



Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi (International Journal of Agriculture and Wildlife Science)

<http://dergipark.org.tr/ijaws>



Araştırma Makalesi

Domateste *Alternaria solani* (Ell. & G. Martin) Sor.'ye Karşı Bazı Endofit Bakterilerin Etkisi**

Gökhan Boyno, Semra Demir*, Ahmet Akköprü

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Van

Geliş tarihi (Received): 16.07.2020

Kabul tarihi (Accepted): 18.08.2020

Anahtar kelimeler:

Domates, *Alternaria solani*, endofit bakteriler

Özet. Dünyada domates yetiştiriciliği yapılan tüm alanlarda erken yanıklık hastalığına neden olan *Alternaria solani* (Ell. and G. Martin) Sor. önemli derecede ürün kayıplarına neden olmaktadır. Bu çalışmada, 8 endofit bakteri (EB) nin (T2K2, T26Y1, G116S2, T13K1, V17G2, V30Y3, V38K1 ve V40K2) *A. solani*'nin neden olduğu erken yanıklık hastalığına ve domatesin morfolojik gelişim parametrelerine olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında EB izolatlarının *in-vivo*'da bitki morfolojik gelişimine ve *in-vitro*'da *A. solani*'ye karşı antagonistik etkilerine bakılmıştır. Bu çalışmada başarılı bulunan EB izolatları ile ikinci aşamaya geçilmiştir. Bu aşamada, seçilen EB izolatlarının *A. solani* ile enfekteli bitkilerin gelişim parametreleri ile hastalığa olan etkileri değerlendirilmiştir. EB izolatlarının hastalığı %11-53 oranında baskıladığı belirlenmiştir. *In-vivo* testlerde T13K1, V40K2 ve V30Y3 izolatları hastalığa karşı en etkili uygulamalar olmuştur. Ayrıca V40K2 izolatı, hastaliksiz ve hastalık stresi altında bitkilerin gelişimini genel olarak arttırmıştır. Bu izolatı takiben enfektesiz bitkilerde G116S2 izolatının kök yaş ağırlığını (0.49 g), enfekteli bitkilerde ise sürgün boyunu (59.17 cm) arttırırken, T13K1 izolatı ise enfektesiz uygulamalarda sürgün yaş (3.14 g) ve kuru ağırlığını (0.34 g) arttırmıştır. Enfekteli uygulamalarda negatif kontrole (K(-)) göre EB izolatları, bitki gelişimini olumlu etkilerken, pozitif kontrole (K(+)) göre farklılık göstermiştir. Sonuç olarak kullanılan EB izolatlarının pestisit ve sentetik gübre girdisini azaltma potansiyelinin olduğu, fakat bu etkinin patojen-endofit bakteri interaksyonuna göre farklılık gösterebileceği belirlenmiştir.

*Sorumlu yazar

semrademir@yyu.edu.tr

The Effect of Some Endophytic Bacteria Against *Alternaria solani* (Ell. & G. Martin) Sor. in Tomato

Keywords:

Tomato, *Alternaria solani*, endophytic bacteria

Abstract. *Alternaria solani* (Ell. and G. Martin) Sor., causes early blight disease in all areas of tomato cultivation in the world, causes significant product losses. In this study, the effects of 8 endophytic bacteria (EB) (T2K2, T26Y1, G116S2, T13K1, V17G2, V30Y3, V38K1 and V40K2) and the morphological development parameters of tomato were investigated on early blight disease caused by *A. solani*. In the first stage of the study, the plant morphological development of EB isolates *in-vivo* and antagonistic effects against *A. solani in-vitro* were investigated. In this study, the second phase was set up with the effective EB isolates. At this stage, the effects of selected EB isolates on the disease parameters of *A. solani*-infected plants and the disease were evaluated. It was determined that EB isolates suppress the disease by 11-53%. *In-vivo* tests, T13K1, V40K2 and V30Y3 isolates were determined as the most effective treatments against the disease. In addition, the V40K2 isolate increased overall growth of the healthy plants and under disease stress. Following this isolate, the root weight (0.49g) of the G116S2 isolate increased in non-infected plants, the shoot length (59.17 cm) in the infected plants, while the T13K1 isolate increased the shoot fresh (3.14 g) and dry weight (0.34 g) in non-infected treatments. In infectious treatments, EB isolates had a positive effect on plant growth compared to negative control (K(-)), but differed according to positive control (K(+)). As a result, it has been determined that the EB isolates used have the potential to reduce pesticide and synthetic fertilizer input, but this effect may differ according to the pathogen-endophytic bacterium interaction.

**Bu çalışma "Van'da Domates Alanlarından İzole Edilen *Alternaria solani* (Ell. ve G. Martin) Sor.'nin Biyolojik Mücadele Olanaklarının Belirlenmesi" başlıklı yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

ORCID ID (Yazar sırasına göre/By author order)

0000-0003-3195-0749 0000-0002-0177-7677 0000-0002-1526-6093

GİRİŞ

Ekonomik bakımından oldukça önemli bir yere sahip olan domates (*Solanum lycopersicum* L.), önemli verim kayıplarına neden olan birçok fitopatolojik probleme sahiptir. Bu problemlerin başında ise fungal patojenler gelmektedir (Soylu ve ark., 2020). Özellikle *A. solani*'nin neden olduğu "Erken Yanıklık" hastalığı, dünya çapında domates yetiştiriciliği yapılan bütün alanlarda önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır (Song ve ark., 2011; Shinde ve ark., 2018).

Alternaria solani bitki gelişiminin her aşamasında, özellikle de ağır yağışlar ile artan yüksek nem ve 24-29 °C arası sıcaklıklarda; yaprak, gövde, çiçek ve meyvelerde hasarlara yol açmaktadır (Peralta ve ark., 2005; Neeraj ve Verma, 2010). Bilhassa domates bitkisi, meyve verme döneminde patojene karşı daha hassas olmaktadır (Momel ve Pemezny, 2006). Mücadele yapılmadığı takdirde enfekte olmuş meyveler zamanla dökülmektedir (Jones ve ark., 1991).

Alternaria solani'ye karşı ağırlıklı olarak kültürel ve kimyasal mücadele uygulanmaktadır. Ancak kültürel mücadelenin tek başına her zaman beklenen faydayı sağlamaması, üreticileri kimyasal mücadeleye yönlendirmektedir. Kullanılan bu kimyasallar ise, yüzey ve/veya yeraltı sularına karışarak, toprağa bulaşarak, hedef dışı organizmalara zarar vermekte, kalıcı bileşikler ve kalıntılar nedeniyle çevreye ve biyolojik sistemlere büyük problemler oluşturmaktadır (Yıldız ve ark., 2005). Buna ek olarak, organizmaların direnç ve toksisite sorunlarını da beraberinde getirmektedir (Saito ve ark., 2016). Bu çerçevede, sürdürülebilir tarım, organik tarım veya iyi tarım uygulamaları gibi yeni yaklaşımlar ile pestisitlerin kullanımları sınırlandırılmaya çalışılmaktadır. Bununla beraber biyolojik mücadele yöntemleri de son zamanlarda kimyasal mücadeleye alternatif yaklaşımlar içinde önemli bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir.

Biyolojik mücadele kullanılan biyolojik savaş ajanları, antibiyosis, yarışma, hiperparazitizm, hipovirülens, uyarılmış dayanıklılık ve çapraz koruma mekanizmalarında birini veya birkaçını birlikte kullanarak bitkileri hastalıklara karşı koruyabilirler (Glick, 2014; 2015). Özellikle de, bitki gelişimini artıran kök bakterileri (Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR), fitopatogen bakteri ve fungusları kontrol altına almada bu mekanizmaları başarılı bir şekilde kullanılmaktadırlar. Ayrıca bu bakteriler, azot fiksasyonu, fosforu çözebilme yetenekleri, siderofor üretimi ile demirin alınmasını kolaylaştırarak ya da bitkisel hormonların üretilmesi ile bitkilerin verimini (Liu ve ark., 2016), gelişimini (Huang ve ark., 2017) ve besin alımını (Calvo ve ark., 2017) arttırdığı bilinmektedir (Jha ve ark., 2012). Bu nedenlerle de, tarımda kullanılan pestisit ve gübre girdilerini azaltılmaya katkı sunacakları düşünülmektedir (Özaktan ve ark., 2015).

PGPR'ın bir kısmı yaşamlarının en az bir dönemini bitkilerin içsel dokularında sürdürülebilirler (Sülü ve ark., 2016). Bu grup Endofitik Bakteriler (EB) olarak adlandırılır (Hardoim ve ark., 2008). EB, vasküler dokuları başta olmak üzere bitkinin tamamına yayılabilir ve yüksek popülasyon yoğunluklarına ulaşmış dahi olsalar bitkiye herhangi bir olumsuz etkide bulunmazlar (Hardoim, 2011). PGPR'ların sahip olduğu özelliklerine sahip olmaları ile birlikte, bitkide sistemik olarak hareket etmeleri, hem biyolojik savaş mekanizmalarını bitkinin tüm dokularında etkin olarak kullanmalarına, hem de ürettikleri metabolitler ve enzimlerin bitkiler tarafından doğrudan algılanmamasına neden olmaktadır (Xiang ve ark., 2017). Ayrıca, iç dokularda ve kök korteksinde kolonize olmaları nedeniyle, rizosferde diğer organizmaların neden olduğu rekabet, parazitizm ve antibiyosis gibi sınırlayıcı faktörlerden korunarak bitki dokularında uzun süre hayatta kalabilme şansına sahiptirler (Hardoim ve ark., 2008; Hardoim, 2011).

Erken yanıklık hastalığının EB ile kontrolüne yönelik araştırmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Bu çalışmada, domates tarımında önemli verim kayıplarına neden olan erken yanıklık hastalığı etmeni *A. solani*'ye karşı EB'lerin biyolojik kontrol ajanları olarak potansiyellerinin ve bitki gelişimlerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışma Materyalleri

Test bitkisi olarak yaygın bir şekilde yetiştiriciliği yapılan tarla tipi 16-014 F1 (Gento Tohumculuk) domates çeşidi kullanılmıştır. Patojen olarak Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Mikoloji laboratuvarı stoklarında bulunan ve daha önce domateste patojenisitesi ve virülensliği belirlenmiş olan *A. solani* EAb1 izolatu kullanılmıştır. Çalışmada aynı bölümün Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan ve önceki çalışmalara karakterizasyonu yapılarak farklı bitki patojenlerine karşı etkinliği belirlenmiş olan EB T2K2, T26Y1, G116S2, T13K1, V17G2, V30Y3, V38K1 ve V40K2 izolatları kullanılmıştır (Çizelge 1) (Babier, 2020; Olur, 2020).

Çizelge 1. EB izolatlarının siderofor, fosfataz ve ACC deaminaz aktiviteleri.

Table 1. Siderophore, phosphatase and ACC deaminase activities of EB isolates.

EB İzolatları	Siderofor aktivitesi (mm-zon)	Fosfataz aktivitesi (mm-zon)*	ACC deaminaz (0-3 skalası)**
T2K2	1	+	0
T26Y1	2.5	+	0
G116S2	1.25	+	0
T13K1	1.13	+	0
V17G2	2.25	-	3
V30Y3	1.5	+	3
V38K1	1.13	+	3
V40K2	7	-	3

*: Zon çapının oluşmaması; -, 0-1 mm aralığında oluşması; +, 1-3 mm aralığında oluşması; ++, 3 ve üzeri mm oluşması; +++ olarak ifade edilmiştir.

** : 0, gelişim yok; 1, tek ve kesin sınırlarla ayrılan az sayıda koloniler; 2, koloniler bitişik fakat birbirinden ayırt edilebilir durumda; 3, yoğun gelişim sonucu koloniler tamamen birleşmiş ve ayırt edilemez durumda olması.

Metot**EB İzolatlarının Seçimi****EB izolatlarının *A. solani*'ye Olan Antagonistik Etkilerinin İn-Vitro'da Değerlendirilmesi**

Patates dekstroz agar (PDA) (Merck 1.10130, Almanya) ortamı bulunan 9 cm çaplı petrilere 1×10^6 konidi mL^{-1} yoğunluğunda hazırlanmış olan *A. solani* süspansiyonundan 200 μl eklenerek homojen bir şekilde yayılmıştır. Kontrol petrilere ise 200 μl steril distile su uygulanmıştır. Uygulama görmüş petrilere kurduktan sonra 24 saat King B (KB) besi yerinde (20 g L^{-1} Pepton; 1.5 g L^{-1} K_2HPO_4 ; 1.5 g L^{-1} $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 10 ml L^{-1} gliserol; 16 g L^{-1} agar) geliştirilmiş olan EB izolatları birbirine eşit mesafede nokta ekimi şeklinde uygulanmıştır. İnkübatörde 26°C'de 2 gün geliştirildikten sonra, EB'lerin kolonileri çevresinde oluşan ve *A. solani* 'nin gelişiminin sınırlandığı bölge ölçülerek antagonistik etki değerlendirilmiştir (Şekil 1a). *In-vitro* çalışmalar 5 tekerrürlü olacak şekilde yürütülmüştür.

EB İzolatlarının Domatesin Morfolojik Gelişimine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi

Domates tohumları, 24 \pm 2 °C sıcaklık, %50-60 nem, 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık olacak şekilde ayarlanan iklim odasında geliştirilmek üzere 2:1 oranında torf:perlit doldurulmuş viyollere ekimleri yapılmıştır. Fidelerin ilk gerçek yaprakları oluştuğundan sonra 1×10^8 CFU mL^{-1} yoğunluğundaki EB süspansiyonları 10 mL bitki $^{-1}$ olacak şekilde toprağa içirme yöntemi ile uygulanmıştır. İkinci uygulama ise 5 gün sonra benzer şekilde yapılmıştır. Kontrol gruplarına ise saf su uygulanmıştır. Yürütülen bu çalışma 6 tekerrürlü ve her tekerrürde tek bitki olacak şekilde oluşturulmuştur. Son EB inokulasyondan iki hafta sonra bitkiler hasat edilerek sürgün yaş, kuru ağırlığı, kök yaş kuru ağırlığı, sürgün boyu ve kök boyu değerlendirilmiştir. Bu amaçla kök boğazından kesilen fidelerin üst kısımları doğrudan tartılmış, kökler ise musluk suyu yardımı ile yetiştirme ortamı materyallerinden arındırıldıktan sonra tartılmıştır, bu yolla yaş ağırlıklar elde edilmiştir. Tartılan materyaller 70 °C'de 48 saat kurutulmuş kuru ağırlıklar tespit edilmiştir. Sürgün ve kök boy ölçümleri bir cetvel yardımıyla ölçülerek belirlenmiştir.

Seçilen EB İzolatlarının *A. solani* ile Bulaşık Domatesin Morfolojik Gelişimine ve Hastalık Şiddetine Olan Etkilerinin Değerlendirilmesi

In-vitro ve *in-vivo* testler sonucuna göre EB izolatları seçilerek *in-vivo*'da *A. solani* inokule edilen bitkilerin gelişimine ve hastalık şiddeti üzerine etkileri araştırılmıştır. Domates tohumları iklim odalarında, viyollerde geliştirilmek üzere ekimi yapılmıştır. Gerçek yapraklar çıktıktan sonra her bir uygulama 7 tekerrürlü olacak şekilde saksılara şaşırtılmıştır. Şaşırtma işleminden sonra 1×10^8 CFU mL^{-1} yoğunluğunda EB süspansiyonu 15 mL bitki $^{-1}$ olacak şekilde içirme yöntemi ile fidelere uygulanmıştır, ikinci uygulama ise ilk uygulamadan 5 gün gerçekleştirilmiştir. Bu uygulamalardan 7 gün sonra, 1×10^6 konidi mL^{-1} yoğunluğundaki patojen süspansiyonu el spreyi yardımıyla bitkilere uygulanmıştır. Patojen inokulasyonundan 4. hafta sonra hastalık şiddeti 0 – 4 skalası (0: belirti yok, 1: %25 belirti, 2: %50 belirti, 3: %75 belirti, 4: %100 belirti (ölü yaprak)) ile değerlendirilmiştir (Şekil 1c). Elde edilen değerler hastalık şiddeti (DI) formülü (eşitlik 1) yardımı ile yüzde hastalık şiddetine dönüştürülmüştür.

Daha sonra, bitkiler hasat edilerek yukarıda belirtilen morfolojik gelişim parametrelerine ek olarak sürgün çap ve yaprak sayısı değerlendirilmiştir.

$$DI (\%) = \frac{\sum (S \times L)}{M \times S_{\max}} \times 100 \quad (1)$$

Eşitlikte;
 S: Skala değeri
 L: Skalada değerlendirilen bitki yaprak sayısı
 M: Toplam bitki yaprak sayısı
 S_{max} : En yüksek skala değerini ifade etmektedir.

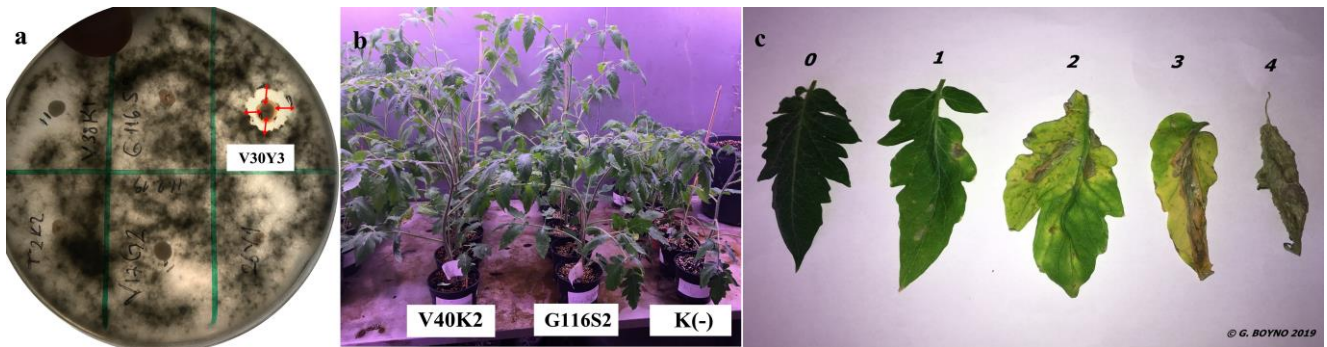
İstatistiksel Analiz

Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre dizayn edilmiştir. Elde edilen veriler Duncan çoklu karşılaştırma testine tabi tutularak istatistiki analizleri yapılmıştır. Bu amaçla SPSS (SPSS statistic program, Ver. 21.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) bilgisayar programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Antagonistik Testleri ve Domatesin Morfolojik Gelişimine Olan Etkileri

EB izolatlarının seçim çalışmaları çerçevesinde, uygulamaların domates bitkisinin morfolojik gelişim parametreleri üzerinde ki etkileri (Çizelge 2) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Genel olarak tüm EB izolatlarının sürgün yaş/kuru ağırlıkları ile sürgün boylarında negatif kontrole (K(-)) göre önemli derecede arttırırken (Şekil 1b), kök yaş/kuru ağırlık ve yaprak sayısına EB izolatlarının etkileri değişiklik göstermiştir (Çizelge 2). Kök yaş ağırlığında yalnızca G116S2 izolatı artışa neden olmuştur. Sürgün yaş/kuru ağırlığını V40K2'nin yanı sıra, T13K1 izolatları önemli derecede arttırmıştır. Ayrıca V40K2 izolatı, kök yaş ağırlığı dışındaki diğer parametreleri önemli derecede arttırdığı saptanmıştır (Çizelge 2). Bu bulgular EB izolatlarının, bitki gelişimini farklı metabolik veya mekanizmaları etkilediğini göstermektedir (Gamalero ve ark., 2009; Saharan ve Nehra, 2011). Ayrıca Li ve ark. (2016), EB izolatlarının toplam bitki boyunu ve biyo-kütlesini arttırdığını bildirmiştir. Bu artış ise EB'nin birçok türünün, azot fiksasyonu ile birlikte indol-3-asetik asit (IAA), siderofor, gibberellik asit ve sitokininler dahil fitohormonlar üretmesi ile gerçekleştiği bilinmektedir (Oberson ve ark., 2013; Goswami ve ark., 2014). Diğer taraftan Maji ve Chakrabartty (2014) ise, EB izolatlarının, IAA sentezlenmesine paralel olarak kök uzunluğunda değişiklikler gösterdiği, sürgün uzunluğuna ve toplam kuru ağırlığına etki etmediğini, toplam yaş ağırlığını ise düşürdüğünü saptamıştır. Ayrıca Glick (2014) bakterilerin sahip olduğu ACC deaminaz üretim yeteneğinin bitki gelişimi ve hastalık üzerine en etkili mekanizmalardan biri olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda bitki gelişimine olan katkıları bakımından en başarılı izolat olan V40K2'in yüksek siderofor ve ACC deaminaz üretim yeteneğine sahip olduğu görülmektedir. Bu yönüyle çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular önceki çalışmalar ile uyum içindedir.



Şekil 1. EB izolatlarının a- patojene karşı antagonistik ve b- bitki gelişimine olan etkileri. c- Hastalık şiddetini belirlemek için kullanılan 0-4 skala değerleri.

Figure 1. The effects of EB isolates on a- antagonistic against the pathogen and b- plant growth. c- 0-4 scale values used to determine the disease severity.

Çalışmanın *in-vitro* testinde, EB izolatlarının *A. solani* EAb 1 izolatı üzerinde 0.04-2.88 mm aralığında etki gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 2). Bu izolatların içinden T13K1, V40K2 ve V30Y3 izolatları sırasıyla 2.15, 2.75 ve 2.88 mm ile en iyi antagonistik etkiyi gösterirken (Şekil 1a), T2K2 izolatının etkisinin olmadığı, diğer EB izolatlarının ise 1 mm'den daha düşük etkilerinin olduğu saptanmıştır (Çizelge 2). Nitekim hastalıkların kontrolünde PGPR'lar ve bunlara bağlı EB'ler antibiyosis, rekabet ve parazitizm gibi direkt olarak patojene antagonistik etki göstermektedir (Harman ve ark., 2004). Bu kapsamda çalışmaların birçoğu toprak kökenli fungal patojenlerle hedef alınmak ile beraber; bazı araştırmalarda da, PGPR izolatların *in-vitro* koşullarda, toprak üstü aksamlarda hastalık oluşturan fungal patojenler üzerinde etkileri de saptanmıştır (Latha ve ark., 2009; Gao ve ark., 2017).

Elde edilen veriler ışığında EB izolatları arasından hem bitki gelişimine hem de *in-vitro* antagonistik etkileri baz alınarak yapılan değerlendirmede V40K2, V30Y3, T13K1, T2K2 ve G116S2 izolatları sonraki testler için seçilmiştir.

Çizelge 2. EB izolatlarının seçim çalışmalarında uygulamaların bitki morfolojik gelişim parametrelerine ve antagonistik etkilerine ilişkin veriler.

Table 2. Data related to plant morphological development parameters and antagonistic effects of treatments in selection studies of EB isolates.

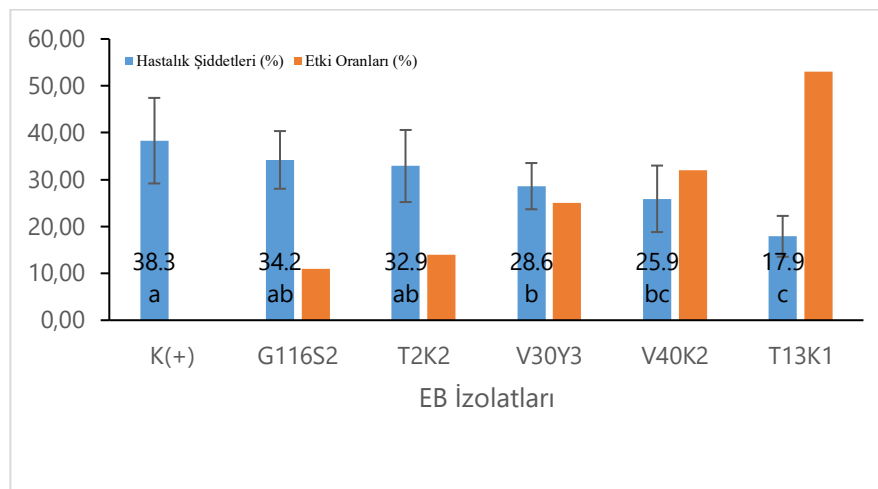
EB izolatları	Kök Boy (cm)	Sürgün Yaş Ağırlık (g)	Sürgün Kuru Ağırlık (g)	Kök Yaş Ağırlık (g)	Kök Kuru Ağırlık (g)	Sürgün Boy (cm)	<i>In-vitro</i> antagonistik etki (mm)
K(-)	10.25±1.9 ^{b*}	1.97±0.3 ^c	0.22±0.1 ^c	0.33±0.1 ^b	0.05±0.0 ^b	18.37±1.9 ^c	0
T2K2	12.50±1.2 ^b	2.82±0.9 ^{abc}	0.28±0.1 ^{bc}	0.35±0.1 ^{ab}	0.05±0.0 ^b	22.67±3.6 ^b	0
T26Y1	10.67±1.6 ^b	2.78±0.9 ^{abc}	0.28±0.1 ^{bc}	0.37±0.2 ^{ab}	0.05±0.0 ^b	22.17±4.5 ^{bc}	0.54
G116S2	10.83±1.5 ^b	2.77±0.7 ^{abc}	0.31±0.1 ^{bc}	0.49±0.2 ^a	0.06±0.0 ^{ab}	22.00±1.3 ^{bc}	0.04
T13K1	11.83±2.0 ^b	3.14±0.3 ^{ab}	0.34±0.1 ^{ab}	0.36±0.2 ^{ab}	0.06±0.0 ^{ab}	25.67±2.7 ^b	2.05
V17G2	11.60±2.3 ^b	2.58±0.7 ^{bc}	0.31±0.1 ^{bc}	0.33±0.1 ^b	0.05±0.0 ^b	21.60±3.1 ^{bc}	0.5
V30Y3	11.33±1.0 ^b	2.86±1.2 ^{abc}	0.30±0.1 ^{bc}	0.25±0.1 ^b	0.04±0.0 ^b	23.33±5.1 ^b	2.88
V38K1	11.50±2.4 ^b	2.57±0.9 ^{bc}	0.30±0.1 ^{bc}	0.29±0.1 ^b	0.04±0.0 ^b	23.20±3.0 ^b	0.12
V40K2	17.17±1.5 ^a	3.65±0.6 ^a	0.43±0.1 ^a	0.41±0.1 ^{ab}	0.08±0.0 ^a	30.16±1.2 ^a	2.75

*: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Seçilen EB İzolatlarının *A. solani* ile Bulaşık Domatesin Morfolojik Gelişimine ve Hastalık Şiddetine Etkisi

Ön çalışmalar ile seçilmiş olan EB izolatlarının hastalık şiddetine olan etkileri (Şekil 2) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Kontrol grubunda hastalık şiddeti, %38.31 oranında tespit edilirken, EB uygulama gruplarında bu oran %17.97-34.27 aralığında değişmiştir. Bununla beraber etki oranlarına bakıldığında ise, tüm EB izolatlarının hastalığa %11-53 aralığında baskıladığı görülmüştür (Şekil 2). En başarılı izolatların T13K1, V40K2 ve V30Y3 oldukları ve sırasıyla %53, %32 ve %25 oranlarında etki gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 2).

Hastalığı oluşturan patojene karşı hem *in-vitro* hem de *in-vivo* testlere bakıldığında, T13K1, V40K2 ve V30Y3 izolatlarının daha etkili olduğu görülmüştür (Çizelge 2 ve Şekil 2). Bu sonuçlara göre, bu EB izolatları bitkide sistemik olarak ilerleyerek antibiyosis yoluyla patojeni engellemiş olabileceği düşünülmektedir. Nitekim EB izolatları, endodermis bariyerlerini aşabildiğini, kök korteksinden başlayarak sistemik olarak gövde, yaprak ve diğer organlara kadar taşınabildiği (Compant ve ark., 2005; Gray ve Smith, 2005) ve böylelikle üst aşamalarda hastalık oluşturan patojenlerle antibiyosis, rakabet ve parazitizm mekanizmaları ile doğrudan mücadele edebilmektedir (Hardoim, 2011). Özellikle de siderofor üreten EB izolatlarının bu mekanizmaları etkili bir şekilde kullanarak patojenleri baskıladığı belirlenmiştir (Nandhini ve ark. 2012; Glick, 2014; del Barrio-Duque ve ark., 2019). Bu kapsamda yapılan bazı araştırmalarda da, EB izolatlarının benzer mekanizmaları kullanarak üst aşamalarda hastalık oluşturan patojenleri, özellikle de antifungal metabolitler sentezleyerek baskıladığı rapor edilmiştir (Leclere ve ark., 2005; Sundaramoorthy ve Balabaskar, 2012; Khan ve ark., 2012).



Şekil 2. Seçilen EB izolatlarının hastalık şiddetine etkileri ve hastalığa karşı etki oranları.

Figure 2. Effects of selected EB isolates on disease severity and rates of effects against disease.

EB izolatlarının uyarılmış bitki dayanıklılığını aktive ederek de, hastalığa etkide bulunmuş olabilirler (Joseph ve ark., 2017). Bu kapsamda Çiftçi ve Altınok (2019), PGPR izolatlarının bu mekanizmayı kullanarak patlıcan bitkisinin üst kısmında kurşuni küf hastalık etmeni *Botrytis cinerea*'ya karşı etkili olduğunu rapor etmiştir. Diğer taraftan G116S2 ve T2K2 izolatlarının *in-vitro* testlerde etkili olmazken (Çizelge 2), *in-vivo* testlerde hastalık şiddetini azaltmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P < 0.05$) (Şekil 2).

Seçilmiş EB izolatlarının *A. solani* ile enfekteli bitkilerin morfolojik gelişimine olan etkileri (Çizelge 3) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). PGPR izolatlarının hastalık şiddetini azalttığı gibi bitki morfolojik gelişimini de teşvik ettiği bildirilmiştir (Jetiyanon ve Kloepper, 2002). Çalışmamızda da, genel olarak bakıldığında EB izolatlarının negatif kontrole (K(-)) göre, bitki gelişim parametrelerinde artış sağladığı saptanmıştır (Çizelge 3). Ancak K(+)'e göre irdelendiğinde, EB izolatlarının gelişim parametrelerine göre değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Bu kapsamda, T13K1 ve V30Y3 izolatlarının her ikisi de, sürgün boyu (58.50 cm) ve yaprak sayısını (8.33 bileşik yaprak bitki⁻¹) eşit oranlarda arttırırken, T13K1 kök yaş ağırlığını (1.37 g) azaltması ile beraber bu iki izolatta, diğer parametrelere etki etmediği belirlenmiştir. T2K2 izolatının tüm parametrelere önemli bir etkisinin olmadığı, G116S2 izolatının ise sadece sürgün boyuna (59.17 cm) önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). Khan ve ark. (2012) da, PGPR + *A. solani* kombinasyonunun bitki boyuna etki etmediğini, yaş biyokütlesini arttırdığı, kuru biyokütlesini ise düşürdüğünü bildirmiştir. Diğer taraftan V40K2 izolatu patojensiz parametrelerde olduğu gibi (Çizelge 2), patojenli parametrelerin hemen hemen tümünde artış sağlamıştır (Çizelge 3). V40K2 izolatının diğer EB izolatlarına kıyasla daha etkili olması, ACC-deaminaz enzimi ve yüksek oranda siderofor üretimine sahip olmasından kaynaklanabilir. Nitekim bazı PGPR izolatları, ürettikleri ACC-deaminaz enzimi ile ACC'yi parçalayarak azot kaynağına dönüştürdükleri, böylece stres altında üretilen zararlı etilenin kontrolünün sağlandığı bildirilmiştir (Glick, 2012; 2015) Ayrıca bakterilerin ürettikleri sideroforların demir iyonlarını bağlayıp onları hücre içindeki metabolik olaylarda kullanılmak üzere hücre içine taşıyarak, bitkinin gelişimine önemli katkılar sağladığı belirtilmiştir (Ortiz-Castro ve ark., 2009). Yapılan benzer araştırmalarda, ACC-deaminaz (Latif Khan ve ark., 2016) ve siderofor sentezleyen (Priyanka ve ark., 2017) EB izolatlarının, bitkilerin sürgün uzunluğunu, sürgün ağırlığını ve kök uzunluğunu arttırdığı saptanmıştır. Fakhraei (2015) ise bazı EB izolatlarının fosfatı çözme potansiyellerine göre hıyar bitkisinin morfolojik gelişimini arttırdığını belirlemiştir.

Çizelge 3. Seçilen EB izolatlarının enfekteli bitkilerin morfolojik gelişim parametrelerine olan etkisi.

Table 3. The effect of selected EB isolates on the morphological growth parameters of infected plants.

EB izolatları	Kök Yaş Ağırlık (g)	Sürgün Yaş Ağırlık (g)	Kök Kuru Ağırlık (g)	Sürgün Kuru Ağırlık (g)	Kök Boy (cm)	Sürgün Boy (cm)	Sürgün Çap (mm)	Yaprak Sayısı (bileşik yaprak bitki ⁻¹)
K(-)	1.45±0.4 ^{c*}	13.97±2.3 ^b	0.14±0.03 ^d	1.51±0.3 ^c	17.57±3.6 ^b	40.14±3.2 ^c	5.28±0.2 ^{ab}	7.29±0.9 ^d
K(+)	2.05±0.8 ^{ab}	19.96±5.6 ^a	0.19±0.10 ^{bcd}	2.01±0.7 ^{bc}	20.80±4.1 ^b	51.67±4.9 ^b	5.16±0.67 ^{ab}	7.67±0.5 ^{cd}
V40K2	2.40±0.4 ^a	22.60±2.9 ^a	0.26±0.03 ^a	2.64±0.3 ^a	32.00±3.0 ^a	61.50±4.7 ^a	5.43±0.4 ^a	8.67±0.5 ^a
V30Y3	1.59±0.3 ^{bc}	20.78±2.3 ^a	0.17±0.03 ^{bcd}	2.22±0.3 ^{ab}	23.50±4.3 ^b	58.50±6.2 ^a	5.14±0.4 ^{ab}	8.33±0.5 ^{ab}
T13K1	1.37±0.4 ^c	19.21±3.4 ^a	0.15±0.04 ^{cd}	1.88±0.5 ^{bc}	24.00±6.0 ^b	58.50±5.2 ^a	4.80±0.3 ^b	8.33±0.5 ^{ab}
T2K2	1.89±0.2 ^{abc}	20.57±1.3 ^a	0.21±0.01 ^{abc}	2.20±0.2 ^{ab}	24.33±8.6 ^b	57.33±5.0 ^{ab}	5.30±0.4 ^{ab}	8.17±0.4 ^{abc}
G116S2	2.09±0.3 ^{bc}	22.68±3.3 ^a	0.23±0.03 ^{ab}	2.32±0.56 ^{ab}	18.83±2.9 ^b	59.17±7.9 ^a	5.57±0.45 ^a	8.00±0.6 ^{bc}

*: Aynı sütündeki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

SONUÇ

EB izolatlarının domateslerde erken yanıklık hastalığına neden olan *A. solani*'ye ve bitki gelişimine olan etkileri araştırılmıştır. Bu çerçevede EB izolatları hastalığa karşı belirli oranlarda etkili olmuştur. Özellikle de T13K1, V40K2 ve V30Y3 izolatlarının hem *in-vitro*'da hem de *in-vivo*'da başarılı sonuçlar göstermesi, bitki koruma açısından da önemli katkılar sağlamıştır. Bununla beraber V40K2 izolatu, patojenle enfekteli ve enfektesiz uygulamalarda domates bitkisinin gelişimi arttırmıştır. Diğer EB izolatlarının gelişime olan etkileri ise bitkilerin patojen stresi altında olması ya da olmaması durumlarına göre farklılıklar göstermiştir. Bu yönleri ile endofitik bakterilerinin, sürdürülebilir tarım, organik tarım ve iyi tarım uygulamaları çerçevesinde kullanılan pestisit ve sentetik gübre girdisini azaltabileceği; fakat bununla birlikte, bu potansiyelin patojen-endofit bakteri interaksiyonuna bağlı olarak farklılıklar gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması mevcut değildir.

YAZAR KATKI BEYANI

GB: Çalışmanın yürütülmesi, *in-vitro* ve *in-vivo* analizlerinin gerçekleştirilmesi ile makalenin yazılması
SD: Analizlerin değerlendirilmesi ve makalenin dizaynı
AA: Analizlerin değerlendirilmesi ve makalenin yazılması

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2018-7553 nolu yüksek lisans tez projesi ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- Babier, Y. (2020). *Van gölü havzasından izole edilen endofit bakterilerin karakterizasyonu ve in vitro koşullarda bazı bitki patojeni bakterilere karşı antagonistik etkilerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Calvo, P., Watts, D. B., Kloepper, J. W., & Torbert, H. A. (2017). Effect of microbial-based inoculants on nutrient concentrations and early root morphology of corn (*Zea mays*). *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 180(1), 56-70.
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4), 1685-1693.
- Çifçi, G., & Altınok, H. H. (2019). Patlıcan tohumlarında bitki büyüme düzenleyici rizobakteri uygulamalarının kurşuni küf (*Botrytis cinerea* Pers.: Fr.) hastalığına etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(3), 421-429.
- Del Barrio-Duque, A., Ley, J., Samad, A., Antonielli, L., Sessitsch, A., & Compant, S. (2019). Beneficial endophytic bacteria-serendipita indica interaction for crop enhancement and resistance to phytopathogens. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2888.
- Fakhraei, D. (2015). *Endofitik bakterilerin hıyar bitkilerinde dayanıklılığı uyarma yoluyla Fusarium solgunluğuna etkisinin araştırılması*. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Gamalero, E., Berta, G., & Glick, B. R. (2009). The use of microorganisms to facilitate the growth of plants in saline soils. In: M. S. Khan, A. Zaidi, & J. Musarrat (Eds.). *Microbial Strategies for Crop Improvement* (pp. 1-22). Dordrecht Heidelberg, London: Springer.
- Gao, Z., Zhang, B., Liu, H., Han, J., & Zhang, Y. (2017). Identification of endophytic *Bacillus velezensis* ZSY-1 strain and antifungal activity of its volatile compounds against *Alternaria solani* and *Botrytis cinerea*. *Biological Control*, 105, 27-39.
- Glick, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 1-15.
- Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological research*, 169(1), 30-39.
- Glick, B.R., 2015. Biocontrol mechanisms. In: B.R. Glick (Eds.) *Beneficial Plant-Bacterial Interactions*. (pp. 123-157). New York, Springer.
- Goswami, D., Pithwa, S., Dhandhukia, P., & Thakker, J. N. (2014). Delineating *Kocuria turfanensis* 2M4 as a credible PGPR: a novel IAA-producing bacteria isolated from saline desert. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 566-576.
- Gray, E. J., & Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(3), 395-412.
- Hardoim, P. R. (2011). *Bacterial endophytes of rice: their diversity, characteristics and perspectives*. Doctoral Thesis, University of Groningen, Mathematics and Natural Sciences, Netherlands.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. (2008). Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in Microbiology*, 16(10), 463-471.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Vitebo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2, 43-56.
- Huang, P., de-Bashan, L., Crocker, T., Kloepper, J. W., & Bashan, Y. (2017). Evidence that fresh weight measurement is imprecise for reporting the effect of plant growth-promoting (rhizo) bacteria on growth promotion of crop plants. *Biology and Fertility of Soils*, 53(2), 199-208.

- Jetiyanon, K., & Kloepper, J. W. (2002). Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control*, 24(3), 285-291.
- Jha, B., Gontia, I., & Hartmann, A. (2012). The roots of the halophyte *Salicornia brachiata* are a source of new halotolerant diazotrophic bacteria with plant growth-promoting potential. *Plant and Soil*, 356(1-2), 265-277.
- Jones, J. B., Jones, J. P., Stall, R. E., & Zitter, T. A. (1991). Infectious antifungal. *Plant physiology*, 108, 17-27.
- Joseph, A., Igbinosa, O. B., Alori, E. T., Ademiluyi, B. O., & Aluko, A. P. (2017). Effectiveness of *Pseudomonas* species in the management of tomato early blight pathogen *Alternaria solani*. *African Journal of Microbiology Research*, 11(23), 972-976.
- Khan, N., Mishra, A., & Nautiyal, C. S. (2012). *Paenibacillus lentimorbus* B-30488r controls early blight disease in tomato by inducing host resistance associated gene expression and inhibiting *Alternaria solani*. *Biological Control*, 62(2), 65-74.
- Latha, P., Anand, T., Ragupathi, N., Prakasam, V., & Samiyappan, R. (2009). Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and Zimmu leaf extract against *Alternaria solani*. *Biological Control*, 50(2), 85-93.
- Latif Khan, A., Ahmed Halo, B., Elyassi, A., Ali, S., Al-Hosni, K., Hussain, J., Al-Harrasi, A., & Lee, I. J. (2016). Indole acetic acid and ACC deaminase from endophytic bacteria improves the growth of *Solanum lycopersicum*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 19(3), 58-64.
- Leclere, V., Béchet, M., Adam, A., Guez, J. S., Wathelet, B., Ongena, M., Philippe, T., Fre' de' rique, G., Marle' ne, C., & Jacques, P. (2005). Mycosubtilin overproduction by *Bacillus subtilis* BBG100 enhances the organism's antagonistic and biocontrol activities. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4577-4584.
- Li, H., Ding, X., Wang, C., Ke, H., Wu, Z., WANG, Y., Liu, H., & Guo, J. (2016). Control of tomato yellow leaf curl virus disease by *Enterobacter asburiae* BQ9 as a result of priming plant resistance in tomatoes. *Turkish Journal of Biology*, 40(1), 150-159.
- Liu, S., Che, Z., & Chen, G. (2016). Multiple-fungicide resistance to carbendazim, diethofencarb, procymidone, and pyrimethanil in field isolates of *Botrytis cinerea* from tomato in Henan Province, China. *Crop Protection*, 84, 56-61.
- Maji, S., & Chakrabartty, P. K. (2014). Biocontrol of bacterial wilt of tomato caused by '*Ralstonia solanacearum*' by isolates of plant growth promoting rhizobacteria. *Australian Journal of Crop Science*, 8(2), 208-214.
- Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 11(1), 15-19.
- Momel, T., & Pemezny, K. (2006). 2006 Florida plant disease management guide: Tomato. https://plantpath.ifas.ufl.edu/rsol/RalstoniaPublications_PDF/IFASExt2006_FloridaPDMG-V3-53.pdf. Erişim tarihi: 27 Haziran 2020.
- Nandhini, S., Sendhilvel, V., & Babu, S. (2012). Endophytic bacteria from tomato and their efficacy against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, the wilt pathogen. *Journal of Biopesticides*, 5(2), 178.
- Neeraj, V. S., & Verma, S. (2010). *Alternaria* diseases of vegetable crops and new approaches for its control. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1(3), 681-692.
- Oberson, A., Frossard, E., Bühlmann, C., Mayer, J., Mäder, P., & Lüscher, A. (2013). Nitrogen fixation and transfer in grass-clover leys under organic and conventional cropping systems. *Plant and Soil*, 371(1-2), 237-255.
- Olur, G. (2020). *Tuzlu ortamda gelişen bitkilerden izole edilen endofit bakterilerin hıyar bitkisinde köşeli yaprak leke hastalığı (Pseudomonas syringae pv. lachrymans), tuz stresi ve bitki gelişimine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Ortiz-Castro, R., Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., & López-Bucio, J. (2009). The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signaling & Behavior*, 4(8), 701-712.
- Özaktan, H., Çakır, B., Gül, A., Yolageldi, L., Akköprü, A., Fakhraei, D., & Akbaba, M. (2015). Isolation and evaluation of endophytic bacteria against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* infecting cucumber plants. *Austin Journal of Plant Biology*, 1(1), 1003.
- Peralta, I. E., Knapp, S., & Spooner, D. M. (2005). New species of wild tomatoes (*Solanum* section *Lycopersicon*: Solanaceae) from Northern Peru. *Systematic Botany*, 30(2), 424-434.
- Priyanka, T. A., Kotasthane, A. S., Kosharia, A., Kushwah, R., Zaidi, N. W., & Singh, U. S. (2017). Crop specific plant growth promoting effects of ACCd enzyme and siderophore producing and cynogenic fluorescent *Pseudomonas*. 3 *Biotech*, 7(1), 7-27.
- Saharan, B. S., & Nehra, V. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria: a critical review. *Life Sciences and Medicine Research*, 27(1), 30.
- Saito, S., Michailides, T. J., & Xiao, C. L. (2016). Fungicide resistance profiling in *Botrytis cinerea* populations from blueberry in California and Washington and their impact on control of gray mold. *Plant Disease*, 100(10), 2087-2093.

- Shinde, B. A., Dholakia, B. B., Hussain, K., Aharoni, A., Giri, A. P., & Kamble, A. C. (2018). WRKY1 acts as a key component improving resistance against *Alternaria solani* in wild tomato, *Solanum arcanum* Peralta. *Plant biotechnology Journal*, 16(8), 1502-1513.
- Song, W., Ma, X., Tan, H., & Zhou, J. (2011). Abscisic acid enhances resistance to *Alternaria solani* in tomato seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(7), 693-700.
- Soylu, E. M., Soylu, S., Kara, M., & Kurt, Ş. (2020). Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1), 7-18.
- Sundaramoorthy, S., & Balabaskar, P. (2012). Consortial effect of endophytic and plant growth promoting rhizobacteria for the management of early blight of tomato incited by *Alternaria solani*. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 3(7), 1-5.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., & Mittler, R. (2014). Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*, 203(1), 32-43.
- Sülü, M. S., Bozkurt, İ. A., & Soylu, S. (2016). Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1), 103-111.
- Townsend, G.K., & Heuberger, J.W. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Report*, 27, 340-343.
- Xiang, N., Lawrence, K. S., Kloepper, J. W., Donald, P. A., & McInroy, J. A. (2017). Biological control of *Heterodera glycines* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on soybean. *PLoS One*, 12(7), e0181201.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., Kaya, Ü., & Ünal, G. (2005). Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/dd7a04804967197_ek.pdf. Erişim tarihi: 02 Haziran 2020.