkan, T., Tugay, M.E., Geçit, H.H, Bozkurt B., Ergun, E., Ekiz, h., Yalvaç, K., Gevrek, M.N. Elçi, A. ve Balkan, A.**, 2005., Türkiye’de tohumluk, fide ve fidan üretimi ve kullanımı. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 2:803-823s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Gerhardson, B., Alstrom, S. and Ramert, B.,** 1985, Plant reactions to inoculations of roots with fungi and bacteria. *Phytopathol. Z.*, 60: 1019-1025pp.
- Guedes, A.C. and Cantliffe D.J.,** 1980, Germination of Lettuce Seeds at High Temperature After Seed Priming. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105(6):777-781pp.
- Hallmann J, Quadt HA, Rodriguez R. and Kloepper JW.,** 1998, Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. *Soil Biol Biochem* 30:925–937pp.
- Halmer, P.,** 1987, Technical and commercial aspects of seed pelleting and film-coating. *BCPC Mono. No:39 Application to Seed and Soil*, 191-204pp.
- Halmer, P.,** 1994, The development of quality seed treatments in commercial practice-objectives and achievements. *BCPC Monograph No: 57, Seed Treatment: Progress and Prospects*, 363-374pp.
- Hardegree, S.P. and Van Vactor, S.S.,** 2000, Germination and emergence of primed grass seeds under field and simulated-field temperature regimes. *Annals of Botany*, 85(3):379-390pp.
- Harris, D.,** 1996, The effects of manure, genotype, seed priming, depth and date of sowing on the emergence and early growth of *Sorghum bicolor* (L.) Moench in semi-arid Botswana. *Soil Tillage Research*, 40: 73-88pp.
- Harris, D., Joshi, A., Khan, P.A., Gothkar, P. and Sodhi, P.S.,** 1999, On-farm seed priming in semi-arid agriculture: development and evaluation in maize, rice and chickpea in India using participatory methods. *Experimental Agriculture*, 35: 15-29pp.
- Hergüner, Torun, B.,** 1993, Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Jhumb) Matsun and Nakai) Öncümlendirme (priming) uygulamalarının düşük sıcaklıklardaki çimlenme ve çıkış oranı ile süresi üzerine etkileri , Yüksek Lisans Tezi, Çukurova üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 77s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Heydecker, W.**, 1973, Germination of an idea: The priming of seeds. University of Nottingham School of Agriculture Report, 1973/1974, 50-67pp.
- Heydecker W. and Gibbins, B.M.**, 1978, Priming of seeds. Acta Hort., 83,213-217pp.
- Kaşkavalcı, G., Özaktan, H., Hatipoğlu, A. and Uslu, A.**, 2006,Preliminary investigations on suppression of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Heteroderidae) by antagonistic rhizobacteria. Türk. entomol. derg., 2006, ISSN 1010-6960, 30 (3): 173-182pp.
- Kavak, S. ve B. Eser**, 2006, Farklı primer kaplama materyal ve uygulamalarının soğan tohumlarında depo ömrü yaşlanma üzerine etkileri, doktora tezi E.Ü. Fen Bilimler Enstitüsü, Bornova/İzmir.
- Kobayashi, D. Y. and J. D. Palumbo.**, 2000, Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture, In C. W. Bacon and J. F. White (ed.), Microbial endophytes. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.199–233pp.
- Luz, W.C.**, 2000,Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Graminicolus crops in Brazil. In: Proc.5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Brasil.
- Mahaffee WF. and Kloepper JW.**, 1997a, Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with fieldgrown cucumber (*Cucumis sativus* L.) Microb Ecol 34:210–223pp.
- Mahaffee and Kloepper**, 1997b, **Mahaffee WF, Kloepper JW.**, 1997, Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with fieldgrown cucumber (*Cucumis sativus* L.) Microb Ecol 34:210–223pp.
- McGrady, J.J. and Cotter, D.J.**, 1987,Preplant seed treatment effects on growth and yield of chile pepper. HortScience, 22(3), 435-437pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- McInroy, JA. and Kloepper, JW.,** 1995, Population dynamics endophytic bacteria of in field- grown sweet corn and cotton. *Can J Microbiol* 141:895–901pp.
- Muhyaddin, T. and Wiebe, H.J.,** 1989, Effect of seed treatments with polyethleneglycol (PEG) on emergence of vegetable crops. *Seed Science & Technology*, 17:49-56pp.
- Musa, A.M., Harris, D., Johansen, C. and Kumar, J.,** 2001, Short duration chickpea to replace fallow after aman rice: the role of on-farm seed priming in the High Barind Tract of Bangladesh. *Experimental Agriculture*, 37: 509-521pp.
- Owen P.L. and Pill, W.G.,** 1994, Germination of osmotically primed asparagus and tomato seeds after storage up to three months. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119 (3), 636-641pp.
- Pamuk, G.S., T., Bergsten, U. and Lindberg.,** 2002, Evaluation of polymer coating on Scots Pine (*Pinus sylvestris*) seeds using Scanning Electron Microscopy (SEM). *Seed Sci. & Technol.*, 30:167-176pp.
- Perare, C.A. and Cantliffe, D.J.,** 1994, Presowing seed priming . *Horticultural Reviews*, 16:109-141pp.
- Pereira C.E., Moreira F. M.S., Oliveira, J.A. and Calderira, C.M.,** 2005, Compatinilty among fungicide treatments on soybean seeds through film coating and inoculation with *Bradyrhizobium* strains, 32 (4):5756p.
- Pereira C.E., Moreira F. M.S., Oliveira, J.A. and Calderira, C.M.,** 2009, Compatinilty among fungicide treatments on soybean seeds through film coating and inoculation with *Bradyrhizobium* strains. Abst:5756
- Pill, W.G., Collins, C.M., Goldberger, B., and Gregory, N.,** 2009, Responses of non-primed seeds of ‘Marketmore 76’ cucumber (*Cucumis sativus* L.) slurry coated with *Trichoderma* species to planting in growth media infested with *Pythium aphanidermatum*, *Scientia Horticulturae*, 121(1):54-62pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Powell, A. A., Yule, L. J., Jing, H. C., Groot, S. P. C., Bino, R. J. and Pritchard, W. H.**, 2000, The influence of aerated hydration seed treatment on seed longevity as assessed by the viability equations. *Journal of Experimental Botany*, 51, 2031-2043pp.
- Rao, N. K., Roberts, E. H. and Ellis, R. H.**, 1987, The Influence of Pre and Post Storage Hydration Treatments on Chromosomal Aberrations, Seedling Abnormalities and Viability of Lettuce Seeds. *Ann. Bot.* 60: 97-108pp.
- Rashid, A., Harris, D., Hollington, P. and Ali, S.**, 2004, On-farm seed priming reduces yield losses of mungbean (*Vigna radiata*) associated with mungbean yellow mosaic virus in the North West Frontier Province of Pakistan. *Crop Protection*, 23: 1119-1124pp.
- Raveton, M., Aajoud, A., Willison, J., Cherifi, M., Tissut, M., and Ravanel, P.**, 2007, Soil distribution of fipronil and its metabolites originating from a seed-coated formulation, 69(7):1124-9pp.
- Robani. H.**, 1994, Film-coating of horticultural seeds. *Hort technology*, 4:104-105pp.
- Romeiro, R.S.**, 2000, Preliminary results of PGPR research at the Universidade Federal de Viçosa, Brasil, Proc.In: 5th Int. Conf. Plant Path. Bact.
- Sachs, M.**, 1977, Priming of watermelon seeds for low-temperature germination. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 102 (2), 175-178pp.
- Schneider, A. and Renault, P.**, 1997, Effects of coating Seed imhibition: I. Model Estimates of Water Transport Coefficient, *Crop. Sci.*, 37:1841-1849pp.
- Scoth, J.M.**, 1989, Seed coatings and treatments and their effects on plant establishment. Academic Press, Inc. *Advances in Agronomy*, 42:43-83pp.
- Singh, P., Singh, D.P., Kumar, A., Chaudhary, B.D. and Thakural, S.K.**, 1988, Response of Mungbean-Blackgram Hybrids under Water Stress Conditions. In: Shanmugasundaram, S., McLean, B.T. (ed.) *Mungbean*. 263-271. Proceedings of the Second International Symposium held in Bangkok, 16-20 November 1987, Thailand.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sundstrom, F.J.**, 1990, Seed moisture influences on tabasco pepper seed viability, vigour and dormancy during storage. *Seed Science and Technology*, 18, 179-185pp.
- Şeniz, V., Eser, B., Daşgen, V., Akbudak, N., İlbi, H., Sürmeli, N. ve Başer, Ş.**, 2005, Sebze Üretiminde Gelişme ve Hedefler. Türkiye Ziraat Mühendisliği IV. Teknik Kongresi, Cilt II, 551-563s.
- Taylor, A.G.**, 1997, Seed storage, germination and quality. *The Physiology of Vegetable Crops*. (Ed. H.C. Wien) Cab International, Washington DC, USA, 1-36pp.
- Taylor, A.G., Allen, P.S., Bennet, M.A., Bradford, K.J., Burris, J.S. and Misra, M.K.**, 1998, Seed Enhancements, *Seed Science Research*, 8:245-256pp.
- Taylor, A.G. and Kwiatkowski, J.**, 2001, Polymer film coating decrease water uptake and water vapour movement into seeds and reduce imbibitional chilling injury. 2002 BCPC symposium Proceedings No. 76: Seed Treatment: Challenges and Opportunities, 215-220pp.
- Taylor, A.G., Min, T.G., Haran, G.E., and Jin, G.E.**, 2004, Liquid coating formulation for the application of biological seed treatments of *Trichoderma harzianum*, *Biological Control*, 11 (1):86-91pp.
- Thompson, J.R.**, 1979, An introduction to seed technology. Leonard Hill, London.
- TÜİK**, 2011, http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?alt_id=45 (Erişim tarihi: 2 Şubat 2015)
- Tuncel, G.**, 2012, Bazı Sebze Tohumlarında Çimlenmeyi Olumsuz Etkilemeyecek Optimum Polimer Dozlarının Belirlenmesi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 56s.
- Wall, L.G.**, 2000, Consequences of an overview on Plant Growth Promoting Rhizobacteria work in Argentina: The field should be wider. In: Proc. 5th Int. Conf. Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Brasil.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Walsh, J., Roonery, K. and Canestrino, J.,** 1998, Seed coating innovations. Proceedings, California/Nevada Alfa Alfa Symposium, Reno, Nevada.
- Williams, K.D., and Hopper, N.W.,** 1998, Effects of Polymer Film Coating of cotton Seed on Dusting-off, İnhibition and Germination. Proceeding of the Beltwide Cotton Conference, 2:1380-1382pp.
- Wilson, T.T., and Geneve, R.L.,** 2004, The impact of film coating on initial water uptake and imihibitional chiling injury in high and low vigor sh2 sweet corn seeds. Seed Sci. & Technol., 32:271-281pp.
- Zeng D. and Wang H.,** 2010, Preparation of a Novel Highly Effective and Enviromental Friendly Wheat Seed Coating Agent Agricultural Sciences in China, 9(7):937-941pp.
- Zhang H., Zou Y., Xiao G. and Xiong Y.,** 2007, Effect and Mechanism of Cold Tolerant Seed-Coating Agents on the Cold tolerance of Early Indica Rice Seedling, Original Research Article Agricultural Sciecnces in China, 6(7):792-801pp.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında İzmir’de doğdu. İlkokulu Ali Suavi İlköğretim Okulu, ortaokulu Bornova Merkez İlköğretim okulunda, liseyi Cem Bakioğlu Lisesin’de tamamladı. 2008 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümün’den 2012 yılında mezun oldu. 2013 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

EKLER

- Ek 1.** Negatif Kontrol CMC oda istatistik sonuçları
- Ek 2.** Negatif Kontrol vakum oda istatistik sonuçları
- Ek 3.** Negatif Kontrol film kaplama oda istatistik sonuçları
- Ek 4.** Negatif Kontrol oda istatistik sonuçları
- Ek 5.** Negatif Kontrol CMC +4°C istatistik sonuçları
- Ek 6.** Negatif Kontrol vakum +4°C istatistik sonuçları
- Ek 7.** Negatif Kontrol film kaplama +4°C istatistik sonuçları
- Ek 8.** Negatif Kontrol +4°C istatistik sonuçları
- Ek 9.** 80 CMC oda istatistik sonuçları
- Ek 10.** 80 vakum oda istatistik sonuçları
- Ek 11.** 80 bakteri süspansiyonu oda istatistik sonuçları
- Ek 12.** 80 film kaplama oda istatistik sonuçları
- Ek 13.** 83 CMC oda istatistik sonuçları
- Ek 14.** 83 vakum oda istatistik sonuçları
- Ek 15.** 83 bakteri süspansiyonu oda istatistik sonuçları
- Ek 16.** 83 film kaplama oda istatistik sonuçları
- Ek 17.** 80 CMC +4°C istatistik sonuçları

Ek 18. 80 vakum +4°C istatistik sonuçları

Ek 19. 80 bakteri süspansiyonu +4°C istatistik sonuçları

Ek 20. 80 film kaplama +4°C istatistik sonuçları

Ek 21. 83 CMC +4°C istatistik sonuçları

Ek 22. 83 vakum +4°C istatistik sonuçları

Ek 23. 83 bakteri süspansiyonu +4°C istatistik sonuçları

Ek 24. 83 film kaplama +4°C istatistik sonuçları

Ek 1. Negatif Kontrol CMC oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
5,00	3	41,6956b	
6,00	3	43,2810b	
4,00	3	44,3726b	
3,00	3	46,1161b	
2,00	3	52,2537	52,2537ab
1,00	3	52,8434	52,8434ab
,00	3		71,1152a
Sig.		,285	,066

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 2. Negatif Kontrol vakum oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
6,00	3	43,9131b	
4,00	3	48,1268b	
5,00	3	48,9827b	
3,00	3	49,9943b	
1,00	3	51,6052b	
2,00	3	52,2634b	
,00	3		70,1771a
Sig.		,145	1,000

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 3. Negatif Kontrol film kaplama oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
6,00	3	48,5231b	
4,00	3	51,9486b	
5,00	3	53,1870b	
3,00	3	58,0895b	
2,00	3	59,3051b	
1,00	3	62,8379	62,8379ab
,00	3		81,0171a
Sig.		,184	,068

Meansforgroups in homogeneous subsetsaredisplayed.

a. UsesHarmonicMeanSample Size = 3,000.

Ek 4. Negatif Kontrol oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05		
		1	2	3
6,00	3	45,4576c		
5,00	3	50,7928c		
4,00	3	51,4482	51,4482bc	
2,00	3		58,5040	58,5040ab
3,00	3		58,7784	58,7784ab
1,00	3			61,4016a
,00	3			63,4896a
Sig.		,111	,056	,191

Meansforgroups in homogeneous subsetsaredisplayed.

a. UsesHarmonicMeanSample Size = 3,000.

Ek 5. Negatif Kontrol CMC +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
5,00	3	43,8995	
6,00	3	44,2353	
4,00	3	44,4837	
3,00	3	47,6748	
2,00	3	48,0015	
1,00	3	50,6345	50,6345
,00	3		71,1152
Sig.		,552	,059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Ek 6. Negatif Kontrol vakum +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
4,00	3	53,3333	
6,00	3	53,4292	
5,00	3	55,3265	55,3265
3,00	3	58,0557	58,0557
1,00	3	59,0356	59,0356
2,00	3	62,3223	62,3223
,00	3		70,1771
Sig.		,247	,063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 7. Negatif Kontrol film kaplama +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	
6,00	3	60,8626	
2,00	3	63,6138	
5,00	3	63,6292	
3,00	3	66,7139	
4,00	3	69,6670	
1,00	3	78,6972	
,00	3	81,0171	
Sig.		,051	

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 8. Negatif Kontrol +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05			
		1	2	3	4
6,00	3	44,3499d			
4,00	3	51,4482	51,4482cd		
5,00	3		55,2921	55,2921bc	
3,00	3		58,7784	58,7784	58,7784abc
2,00	3			62,4041	62,4041ab
1,00	3			63,0540	63,0540ab
,00	3				63,4896a
Sig.		,061	,064	,057	,231

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 9. 80CMCoda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
6,00	3	55,3434b	
5,00	3	56,9813	56,9813ab
,00	3	57,1850	57,1850ab
2,00	3	57,2538	57,2538ab
3,00	3	59,3003	59,3003ab
1,00	3	59,7170	59,7170ab
4,00	3		65,8606a
Sig.		,319	,055

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 10. 80 vakum oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05		
		1	2	3
6,00	3	50,6423c		
5,00	3	54,7149	54,7149bc	
3,00	3	55,1366	55,1366bc	
1,00	3	57,8228	57,8228bc	
4,00	3	58,7155	58,7155bc	
2,00	3		63,0231b	
,00	3			74,8242a
Sig.		,109	,099	1,000

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 11. 80 bakteri süspansiyonu oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
1,00	3	47,3081b	
2,00	3	48,4001b	
3,00	3	52,7418b	
6,00	3	53,3627b	
4,00	3	55,1891b	
5,00	3	55,9210b	
,00	3		65,0402a
Sig.		,072	1,000

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 12. 80 film kaplama oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05			
		1	2	3	4
6,00	3	28,4676d			
5,00	3	31,7069d			
1,00	3		40,3803c		
2,00	3		43,6858		
3,00	3		45,6297	45,6297bc	
4,00	3			48,9119b	
,00	3				57,2881a
Sig.		,383	,187	,189	1,000

Meansfor groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 13. 83 CMC oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05		
		1	2	3
4,00	3	3,1516c		
6,00	3	8,7057c		
5,00	3	11,2838c		
3,00	3	12,9207c		
2,00	3		37,2203b	
1,00	3		40,9350b	
,00	3			90,3387a
Sig.		,217	,603	1,000

Meansforgroups in homogeneous subsetsaredisplayed.

a. UsesHarmonicMeanSample Size = 3,000.

Ek 14. 83 vakum oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05		
		1	2	3
5,00	3	25,4425c		
4,00	3	26,5611c		
6,00	3	27,0768c		
3,00	3	28,4309c		
2,00	3	38,0194c		
1,00	3		60,5064b	
,00	3			93,5341a
Sig.		,174	1,000	1,000

Meansforgroups in homogeneous subsetsaredisplayed.

a. UsesHarmonicMeanSample Size = 3,000.

Ek 15. 83 bakteri süspansiyonu oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
4,00	3	35,7650e				
1,00	3	51,3432	51,3432de			
3,00	3	52,4059	52,4059	52,4059cde		
2,00	3		65,3113	65,3113	65,3113bcd	
5,00	3			69,1785	69,1785bc	
6,00	3				74,4697b	
,00	3					92,6551a
Sig.		,052	,097	,050	,264	1,000

Meansforgroups in homogeneoussubsetsaredisplayed.

a. UsesHarmonicMeanSample Size = 3,000.

Ek 16. 83 film kaplama oda istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05		
		1	2	3
6,00	3	30,8397c		
5,00	3	34,6400	34,6400bc	
3,00	3	38,5888	38,5888bc	
1,00	3	42,7495	42,7495bc	
4,00	3	44,9021	44,9021bc	
2,00	3		51,8068b	
,00	3			70,1627a
Sig.		,125	,066	1,000

Meansforgroups in homogeneoussubsetsaredisplayed.

a. UsesHarmonicMeanSample Size = 3,000.

Ek 17. 80 CMC +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
2,00	3	47,1013b	
,00	3	47,2434b	
1,00	3	48,3742b	
3,00	3	50,9678b	
4,00	3	59,7541	59,7541ab
5,00	3	61,6782	61,6782ab
6,00	3		74,1574a
Sig.		,127	,111

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 18. 80 vakum +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05			
		1	2	3	4
1,00	3	52,8715d			
2,00	3	55,8277	55,8277cd		
3,00	3	59,4538	59,4538cd		
6,00	3	61,2042	61,2042	61,2042bcd	
5,00	3		66,0455	66,0455	66,0455abc
4,00	3			71,9219	71,9219ab
,00	3				74,8242a
Sig.		,159	,089	,068	,129

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 19. 80 bakteri süspansiyonu +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05			
		1	2	3	4
3,00	3	63,8175d			
6,00	3		71,3348c		
2,00	3		74,5554	74,5554bc	
1,00	3		77,1569	77,1569	77,1569abc
,00	3		78,0961	78,0961	78,0961abc
4,00	3			79,1004	79,1004ab
5,00	3				83,0450a
Sig.		1,000	,050	,173	,083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 20. 80 film kaplama +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subsetforalpha = 0.05	
		1	2
1,00	3	48,6642b	
4,00	3	51,9237	51,9237ab
3,00	3	53,5455	53,5455ab
2,00	3	54,1290	54,1290ab
6,00	3	56,4418	56,4418ab
,00	3	57,3292	57,3292ab
5,00	3		59,3502a
Sig.		,075	,122

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 21. 83 CMC +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
4,00	3	38,8947d			
3,00	3	43,2781	43,2781cd		
6,00	3	45,1742	45,1742cd		
2,00	3		51,7580c		
5,00	3		53,2748c		
1,00	3			66,3888b	
,00	3				90,3387a
Sig.		,237	,075	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 22. 83 vakum +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
6,00	3	28,5348c		
5,00	3	28,5958c		
4,00	3	34,5584c		
3,00	3		52,9825b	
1,00	3		59,4589b	
2,00	3		64,4415b	
,00	3			93,5341a
Sig.		,510	,218	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 23. 83 bakteri süspansiyonu +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5,00	3	54,1528c		
6,00	3	56,4252c		
3,00	3	65,7160	65,7160bc	
1,00	3	66,6046	66,6046bc	
4,00	3		72,2089b	
2,00	3		73,8658b	
,00	3			92,6551a
Sig.		,102	,272	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Ek 24. 83 film kaplama +4°C istatistik sonuçları

Duncan^a

AYLAR	N(tekerrür sayısı)	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
5,00	3	48,1473b	
2,00	3	51,9682	51,9682ab
3,00	3	53,3736	53,3736ab
6,00	3	53,8799	53,8799ab
4,00	3	53,9091	53,9091ab
1,00	3	57,7053	57,7053ab
,00	3		70,1627a
Sig.		,349	,087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.