

Özgün makale (Original article)

**Domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığının
(*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith)
Davis et al.) bakteriyel antagonistler kullanılarak mücadele
imkânlarının araştırılması***

**Evaluation of biological control possibilities for tomato bacterial wilt and
canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.)
by using bacterial biocontrol agents**

Parisa MOHAMMEDİ¹, Recep KOTAN^{1**}

Abstract: Tomato bacterial wilt and canker disease (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) cause significant losses in tomato cultivation in both Türkiye and worldwide. Cultural measures and chemical control methods have limited success against this pathogen. In this study, 1150 potential biocontrol agent bacterial strains were tested for activity against this pathogen in Petri dish experiments. Biochemicals, metabolites and enzymes from a total of 48 strains were effective against the pathogen. The disease prevention rates of these potential biocontrol agents, which were propagated in liquid media, were examined in pot trials. The tested strains reduced the development of the diseases by from 6.5% to 93.4%. *Bacillus megaterium* TV-49A (93.4%) and *B. cereus* TV-85D (86.9%) showed the highest effects in terms of disease prevention. These isolates produce ACC, indole acetic acid and salicylic acid, and high phosphate solubility. Furthermore, they were positive for lipase, amylase, protease, lysis decarboxylase, phytase and chitinase enzyme production.

Keywords: Bacterial wilt and canker, biological control, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, tomato

Öz: Domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et al.) Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de domates yetiştiriciliğinde önemli kayıplara neden olmaktadır. Bu patojene karşı, yapılan kültürel önlemler ve kimyasal mücadele yöntemlerinin yetersiz olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, toplam 1150 potansiyel antagonist bakteri izolatu patojene karşı antibakteriyel aktivitesi için Petri denemelerinde test edilmiştir. Etkili bulunan toplam 48 izolatu bazı biyokimyasal özellikleri, ürettikleri metabolitleri, enzim aktiviteleri belirlenmiş; sıvı besi ortamında geliştirilen bu izolatların saksı denemelerinde hastalığı engelleme oranları tespit edilmiştir. Test edilen tüm izolatların hastalığın gelişimini % 6.5 ile 93.4 oranında engellediği tespit edilmiştir. Hastalığı engelleme oranına göre en yüksek etkiyi *Bacillus megaterium* TV-49A (%93.4) ve *B. cereus* TV-85D (%86.9) bakteri izolatları göstermiştir. Bu iki izolatu ACC,

* Bu çalışma birinci yazarın doktora tez çalışmasından üretilmiştir.

¹ Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Aydın, Bitki Koruma Bölümü, Erzurum, Türkiye

**Sorumlu yazar (Corresponding author) e-mail: rkotan@atauni.edu.tr

ORCID ID (Yazar sırasıyla): 0000-0002-1459-3287; 0000-0001-6493-8936

Alınış (Received): 7 Aralık 2023

Kabul ediliş (Accepted): 11 Mart 2024

indol asetik asit, salisilik asit üretimi ve fosfatı çözebilme özelliğinin yüksek olduğu; lipaz, amilaz, proteaz, liziz dekarboksilaz, fitaz ve kitinaz enzim üretimi sonuçlarının pozitif olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bakteriyel solgunluk ve kanser, biyolojik mücadele, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, domates

Giriş

Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.); dünya çapında yetiştiriciliği yapılan Solanacea familyasının *Lycopersicon* cinsine ait, ılıman iklimlerde tek yıllık, tropikal iklimlerde ise çok yıllık yetişen bir meyvedir (Seniz 1992). Dünyanın en önemli olan tarım ürünlerinin başında domates gelir. Günümüzde insan beslenmesindeki vazgeçilmez ürünlerden olması ve gıda sanayinde çok farklı kullanım alanlarına sahip olması nedeniyle Türkiye için de büyük önem arz etmektedir (Keskin & Gül 2004; Günay 2005).

Domateste pek çok bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmenleri çeşitli faktörlere bağlı olarak zaman zaman önemli ürün kayıplarına neden olmaktadır. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığının etmenidir (Davis et al. 1984). Hastalığın ilk defa 1909 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nin Michigan Eyaleti'nde domates üretim alanlarında görüldüğü ve hızlı bir şekilde diğer eyaletlere yayıldığı belirtilmiştir (Bryan 1930). Türkiye'de ilk kez Bremer et al. (1952) tarafından Ankara ilinde domates üretim alanlarında saptanmıştır. Daha sonra Güney Doğu Anadolu, Marmara ve Ege Bölgesi'nde (Tokgönül 1998), Doğu Akdeniz (Çınar 1980), Batı Akdeniz (Basim et al. 2004) ve Doğu Anadolu (Şahin et al. 2002) Bölgelerinde tespit edilmiştir. Domatesin en yıkıcı ve önemli patojenlerinden birisi olup dünya çapında ciddi ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Gleason et al. 1993; Gartemann et al. 2003). Son yıllarda ülkemizde de zaman zaman ciddi verim kayıplarına sebep olmaktadır.

Patojenin yaralar, doğal açıklıklar, stomalar ve hidatodlar yoluyla bitkiye giriş yapar (Carlton et al. 1998). İlk enfeksiyonlar tohum veya hatalı bitki artıklarının bulunduğu toprak vasıtasıyla olup; bitkiden bitkiye aşı, böcek aktivite ve budama gibi kültürel uygulamalarla yayılır. Genç fideler patojen tarafından enfekte edildiği zaman hızla solar ve çöker. Enfekteli gövdelerde iletim demetleri kahverengi bir renk alır. Patojen ksilemden yanındaki parankima ve floem hücrelerine yayıldığı için gövdede açık kahverengi sarı çizgiler şeklinde belirtiler gösterir. Çizgiler gittikçe koyulaşır ve bazen çatlaklar açılır. Eğer patojen açılan yaralardan veya doğal açıklıklardan bitkiye giriş yaparsa ilk olarak yaprak lekeleri ile kendini gösterir. Zamanla bu lekeler nekrozlara dönüşür. Nekrotik alanlar gittikçe genişler, yaprağın ve zamanla bütün gövdenin büzülmesine neden olur. Meyvelerdeki belirtiler ise kuşgözü lekesi olarak adlandırılan merkezi siyah bu siyah lekenin etrafı küçük beyaz hale ile çevrilidir (Çetinkaya & Yıldız 2007).

C. m. subsp. *michiganensis* mücadelesi en çok zor olan bitki patojenlerinden birisidir. Solgunluk hastalığına karşı kullanılan üç bakırlı bileşiğin (bakır hidroksit, bakır oksiklorür ve bakır sulfat), iki antibiotiğin (streptomycin ve kasugamycin) ve bitki aktivatorunun (ASM) önemli derecede patojenin popülasyonunu ve gelişimini

etkilediği belirtilmektedir (Milijašević et al. 2009). Ancak antibiyotiklerin pek çok ülkede yasaklanmış olması, kimyasal ilaçların insan sağlığı ve çevre üzerindeki olumsuz etkileri, zamanla kimyasallara karşı patojenlerde oluşan dayanıklılık sorunundan dolayı sürekli bir alternatif ve daha çevreci yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır (O'Brien et al. 2009). Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu patojene karşı bakteriyel antagonistlerle biyolojik mücadelenin alternatif bir yöntem olabileceği belirtilmektedir (Umesha 2001; Boudyach et al. 2001).

Bu çalışmada; toplam 1150 bakteri izolatının patojene karşı Petri denemelerinde antibakteriyel etkinlikleri test edilmiştir. Petri denemelerinde etkili bulunan tüm izolatlar viyollerde, viyollerde %70'in üzerinde hastalığın gelişimini engelleyen izolatlar ise saksı denemelerinde domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığının biyolojik mücadelesinde kullanılabilirliği araştırılmıştır. Ayrıca viyol denemelerinde etkili bulunan antagonist bakteri izolatlarının bazı biyokimyasal özellikleri, ürettikleri metabolitleri ve enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan patojen ve potansiyel antagonist bakteri izolatları ve bitki çeşidi

Çalışmada patojen bakteri straini olarak daha önce yürütülen bir araştırmada Doğu Anadolu Bölgesi'nde Oltu, Ispir ve Yusufeli ilçelerinde tipik bakteriyel kanser simptomu sergileyen domates bitkilerinin yaprak, gövde ve meyvelerinden izole edilerek Koch postulatlarına göre virulanslıkları test edilen ve virulanslığının yüksek olduğu belirlenen Cmm RK-1248 izolatı kullanılmıştır (Şahin et al. 2002). Potansiyel antagonist bakteri izolatı olarak ise daha önce yapılmış olan farklı araştırmalarda yabancı ve kültür bitkilerinin toprak altı veya toprak üstü aksamlarından izole edilen toplam 1150 bakteri izolatı kullanılmıştır (Çizelge 1). Bu izolatların tanısı yağ asidi metil esterlerine göre Microbial Identification Systemde (MIS) yapılmış ve Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Mikroorganizma Kültür Koleksiyonunda muhafaza edilmektedir (Kotan 1998; Kotan 2002; Karagöz & Kotan 2010). Patojen ve potansiyel antagonist bakteri izolatları daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere %30 gliserol ve Lauryl Broth (LB) içeren stok besiyerinde -86 °C'de muhafaza edilmiştir. Viyol ve saksı denemelerinde Anamas Tohum firmasına ait Early Urban ticari isimli domates çeşidi kullanılmıştır.

Potansiyel antagonist bakterilerin patojene karşı Petride test edilmesi

Stok kültürleri yapılan patojen ve 1150 potansiyel antagonist bakteriler dondurucudan çıkarılarak çözülmesi beklenmiştir. Patojen bakteri Nutrient-Broth Yeast Extract Agar (NBYA), potansiyel antagonist bakteri kültürleri ise Nutrient Broth (NB) besi ortamı içeren Petrilere ekilmiş, 27°C'de inkübasyona bırakılarak 24 saatlik taze kültürleri elde edilmiştir. Gelişen taze bakteri kültürleri steril swap ile alınarak sdH₂O ile süspanse edilmiş ve hücre konsantrasyonu 1x10⁸ hücre/ml'ye ayarlanmıştır. Potansiyel antagonistler NBYA besi ortamı içeren Petrinin (çap 9 cm) tam ortasındaki disk üzerine 10 µL damlatılmıştır ve 27°C'de 24 saat süreyle

inkübasyona bırakılmıştır. 1×10^8 hücre/mL'ye ayarlanan patojen bakteri süspansiyonu Petri yüzeyine sprey edilmiş, Petri ler parafilm ile sarılarak 27°C 'de 72 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Jung et al. 2014). Bu sürenin sonunda inhibisyon zonu veya hiperparazitik etki oluşturan izolatlar potansiyel antagonist olarak değerlendirilmiştir. Bu işlem her antagonist bakteri için 3 kez tekrar edilmiştir.

Potansiyel antagonist bakterilerin biyokimyasal, metabolit ve enzim testleri

Petri denemelerinde patojene karşı etkili olan toplam 47 bakteri izolatının; Potasyum Hidroksit (Sands 1990), Katalaz ve Oksidaz (Klement et al. 1990), Levan (Lelliot and Stead 1987), Aminsiklopropan Karboksilat Deaminaze Aktivitesi (Jacobson et al. 1994; Shahzad, et al., 2010), Azot Fiksasyonu (Mulder 1950, Brown et al. 1962), Fosfatı Çözebilme (Cisneros et al. 2017) özellikleri bakımından biyokimyasal testleri yapılarak sonuçları kayıt edilmiştir. Metabolit testlerden Hidrojen Siyanür (Nandhini et al. 2012), İndol Asetik Asit (Bent et al. 2001), Salisilik Asit (Meyer et al. 1992), Siderofor (Alexander ve Zuberer 1991) üretimi testi; Enzim aktivitesi testlerinden ise Kitinaz (Senol et al. 2014), Fitaz (Kim et al. 1998), Amilaz (Sung et al. 1993), Proteaz (Atlas 1997), Lipaz (Omidvari 2008) enzimi aktiviteleri belirlenerek sonuçları kaydedilmiştir. Biyokimyasal, metabolit ve enzim testleri ile ilgili geniş bilgiler Mohammedi (2018)'de verilmiştir.

Potansiyel antagonistlerin viyol denemeleri

Petri denemelerinde patojene karşı etkili olduğu tespit edilen toplam 47 bakteri izolatı viyol denemelerinde kullanılmıştır. Domates tohumları %2.5 Sodyum Hipoklorit solüsyonunda 3 dakika bekletilmiş ardından steril saf su ile 3 kez durularak dezenfekte edilmiştir (Mew & Rosales 1986). King B besi yerinde $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 24-48 saat geliştirilmiş antagonist bakteri izolatlarının konsantrasyonu steril su ile spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda 0.3 absorbans değerine ayarlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonun içerisine domates tohumları 20 dakika daldırılarak vakumla izolatların tohum yüzeyine kolonize olmaları sağlanmıştır. Uygulamadan bir hafta sonra patojenin 24-48 saatlik taze kültürlerinden 10^8 hücre/mL konsantrasyonunda hazırlanan süspansiyonu ile tohumlar inokule edilmiştir. Sadece patojen ile enfekte edilen tohumlar pozitif kontrol, sadece suyla muamele görmüş tohumlar negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Uygulama görmüş tohumlar torf içeren viyollere ekilmiştir (Krishnamurthy & Gnanamanickam 1998). Gerçek yapraklar çıkıncaya kadar viyoller nem çemberi içerisinde tutulmuş ve patojen uygulanan bitkilerde hastalık belirtileri gözleninceye kadar bitkiler günlük olarak incelenmiştir. 0-5 skalasına göre (0: Bitkilerde hiçbir solgunluk belirtisi yok; 1: Bitkilerde yaprakların %1-10'de solgunluk mevcut; 2: Bitkilerde yaprakların %11-25'de solgunluk mevcut; 3: Bitkilerde yaprakların %26-49'de solgunluk ve kloroz mevcut; 4: Bitkilerde yaprakların %50-74'de solgunluk mevcut; 5: Bitkiler tamamen solmuş) hastalık şiddeti ve uygulamaların hastalık gelişimi üzerine etkinliği araştırılmıştır (Soylu et al. 2003). Deneme üç tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır.

$$\text{Uygulamaların etkinliği (\%)} = \frac{\text{Kontrol - Uygulama}}{\text{Kontrol}} \times 100$$

Potansiyel antagonistlerin serada saksı denemeleri

Viyol çalışmalarında hastalığın gelişiminde %70'in üzerinde etkili olan toplam 7 antagonist bakteri izolatu, daha uzun bir vejetasyon periyodunda hastalığın gelişimi üzerine etkisinin tespit edilmesi için saksı çalışmalarında test edilmiştir. Tohumlar viyol denemelerinde olduğu gibi dezenfekte edilmiştir. Tohumlar 12 saat boyunca hava ile kurutulduktan sonra kum ve torf (1:2 hacim) içeren viyollere ekilmiştir. Viyoller bitki büyütme kabinine alınarak aydınlatma süresi 12 saat; sıcaklık: 10°C gece ve 28°C gündüz, nem %80 ve her 2 günde bir sulanmıştır.

Patojen inokulum süspansiyonu 25 ml Tryptic Soy Broth (TSB) içeren steril tüplerde 27°C'de 200 rpm'de çalkalayıcılı etüvde 24 saat inkübasyondan sonra elde edilmiştir. Tüpler 3500 rpm de 5 dakika santrifüj yapılmıştır, steril distile su ile iki kez yıkanmıştır. Konsantrasyon steril su ile 10⁸ hücre/mL'ye (OD₆₄₀=0.12) ayarlanmıştır (Soylu et al. 2003). Hazırlanan bu süspansiyon steril olmayan kum ve torf (1:2 hacim) karışımına ilave edilmiştir. Patojen inokule edilen bu karışım 4 litrelik plastik saksılara dağıtılmış ve üzeri 5 cm kalınlığında patojen inokule edilmemiş kum ve torf (1:2 hacim) karışımı ile kaplanmıştır.

Viyollere geliştirilen üç yapraklı dönemdeki domates fideleri yavaşça çıkartılmıştır. Fidelerin kökleri viyol denemelerinde olduğu gibi 10⁸ hücre/mL'ye konsantrasyonda hazırlanan ve yapıştırıcı olarak % 0.5 ksantan kullanılan bioajan süspansiyonuna 3 dakika boyunca daldırılmıştır (Boudyach et al. 2001). Sadece patojen ile enfekte edilen fideler pozitif kontrol, sadece suyla muamele görmüş fideler negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Deneme 10 tekerrürlü ve 4 kez tekrar edilmiştir. Serada, çevre etkilerini en aza indirmek için saksılar tamamen tesadüfi olarak dağıtılmıştır. Bitkiler her 2 günde bir sulanmıştır. Hastalığın gözlenmesi 12 hafta süre ile onar gün aralıklarla yapılmış ve ortalaması alınmıştır. Hastalık şiddeti ve uygulamaların hastalık gelişimi üzerine etkinliği viyol denemelerinde kullanılan 0-5 skalasına göre yapılmıştır.

Potansiyel antagonistlerin bitki gelişimi üzerine etkileri

Bitkilerin kök boğazından en üstteki dalın ucuna kadar olan yükseklik bitki boyu (cm), kök boğazından 5 cm yukarısındaki kalınlık gövde çapı (cm), her bir bitkiye ait çiçekler sayılarak çiçek sayısı (adet/bitki), bitkilerin çiçek tomurcuğu oluşturduğu dönemde sağlam yapraklardan taşınabilir klorofil metre (SPAD-502, Konica Minolta Sensing. Inc., Japon) yardımıyla klorofil içeriği indeksi, her bir bitkiye ait dal sayılarak dal sayısı (adet/bitki), ilk-orta ve son dönemde her bir bitkiye ait meyveler sayılarak meyve sayısı (adet/bitki), meyveler yetiştirme mevsiminde tartılarak meyve ağırlığı (gr/meyve), yetiştirme mevsiminin sonunda bitkiler kök boğazından kesilerek yaş ağırlıkları (gr/bitki), kağıt torbalar içinde etüvde 65-70°C'de kurularak kuru ağırlığı (gr/bitki), uygulamaların yapıldığı günden fideler ilk çiçek açmasına kadar geçen süre çiçeklenme süresi (gün) olarak değerlendirilmiştir. Bütün veriler ortalama olarak değerlendirilmiştir.

Sonuçların analizi

Çalışmada elde edilen sonuçlar SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 9.0) istatistik programında analiz edilerek, aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılığın önem derecesini belirlemek için Duncan ($p \leq 0,01$) testi yapılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Petri denemeleri test sonuçları

Çalışmada kullanılan toplam 1150 potansiyel antagonist bakteri cinsleri, toplam izolat sayıları ve Petride patojene karşı bakteriyostatik veya bakteriyosidal etki gösteren toplam izolat sayıları Çizelge 1’de verilmiştir. Petri denemelerinde test edilen toplam 1150 bakteri izolatı MIS tanı sonucuna göre 78 farklı cinsten oluşmuştur. Test edilen bu bakteri izolatlarının 301 (%26,17) adeti *Bacillus*, 126 (%10,95) adeti *Pseudomonas* ve 54 (%4,69) adeti *Panteoa* cinsine ait izolatlardan oluşmuştur. Toplam 1150 izolatın 48 adeti bakteriyostatik veya bakteriyosidal etki göstermiştir. Antibakteriyel etki gösteren cinsler arasında 301 adet *Bacillus* cinsi olmuş ve etkili izolat sayısı 27 adet olarak belirlenmiştir. Test edilen *Bacillus* izolatlarının % 8.97’si antibakteriyel etki göstermiştir.

Potansiyel antagonist bakterilerin biyokimyasal, metabolit ve enzim testleri

Petri çalışmalarında antibakteriyel etki gösteren bakteri izolatlarının bazı biyokimyasal test ve metabolit üretimi sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre izolatların tamamı katalaz, 10’u KOH, 7’si siderofor, 4’ü oksidaz ve birer izolatında levan ve HCN pozitif olduğu belirlenmiştir. Yine toplam 45 izolatın 44’ünün azot fikse ettiği, 41’inin farklı düzeylerde fosfatı çözebildiği, 7’sinin ise yüksek düzeyde ACC aktivitesi gösterdiği görülmüştür. İzolatların indol asetik asit üretimi değerlerinin 0.092 ile 0.959 $\mu\text{g/ml}$, salisilik asit üretimi değerlerinin ise 0.026 ile 0.181 $\mu\text{g/ml}$ arasında değiştiği görülmüştür. En yüksek indol asetik asit üretimi *B. ceraus* TV-85D (0.959 $\mu\text{g/ml}$), *B. megaterium* TV-49A (0.833 $\mu\text{g/ml}$) ve *B. atrophaeus* TV-15B (0.622 $\mu\text{g/ml}$) izolatından elde edilmiştir. En yüksek salisilik asit üretimi değerleri ise *P. chlororaphis* PM-18 (0,189 $\mu\text{g/ml}$), *B. ceraus* TV-85D (0.181 $\mu\text{g/ml}$) ve *B. megaterium* TV-49A (0.177 $\mu\text{g/ml}$) izolatlarından elde edilmiştir.

Potansiyel antagonist bakterilerin viyol ve saksı deneme sonuçları

Potansiyel antagonist bakterilerin enzim aktivitesi test sonuçları, viyol ve saksı denemelerinde domates bakteriyel solgunluk hastalığı skala değerleri ve engelleme oranları ise Çizelge 3’de verilmiştir. Toplam 14 izolatın lizi dekarboksilaz, 13 izolatın lipaz, 7 izolatın proteaz ve 6 izolatın ise amilaz enzim üretim değerleri kuvvetli pozitif olarak belirlenmiştir. İzolatların fitaz enzim üretimi değerleri 0.090 ile 0.339 ve kitinaz enzim üretimi değerleri ise 0.060 ve 0.342 $\mu\text{g/ml}$ arasında

değişmiştir. En yüksek fitaz ve kitinaz enzim üretimi sırası ile tanılamayan RK-306 ile *P. alvei* DKG izolatlarından elde edilmiştir.

Viyol denemelerinde test edilen bakteri izolatlarının tümü hastalığı az ya da çok engellemiştir. Engelleme oranının %6.5 ile %93.4 arasında değiştiği görülmüştür. Hastalık gelişimini %70'in üzerinde engelleyen izolatlar ve engelleme oranları sırası ile *K. rosea* TV-14C %71.7, *B.lentimorbus* RK-340 %71.7, *B. atrophaeus* TV-15B %78.2, *B. megaterium* TV-13C %78.2, *P. chlororaphis* PM-18 %78.2, *B. cereus* TV-85D %86.9 ve *B.megaterium* TV-49A %93.4 olmuştur. Bu izolatlar saksı denemelerinde kullanılmıştır. Saksı denemelerinde de tüm izolatların hastalık gelişimini %68.0 ile %95.7 arasında engellediği tespit edilmiştir. Antagonist bakterilerin hastalığ engelleme oranları sırası ile *K. rosea* TV-14C % 68.0, *B.lentimorbus* RK-340 % 74.4, *B. megaterium* TV-13C % 78.7, *P. chlororaphis* PM-18 % 78.7, *B. atrophaeus* TV-15B % 85.1, *B. cereus* TV-85D % 89.3 ve *B.megaterium* TV-49A % 95.7 olmuştur.

Domates solgunluk ve kanser hastalığı, tohum ve toprak kökenli önemli bitki bakteri hastalıklarından birisidir. Bitki bakteri hastalıkları ile mücadelede bronopol, thiram, sodyum hipoklorit, hidroklorik asit ve bakır asetat gibi çeşitli kimyasallar, dayanıklılığın teşvik edilmesi, bitkisel esaslı ekstrakt ve uçucu yağlar, çeşitli antibiyotikler ve sıcak su gibi fiziksel uygulamalar tohumdaki inokulumu yok etmek veya azaltmak için kullanılan çok farklı yöntemlerdir (Fatmi et al. 1991; Özakta, 1991; Soylu et al. 2003; Kotan et al. 2013; Horuz et al. 2019). Yine tohum kökenli inokulumu yok edebilecek veya azaltabilecek sodyum hipoklorit, üzüm sirkesi, elma sirkesi, sıcak su ve laktik asit gibi uygulamaların tohumdaki bakteri yoğunluğunu ve bulaşık tohum sayısını azalttığı belirtilmiştir (Horuz et al. 2019). Ancak PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) olarak adlandırılan bitki büyümesini teşvik eden kökbakterileri hem bitkilerde hastalık oluşturan pek çok bakteriyel, fungal ve viral etmene karşı bitkide bulunan doğal dayanıklılığı teşvik etmekte, hem de bitki büyümesini artırıcı özelliklerinden dolayı son yıllarda çok tercih edilmektedir (Weller 1988; Wei et al. 1996).

Yapılan bir çalışmada; toplan 499 adet aday PGPR bakteri izolatu arasından en fazla fosforu çözüme, azotu bağlama özelliklerine sahip 30 izolat seçilmiş, bu izolatlar arasında en etkili olan sekiz izolatın bakteriyel solgunluk hastalığını baskılayabilme potansiyelleri *in vivo* saksı çalışmaları ile araştırılmıştır. Saksı çalışmalarında iki bakteri izolatının domates bitkilerinde hastalık şiddetini ortalama % 38 ve % 54 oranında azalttığı, tarla çalışmalarında ise bu iki izolatın birlikte kullanıldığı uygulamada hastalık şiddetinde ortalama % 43 azalma gözlenmiştir. Bakteri uygulamalarının bazı bitki büyüme parametrelerinde de önemli artışlara sebep olduğu görülmüştür (Çetinkaya Yıldız & Aysan 2014). Bu çalışmada da kullanılan bakterilerin hem hastalığı engelleme hem de bitki gelişim parametreleri üzerine etkinliği açısından test edilen bakterilerden özellikle *B. cereus* TV-85D ve *B.megaterium* TV-49A izolatlarının hastalığı engellemede çok başarılı olduğu ve bitki gelişim parametrelerinde de önemli artışlara sebep olduğu görülmüştür.

Hastalığın baskılanmasında indol asetik asit ve salisilik asit üretiminin önemli olduğu düşünülmektedir. Çünkü etkili bulunan *B. cereus* TV-85D izolatı 0.959 µg/ml ile en yüksek *B. megaterium* TV-49A izolatı ise 0.833 µg/mL ile ikinci en yüksek indol asetik asit üretimine sahiptir. *B. cereus* TV-85D ve *B. megaterium*

TV-49A izolatlarının salisilik asit üretimi değerleri sırası ile 0.181 µg/mL ve 0.177 µg/mL ile en yüksek ikinci ve üçüncü izolat olarak görülmektedir.

Azot fiksasyonu yapan bakteriler ile yapılan çalışmalar, bu bakterilerin patojenlere karşı dayanıklılık sağladığını, büyüme süresinin kısalttığını, bitki gelişimini teşvik ettiğini, çiçeklenme, meyve iriliğini, verim ve/veya kaliteyi ve meyve tutumunu arttırdığını göstermiştir (Bashan & de-Bashan 2002; Shridhar 2012). Son yıllarda yapılan çalışmalarda bitkilerde kullanılan bazı biyolojik mücadele etmenlerinin içsel hormon konsantrasyonunu artırarak bitki gelişimi teşvik ettikleri ortaya konmuştur (Patten & Glick 1996). IAA hormonu bitkilerde en önemli oksinlerden birisi olarak bilinir (Ali et al. 2009). Bu maddenin bitkilerde çeliklerin kök oluşumunu teşvik ettiği, meyve tutumunu artırdığı, adventif kök oluşumunu teşvik ettiği, meyve ve yaprak dökümünü engellediği, tomurcukların daha erken çiçek açmasını sağladığı bildirilmektedir (Çetin 2002; Greene 2006; Baktır 2010).

Bu çalışmada TV-49A ve TV- 85D salisilik asidi (SA) en yüksek oranda üretmişler. Salisilik asidin çiçek tomurcuğu oluşumunu ve çiçeklenmeyi teşvik ettiği (Lee & Skoog 1965; Eberhart et al. 1989), bitkilerde sistemik dayanıklılık mekanizmasında önemli rol oynadığı (Lawton 1994; Maurhofer et al. 1994; Van Loon et al. 1998; Ramamorthy et al. 2001). Günümüzde ise artık pratikte, bitkilerde SA büyüme düzenleyicisi olarak kullanılmaya başlanmıştır (Özeker 2005). Özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerin sistemik dayanıklılık mekanizmalarında önemli rol oynadıkları bildirilmektedir (Brain et al. 2004; Harman 2004; Haas & Defago 2005; Shanmugam & Narayanasamy 2008). Çalışmalar daha çok *B. cereus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. mycooides*, *B. pumilus*, *B. subtilis* and *B. sphaericus* türlerinde yoğunlaşmıştır (Klopper et al. 2004).

Sonuç olarak Petri, viyol ve saksı denemelerinde domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığını engellemede başarılı bulunan *B. cereus* TV-85D ve *B.megaterium* TV-49A izolatlarının aynı zamanda bitki gelişim parametrelerinde de önemli artışlara sebep olduğu görülmüştür. Bunun üzerine bu bakteri izolatları ile ilgili çalışmalara devam edilmiştir. Bu antagonist izolatlar için sıvı taşıyıcı geliştirilmiş, sera ve tarla şartlarında hastalığın gelişimi üzerine etkisi araştırılmış, izolatların gen dizilimleri çıkarılarak gen bankasına kaydedilmiştir. Çalışmanın kapsamlı oluşundan sonuçlar tek bir makalede verilememiş ve daha sonra bir başka çalışmada paylaşılacaktır.



Şekil 1. 1: Petride *in vitro* testi (1a: antagonist ve patojen bakteri, 1b: Patojen bakteri); 2: Viyol denemeleri (2a: TV-85D+Patojen, 2b: TV-49A+Patojen, 2c: Patojen); Saksı denemeleri (2a: TV-85D+Patojen, 2b: TV-49A+Patojen, 2c: Patojen)

Figure 1. *In vitro* test in Petri dish (1a: Bioagent and pathogenic bacteria, 1b: Pathogenic bacteria); 2: Viol trials (2a: TV-85D+Pathogen, 2b: TV-49A+Pathogen, 2c: Pathogen); Pot trials (2a: TV-85D+Pathogen, 2b: TV-49A+Pathogen, 2c: Pathogen)

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan potansiyel antagonist bakteri cinsleri, toplam izolat sayıları (TİS) ve toplam etkili izolat sayıları (EİS)

Table 1. Tested potential bacterial genera used in the study, the number of tested isolates (TIS) and the number of effective isolates (EIS)

Sıra	Bakteri cinsleri	TİS	EİS	Sıra	Bakteri cinsleri	TİS	EİS	Sıra	Bakteri cinsleri	TİS	EİS
1	<i>Bacillus</i> sp.	301	27	18	<i>Leclercia</i> sp.	13	0	35	<i>Chromobacterium</i> sp.	4	0
2	<i>Pseudomonas</i> sp.	126	3	19	<i>Vibrio</i> sp.	13	0	36	<i>Flavobacterium</i> sp.	4	0
3	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	71	0	20	<i>Yersinia</i> sp.	15	1	37	<i>Actinomadura</i> sp.	3	0
4	<i>Panteoa</i> sp.	54	2	21	<i>Agrobacterium</i> sp.	10	0	38	<i>Cellulomonas</i> sp.	3	0
5	<i>Arthrobacter</i> sp.	34	0	22	<i>Kelpsiella</i> sp.	10	0	39	<i>Citrobacter</i> sp.	3	0
6	<i>Enterobacter</i> sp.	34	0	23	<i>Staphylococcus</i> sp.	15	0	40	<i>Hafnia</i> sp.	3	0
7	<i>Micrococcus</i> sp.	34	0	24	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	10	0	41	<i>Janthinobacterium</i> sp.	3	1
8	<i>Serratia</i> sp.	30	0	25	<i>Sphingobacterium</i> sp.	11	0	42	<i>Neisseria</i> sp.	3	0
9	<i>Paenibacillus</i> sp.	39	1	26	<i>Brevibacterium</i> sp.	8	2	43	<i>Photobacterium</i> sp.	3	0
10	<i>Alcaligenes</i> sp.	25	0	27	<i>Micobacterium</i> sp.	7	1	44	<i>Weeksella</i> sp.	3	0
11	<i>Salmonella</i> sp.	27	0	28	<i>Photorhabdus</i> sp.	7	0	45	<i>Curtobacterium</i> sp.	2	0
12	<i>Brevibacillus</i> sp.	27	1	29	<i>Achromobacter</i> sp.	8	0	46	<i>Deinococcus</i> sp.	2	0
13	<i>Chryseobacterium</i> sp.	28	1	30	<i>Myroides</i> sp.	7	0	47	<i>Kluyvera</i> sp.	2	0
14	<i>Kocuria</i> sp.	23	2	31	<i>Aeromonas</i> sp.	11	2	48	<i>Lysobacter</i> sp.	2	0
15	<i>Burkholderia</i> sp.	19	1	32	<i>Kurthia</i> sp.	7	0	49	<i>Proteus</i> sp.	2	0
16	<i>Acinetobacter</i> sp.	24	0	33	<i>Bergeyella</i> sp.	4	0	50	<i>Psychrobacter</i> sp.	2	0
17	<i>Erwinia</i> sp.	18	0	34	<i>Brevundimonas</i> sp.	5	0	51	<i>Ralstonia</i> sp.	2	0

Çizelge 1'in devamı

Table 1 continued

Sıra	Bakteri cinsleri	TİS	EİS	Sıra	Bakteri cinsleri	TİS	EİS	Sıra	Bakteri cinsleri	TİS	EİS
52	<i>Shewanella</i> sp.	2	0	62	<i>Dunganella</i> sp.	1	0	72	<i>Rahnella</i> sp.	1	0
53	<i>Streptovorticillium</i> sp.	2	0	63	<i>Edwardsiella</i> sp.	1	0	73	<i>Rhodococcus</i> sp.	1	0
54	<i>Acetobacter</i> sp.	1	0	64	<i>Escherichia</i> sp.	1	0	74	<i>Rothia</i> sp.	1	0
55	<i>Acidovorax</i> sp.	1	0	65	<i>Geobacillus</i> sp.	1	0	75	<i>Shigella</i> sp.	1	0
56	<i>Aerococcus</i> sp.	1	0	66	<i>Hydrogenophaga</i> sp.	1	0	76	<i>Sphingomonas</i> sp.	1	0
57	<i>Bordetella</i> sp.	1	0	67	<i>Kytococcus</i> sp.	1	0	77	<i>Variovorax</i> sp.	1	0
58	<i>Cellulosimicrobium</i> sp.	1	0	68	<i>Methylobacterium</i> sp.	1	0	78	<i>Zobellia</i> sp.	1	0
59	<i>Colwellia</i> sp.	1	0	69	<i>Pediococcus</i> sp.	1	0	79	Tanılanamayan izolatlar	3	3
60	<i>Delftia</i> sp.	1	0	70	<i>Providencia</i> sp.	1	0				
61	<i>Dermabacter</i> sp.	1	0	71	<i>Pseudoxanthomonas</i> sp.	1	0				

Çizelge 2. Antagonist bakterilerin biyokimyasal ve metabolit aktivite test sonuçları

Table 2. Biochemical and metabolic activity test results for bioagent bacteria

Strain	Bakteri türleri	KOH ¹	KAT ¹	OKS ¹	LEV ¹	ACC ¹	AZO ¹	FOS ³	HCN ¹	IAA	SİD ¹	SA ⁴
TV-99E	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	-	H	+	4	-	0,132	-	0,065
TV-96D	<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	L	+	2	-	0,152	-	0,032
TV-92C	<i>Aeromonas salmonicida</i>	+	+	-	-	L	+	0	-	0,138	-	0,046
TV-91D	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	-	L	+	4	-	0,118	-	0,067
TV-8C	<i>Bacillus pumilus</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,139	-	0,066
TV-87D	<i>Bacillus laevolacticus</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,257	+	0,047
TV-85D	<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	H	+	4	-	0,959	+	0,181
TV-6G	<i>Micobacterium flavescens</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,318	-	0,065
TV-67C	<i>Bacillus pumilus</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,279	-	0,028
TV-49A	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	-	H	+	4	-	0,833	+	0,177
TV-47B	<i>Bacillus atrophaeus</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,239	-	0,031
TV-45E	<i>Bacillus atrophaeus</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,374	-	0,101
TV-3C	<i>Bacillus pumilus</i>	-	+	-	-	L	+	3	-	0,134	-	0,061
TV-36D	<i>Aeromonas salmonicida</i>	+	+	-	-	M	+	0	-	0,146	-	0,034
TV-1D	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,175	+	0,059
TV-17C	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,357	-	0,073
TV-15B	<i>Bacillus atrophaeus</i>	-	+	-	-	H	+	2	-	0,622	-	0,170
TV-14C	<i>Kocuria rosea</i>	-	+	-	-	M	+	3	-	0,520	-	0,161
TV-13C	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	-	M	+	2	-	0,527	-	0,159
TV-131D	<i>Pantoea agglomerans</i>	+	+	+	-	L	+	4	-	0,093	-	0,063
TV-130B	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	-	-	H	+	2	-	0,108	-	0,096
TV-124C	<i>Chryseobacterium balustinum</i>	+	+	-	-	M	+	4	-	0,201	-	0,065
TV-10F	<i>Bacillus laevolacticus</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,417	+	0,041
RK-447	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	+	-	L	+	2	-	0,169	-	0,038
RK-435	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	-	M	+	6	-	0,092	-	0,051

Çizelge 2'nin devamı

Table 2 continued

Strain	Bakteri türleri	KOH ¹	KAT ¹	OKS ¹	LEV ¹	ACC ¹	AZO ¹	FOS ³	HCN ¹	IAA	SİD ¹	SA ⁴
RK-413	<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	-	-	M	+	4	-	0,110	-	0,078
RK-387	<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	-	-	M	+	1	-	0,112	-	0,056
RK-347	<i>Janithobacterium lividum</i>	+	+	-	-	L	+	1	-	0,297	-	0,033
RK-340	<i>Bacillus lentimorbus</i>	-	+	-	-	M	+	1	-	0,302	-	0,154
RK-339	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,353	-	0,044
RK-324	<i>Brevibacillus brevis</i>	-	+	+	-	M	+	0	-	0,242	-	0,026
RK-32	<i>Pantoea agglomerans</i>	+	+	-	-	M	+	2	-	0,506	-	0,067
RK-308	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	+	+	-	-	L	+	3	-	0,172	-	0,052
RK-1253	<i>Bacillus atrophaeus</i>	-	+	+	-	L	+	1	-	0,321	-	0,079
PM-34	<i>Yersinia aldovae</i>	+	+	-	-	L	-	0	-	0,121	-	0,051
PM-25	<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	L	+	2	-	0,092	-	0,064
PM-24	<i>Bacillus cereus</i>	-	+	-	-	H	+	2	-	0,139	-	0,087
PM-23	<i>Bacillus megaterium</i>	-	+	-	-	L	+	2	-	0,100	-	0,103
PM-20	<i>Brevibacterium epidermis</i>	-	+	-	-	L	+	3	-	0,296	-	0,062
PM-19	<i>Kocuria rosea</i>	-	+	-	-	M	+	2	-	0,216	-	0,029
PM-18	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	+	+	-	+	H	+	5	+	0,726	+	0,189
PM-17	<i>Brevibacterium epidermis</i>	-	+	-	-	M	+	1	-	0,321	-	0,039
PM-16	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	-	-	L	+	2	-	0,275	-	0,088
PM-15	<i>Bacillus subtilis</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,210	+	0,055
DKG	<i>Paenibacillus alvei</i>	-	+	-	-	L	+	1	-	0,297	-	0,101
RK-394	Tanılanamadı	-	+	-	-	M	+	1	-	0,138	-	0,055
RK-307	Tanılanamadı	-	+	-	-	L	+	2	-	0,124	-	0,039
RK-306	Tanılanamadı	-	+	-	-	L	+	1	-	0,168	-	0,075

KOH: Potasyum hidroksil, **KAT:** Katalaz, **OKS:** Oksidaz, **LEV:** Levan, **ACC:** 1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit, **N:** Azot fiksasyonu aktivitesi, **P:** Fosfatı çözebilme, **HCN:** Hidrojen siyanür üretebilme, **IAA:** İndol asetik asit ((µg/ml)), **SİD:** Siderofor, **SA:** Salisilik asit, **LİP:** Lipaz, **PRO:** Proteaz, **AMİ:** Amilaz, **LİZ:** Lizi dekarboksilaz, **FİT:** Fitaz, **KİT:** Kitinaz, **HS:** Hastalık skala değeri, **YE:** Yüzde etki, ¹: +: Pozitif, -: Negatif; ²: OD>0.15 Grup-H, OD 0.15-0.10 Grup-M ve OD <0.10) Grup-L; ³: 0: Negatif, 1: Zayıf pozitif, 2: Pozitif, 3: Kuvvetli pozitif; +: Pozitif, -: Negatif ⁴: OD527, +: Pozitif, -: Negatif

Çizelge 3. Antagonist bakterilerin enzim aktivitesi test sonuçları, viyol ve saksı çalışmasında domates bakteriyel solgunluk hastalık şiddeti ve yüzde engelleme oranları

Table 3. Enzyme activity test results for bioagent bacteria, tomato bacterial wilt disease disease severity and percent prevention rate in viol and pot studies

Strain	Bakteri türleri	LİP ¹	AMİ ²	PRO ¹	LİZ ²	FİT ³	KİT ⁴	VHS*	VYE*	SHS*	SYE*
PM-20	<i>Brevibacterium epidermis</i>	2	1	3	4	0,156	0,080	4.3 ab	6.5	-	-
TV-91D	<i>Bacillus megaterium</i>	3	4	0	5	0,097	0,122	4.0 a-c	13.0	-	-
TV-6G	<i>Micobacterium flavescens</i>	2	1	2	6	0,159	0,219	4.0 a-c	13.0	-	-
RK-435	<i>Bacillus megaterium</i>	1	6	1	2	0,230	0,181	4.0 a-c	13.0	-	-
RK-32	<i>Pantoea agglomerans</i>	0	1	0	4	0,186	0,184	4.0 a-c	13.0	-	-
RK-308	<i>Burkholderia pyrrocinia</i>	0	1	2	1	0,108	0,139	4.0 a-c	13.0	-	-
PM-19	<i>Kocuria rosea</i>	1	1	3	3	0,190	0,142	4.0 a-c	13.0	-	-
TV-96D	<i>Bacillus cereus</i>	3	2	1	0	0,142	0,159	3.6 a-c	21.7	-	-
TV-45E	<i>Bacillus atrophaeus</i>	2	3	1	3	0,187	0,164	3.6 a-c	21.7	-	-
TV-1D	<i>Bacillus megaterium</i>	0	0	2	1	0,188	0,268	3.6 a-c	21.7	-	-
RK-387	<i>Pseudomonas putida</i>	1	3	1	1	0,103	0,174	3.6 a-c	21.7	-	-
RK-347	<i>Janithobacterium lividum</i>	2	6	1	3	0,205	0,159	3.6 a-c	21.7	-	-
RK-324	<i>Brevibacillus brevis</i>	1	2	2	0	0,349	0,195	3.6 a-c	21.7	-	-
PM-25	<i>Bacillus cereus</i>	3	6	2	1	0,196	0,133	3.6 a-c	21.7	-	-
PM-17	<i>Brevibacterium epidermis</i>	1	0	3	4	0,172	0,196	3.6 a-c	21.7	-	-
PM-15	<i>Bacillus subtilis</i>	3	1	3	1	0,148	0,125	3.6 a-c	21.7	-	-
RK-306	Tanılanamadı	0	0	2	2	0,339	0,182	3.6 a-c	21.7	-	-
TV-67C	<i>Bacillus pumilus</i>	1	0	1	4	0,131	0,113	3.3 a-c	28.2	-	-
TV-36D	<i>Aeromonas salmonicida</i>	3	1	0	6	0,185	0,146	3.3 a-c	28.2	-	-
TV-17C	<i>Bacillus subtilis</i>	1	3	3	6	0,134	0,116	3.3 a-c	28.2	-	-
PM-34	<i>Yersinia aldovae</i>	3	2	0	6	0,142	0,189	3.3 a-c	28.2	-	-
RK-394	Tanılanamadı	1	2	2	3	0,179	0,144	3.3 a-c	28.2	-	-
TV-87D	<i>Bacillus laevolacticus</i>	2	2	1	4	0,167	0,151	3.0 a-d	34.7	-	-
TV-47B	<i>Bacillus atrophaeus</i>	2	3	3	4	0,169	0,133	3.0 a-d	34.7	-	-
TV-124C	<i>Chryseobacterium balustinum</i>	2	6	3	5	0,179	0,074	3.0 a-d	34.7	-	-
TV-10F	<i>Bacillus laevolacticus</i>	2	4	2	6	0,148	0,180	3.0 a-d	34.7	-	-

Çizelge 3'ün devamı

Table 3 continued

Strain	Bakteri türleri	LİP ¹	AMİ ²	PRO ¹	LİZ ²	FİT ³	KİT ⁴	VHS*	VYE*	SHS*	SYE*
RK-413	<i>Pseudomonas putida</i>	2	4	0	5	0,132	0,163	3.0 a-d	34.7	-	-
PM-24	<i>Bacillus cereus</i>	3	0	1	1	0,185	0,146	3.0 a-d	34.7	-	-
TV-99E	<i>Bacillus megaterium</i>	3	1	2	2	0,119	0,133	2.6 b-e	43.3	-	-
TV-92C	<i>Aeromonas salmonicida</i>	3	1	0	5	0,157	0,167	2.6 b-e	43.3	-	-
TV-130B	<i>Bacillus subtilis</i>	1	2	2	2	0,284	0,200	2.6 b-e	43.3	-	-
RK-447	<i>Bacillus subtilis</i>	3	3	2	2	0,159	0,127	2.6 b-e	43.3	-	-
RK-1253	<i>Bacillus atrophaeus</i>	1	0	1	6	0,158	0,178	2.6 b-e	43.3	-	-
TV-131D	<i>Pantoea agglomerans</i>	2	2	0	3	0,126	0,171	2.6 b-e	43.4	-	-
PM-23	<i>Bacillus megaterium</i>	3	1	0	3	0,090	0,170	2.6 b-e	43.4	-	-
PM-16	<i>Bacillus subtilis</i>	3	1	2	3	0,156	0,142	2.6 b-e	43.4	-	-
TV-8C	<i>Bacillus pumilus</i>	1	4	0	4	0,152	0,165	2.3 c-f	50.0	-	-
TV-3C	<i>Bacillus pumilus</i>	1	1	2	2	0,202	0,186	2.3 c-f	50.0	-	-
RK-339	<i>Bacillus subtilis</i>	2	1	1	5	0,274	0,060	2.3 c-f	50.0	-	-
DKG	<i>Paenibacillus alvei</i>	2	0	1	5	0,164	0,342	2.3 c-f	50.0	-	-
RK-307	Tanılanamadı	0	0	1	3	0,173	0,194	2.3 c-f	50.0	-	-
TV-14C	<i>Kocuria rosea</i>	1	5	2	5	0,186	0,198	1.3 d-g	71.7	1.5 b	68.0
RK-340	<i>Bacillus lentimorbus</i>	2	1	1	0	0,248	0,173	1.3 d-g	71.7	1.2 bc	74.4
TV-15B	<i>Bacillus atrophaeus</i>	2	1	1	5	0,160	0,175	1.0 e-g	78.2	0.7 bc	85.1
TV-13C	<i>Bacillus megaterium</i>	2	4	2	4	0,125	0,144	1.0 e-g	78.2	1.0 bc	78.7
PM-18	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>	3	6	3	4	0,189	0,186	1.0 e-g	78.2	1.0 bc	78.7
TV-85D	<i>Bacillus cereus</i>	3	1	1	4	0,163	0,120	0.6 fg	86.9	0.5 b-d	89.3
TV-49A	<i>Bacillus megaterium</i>	1	2	2	2	0,080	0,317	0.3 g	93.4	0.2 bc	95.7
Pozitif Kontrol		-	-	-	-			4.6 a	0.0	4.7 a	0.0
Negatif Kontrol		-	-	-	-			0.0 g	100.0	0.0 c	100.0

¹: Lip (lipaz) ve Pro (proteaz) skala değerleri 0: Negatif , 1: Zayıf pozitif, 2: Pozitif , 3: Kuvvetli pozitif ; ²: Amilaz ve Lizi dekarboksilaz skala değerleri 0: Negatif , 1 ve 2: Zayıf pozitif, 3 ve 4: Pozitif, 5 ve 6: Kuvvetli pozitif; ³: Fitaz OD₇₀₀; ⁴: Kitinaz OD₅₄₀; -: Test edilmedi

*Aynı sütun içerisinde aynı harfler ile gösterilen ortalama değerler arasındaki farkın önemli olmadığını göstermektedir (Duncan çoklu karşılaştırma testi, p<0.05)

Sera denemelerinde elde edilen bazı bitki gelişim parametreleri Çizelge 4'de verilmiştir. Bakteri uygulamalarında ilk çiçeklenme gün sayısı pozitif ve negatif kontrole göre azalırken, *B. lentimorbus* RK-340 uygulamasındaki dal sayısı hariç diğer tüm parametrelerde artışlar kaydedilmiştir. Bu artışların büyük bir çoğunluğu da istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bitki gelişim parametrelerindeki en büyük artışlar *B. megaterium* TV-49a uygulamasından elde edilmiştir. Bu bakteri izolatının hem hastalık gelişiminde önemli bir azalmaya sebep olması hem de bitki gelişiminde önemli artışlara sebep olması oldukça dikkat çekici bulunmuştur.

Çizelge 4. Sera denemelerinde elde edilen bazı bitki gelişim parametreleri

Table 4. Some plant development parameters determined in greenhouse trials

Parametreler	TV-85D	TV-49A	TV-13C	TV-15B	TV-14C	PM-18	RK-340	PK	NK
BB (cm/bitki)	65.8a	68.0a	54.4cd	59.8b	55.4c	65.5a	52.5cd	42.8e	52.1d
GÇ (cm/bitki)	4.6a	4.8a	4.0bc	4.2b	4.0bc	4.5a	4.0bc	3.2d	3.9c
ÇS (adet/bitki)	31.7a	31.7a	31.5a	27.0b	25.0b	30.2a	26.2b	5.5d	19.7c
YK (SPAD)	43.4b	46.4a	40.2c	41.2bc	39.8c	41.5bc	37.4d	29.3e	35.6d
DS (adet/bitki)	16.0a	16.7a	14.2bc	15.5ab	14.0c	16.5a	13.5c	11.2d	13.7c
MS (adet/bitki)	27.5a	27.7a	27.2a	22.2b	20.0b	26.0a	22.5b	3.2d	15.2c
MA (gr/meyve)	128.9a	133.7a	116.2ab	121.1ab	117.6ab	127.7a	88.0cd	69.7d	98.7bc
YBA (gr/bitki)	506.1a	500.6a	476.9bc	487.4b	476.9bc	498.3a	473.5c	389.2e	462.2d
KBA (gr/bitki)	208.2ab	211.4a	201.1cd	204.8c	201.5cd	206.3abc	198.7d	161.0f	185.7e
İÇS (gün)	52.2d	52.2d	53.7cd	53.0d	54.7cd	54.2cd	56.7c	74.0a	65.7b

BB: Bitki boyu, GÇ: Gövde çapı, ÇS: Çiçek sayısı, YK: Yaprakta klorofil, DS: Dal sayısı, MS: Meyve sayısı, MA: Meyve ağırlığı, YBA: Yaş bitki ağırlığı, KBA: Kuru bitki ağırlığı, İÇS: İlk çiçeklenme süresi, PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol

Kaynaklar

- Alexander D.B. & D.A. Zuberer, 1991. Use of chrome azurol S reagents to evaluate siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soils*, 12: 39-45.
- Ali B., A.N. Sabri, K. Ljung & S. Hasnain, 2009. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. *Letters in Applied Microbiology*, 48: 542-547.
- Atlas R.M., 1997. Handbook of Microbiological Media. Boca Raton, CRC Press.
- Baktır İ., 2010. Bitki Büyüme Düzenleyicileri Özellikleri ve Tarımda Kullanımları. Hasad Yayıncılık.
- Bashan Y. & L.E. de-Bashan, 2002. Protection of tomato seedlings against infection by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* by using the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 6: 2637-2643.
- Basim E., H. Basim, E.R. Dickstein & J.B. Jones, 2004. Bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* on greenhouse-grown tomato in the Western Mediterranean Region of Turkey. *Plant Disease*, 88: 1048.
- Bent E., S. Tvzun, C.P. Chanway & S. Enebak, 2001. Alterations in plant growth and root hormone levels of lodge pole pines inoculated with rhizobacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 47: 793-800.

- Boudyach E.H., M. Fatmi, O. Akhayat, E. Benizri & A.A.B. Aoumar, 2001. Selection of Antagonistic Bacteria of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* and Evaluation of Their Efficiency Against Bacterial Canker of Tomato. *Biocontrol Science and Technology*, 11: 141-149.
- Brain B., M. Gardener & A. Driks, 2004. Overview of the nature and application of biocontrol microbes: *Bacillus* sp. *Phytopathology*, 94: 1244-1249.
- Bremer H., G. Karel, K. Bıyıkoğlu, N. Göksele & F. Petrak, 1952. Türkıte'nin parazit mantarları üzerinde incelemeler (Schizomycetes, Oomycetes, Ascomycetes 2). *İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi Mecmuası*, 17: 145 -160.
- Brown M.E., S.K. Burlinghan & M.R. Jackson, 1962. Studies on Azotobacter species in soil: Comparison of media and techniques for counting Azotobacter in soil. *Plant and Soil*, 17(3): 309-319.
- Bryan M. K., 1930. Studies on bacterial canker of tomato. *Journal of Agriculture Research*, 41, 825-850.
- Carlton W.M. E.J. Braun & M.L. Gleason, 1998. Ingress of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* into tomato leaves through hydathodes. *Phytopathology*, 88: 525-529.
- Cisneros R.C.A., P.M. Sanchez de & F.J.F. Menjicar, 2017. Identification of phosphate solubilizing bacteria in a Andisol of Colombian coffee region. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(1): 21-28.
- Çetin V., 2002. Meyve ve Sebzelerde Kullanılan Bitki Gelişmeyi Düzenleyiciler. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (2): 40-50.
- Çetinkaya-Yıldız R., 2007. Domates bakteriyel solgunluk hastalığı etmeni [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis Et. Al.]'nin tanınması ve bitki büyüme düzenleyici rizobakteriler ile biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Adana, 173s.
- Çetinkaya Yıldız R. & Y. Aysan, 2014. Domates bakteriyel solgunluk hastalığının bitki büyüme düzenleyici kökbakterileri ile biyolojik mücadelesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 5(1): 9-22.
- Çınar Ö., 1980. Bakteriyel domates solgunluğu hastalığı (*Corynebacterium michiganense* (Erwin. F. Smith) Jensen)'nin tanımı, savaş yöntemleri ve etmene karşı dayanıklı domates çeşitleri üzerine araştırmalar. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: Bilimsel Araştırma ve İnceleme Tezleri.
- Davis M.J., A.G. Gillaspie, A.K. Vidaver & R.W. Harris, 1984. *Clavibacter*: A new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp., nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and bermudagrass stunting disease. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34: 107-117.
- Fatmi M., N.W. Schaad, & H.A., Bolkan, 1991. Seed treatments for eradicating *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from naturally infected tomato seeds. *Plant Disease*, 75: 383-385.
- Gartemann K.H., O. Kirchner, J. Engemann, I. Gräfen, R. Eichenlaub & A. Burger, 2003. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: first steps in the 156 understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. *Journal of Biotechnology*, 106: 179-191.
- Gleason M.L., R.D. Gitaitis & M.D. Ricker, 1993. Recent progress in understanding and controlling bacterial canker of tomato in eastern north America. *Plant Disease*, 77: 1069-1076.
- Greene D.W., 2006. An update on preharvest drop control of apples with aminoethoxyvinylglycine (Retain). *Acta Horticulture*, 727: 311-320.
- Günay A., 2005. Sebze Yetistirciliği. Cilt II, 531s, İzmir.

- Haas, D. & Defago, G., 2005. Biological control of soil-borne pathogens by Fluorescent Pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*, 3: 307-319.
- Harman G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet & M. Lorito, 2004. Trichoderma species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 43-56.
- Horuz S., Ş.Tireng Karut & Y. Aysan, 2019. Domates bakteriyel kanser ve solgunluk hastalığı etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in tohumda aranması ve tohum uygulamalarının patojen gelişimine etkisinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(3): 284-296.
- Jacobson C.B., J.J. Pasternak & B.R. Glick, 1994. Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Canadian Journal of Microbiology*, 40: 1019-1025.
- Jung W.J., F. Mabood, A. Souleimanov, L.G. Whyte, T.D. Niederberger & D.L. Smith, 2014. Antibacterial activity of antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* DJM-51 against phytopathogenic *Clavibacter michiganense* subsp. *michiganense* ATCC 7429 in vitro. *Microbial Pathogenesis*, 77: 13-16.
- Karagöz K. & R. Kotan, 2010. Bitki gelişimini teşvik eden bazı bakterilerin marulun gelişimi ve bakteriyel yaprak lekesi hastalığı üzerine etkileri. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(2): 165-179.
- Keskin G. & U. Gül, 2004, Tarımsal Araştırma Enstitüsü T.E.A.E Yayını, *Bakış Dergisi* 5. Sayı, 13. Nüsha.
- Kim Y.O., H.K. Kim, J.H. Yu & T.K. Oh, 1998. Purification and properties of a thermostable phytase from *Bacillus* sp. DS 11. *Enzyme Microbiol. Technol.* 22, 2-7.
- Klement Z., K. Rudolph & D.C. Sands, 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Akadémiai Kiado, 547 p, Budapest.
- Kloepper J.W., C.M. Ryu & S. Zhang, 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94: 1259-1266.
- Kotan R., 1998. Domates ve biber bakteriyel leke hastalığı ile biyolojik savaşta aktif ve bazı antagonistlerin etkinliği. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Erzurum. 47 s.
- Kotan R., 2002. Doğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirilen yumuşak çekirdekli meyve ağaçlarından izole edilen patojen ve saprofitik bakteriyel organizmaların klasik ve moleküler metotlar ile tanısı ve biyolojik mücadele imkânlarının araştırılması. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Bitki Koruma Anabilim Dalı, Erzurum. 217 s.
- Kotan R., F. Dadasoglu, K. Karagöz, A. Cakir, H. Ozer, S. Kordali, R. Cakmakci & N. Dikbas, 2013. Antibacterial activity of the essential oil and extracts of *Satureja hortensis* against plant pathogenic bacteria and their potential use as seed disinfectants. *Scientia Horticulture*. 153: 34-41.
- Krishnamurthy K. & S.S. Gnanamarickam, 1998. Biological control of rice blast by *Pseudomonas flourescens* strain Pf-14: evaluation of a marker gene and formulations. *Biological Control*, 13: 158-165.
- Lawton K., S.L. P.S. Uknes & J. Ryals, 1994. Acquired resistance signal transduction in Arabidopsis is ethylene independent. *Plant Cell*, 6: 581-88.
- Lee T.T. & F. Skoog, 1965. Effect of Substituted Phenols on Bud Formation and Growth of Tobacco Tissue Culture. *Physiologia Plantarum*, 18: 386-402.
- Lelliot R.A. & D.E. Stead, 1987. Methods For the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Black Well Scientific Puplication, 157 p, Oxford, USA.
- Maurhofer M., C. Hase, P. Meuwly, J.P. Metraux & G. Defago, 1994. Induction of systemic resistance of tobacco to tobacco necrosis virus by the rootcolonizing

- Pseudomonas fluorescens* strain CHAO: influence of the *gacA* gene and polyverdine production. *Phytopathology*, 84: 139-146.
- Mew T.W. & A.M. Rosales, 1986. Bacterisation of rice plants for control of sheath blight caused by *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 76: 1260-1264.
- Meyer J.M., P. Azelvandre & C. Georges, 1992. Iron metabolism in *Pseudomonas*. Salicylic acid, a siderophore of *Pseudomonas fluorescens* CHAO. *Biofactors*, 4, 23-27.
- Milijašević S., B. Todorović, I. Potočnik, E. Rekanović & M. Stepanović, 2009. Effects of copper-based compounds, antibiotics and a plant activator on population sizes and spread of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in greenhouse tomato seedlings. *Pesticides & Phytomedicine (Belgrade)*, 24: 19-27.
- Mohammedi P., 2018. Domates bakteriyel solgunluk ve kanser hastalığı etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al.*)'nin biyoajan bakteriler kullanılarak mücadele imkanlarının araştırılması, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Anabilim Dalı, Doktora Tezi, S: 111.
- Mulder E.G., 1950. Effect of Liming of an Acid Peat Soil on Microbial Activity. Trans. 4th into Congr. *Soil Science*, 117-21.
- Nandhini S., V. Sendhilvel & S. Babu, 2012. Endophytic bacteria from tomato and their efficacy against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, the wilt pathogen. *Journal of Biopesticides*, 5(2): 178-185.
- O'Brien K.P., S. Franjevic & J. Jones, 2009. Green Chemistry and Sustainable Agriculture: The Role of Biopesticides. P: 50.
- Omidvari M., 2008. Biological control of *Fusarium solani*, the causal agent of damping off, by Fluorescent *Pseudomonads* and studying some of their antifungal metabolite productions on it. MS thesis (in Persian language), Tehran University, Iran, p.94.
- Özaktan H., 1991. Domates bakteriyel solgunluğu (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) ile savaşım olanakları üzerine araştırmalar. Ege Üniversitesi Doktora Tezi, Bornova-İzmir, 98s.
- Özeker E., 2005. Salisilik asit ve bitkiler üzerindeki etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42(1): 213-223. ISSN 1018-8851.
- Patten C.L. & B.R. Glick, 1996. Bacterial bio-synthesis of indole-3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology*, 42: 207-220.
- Ramamorthy V., R. Viswanathan, T. Raguchander, V. Prakasam & R. Samiyappan , 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, 20: 111.
- Sands D.C., 1990. Physiological Criteria-determinate Tests. In: *Methods in Phytobacteriology*. Ed: Klement, Z.; Rhudolp, K.; Sands, D. C., Academia Kiado, 104p, Budapest, Hungary.
- Seniz V., 1992. Domates, Biber ve Patlıcan Yetistirciliği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı. Yayın No:26, Yalova.
- Senol M., H. Nadaroglu, N. Dikbas & R., Kotan, 2014. Purification of Chitinase enzymes from *Bacillus subtilis* bacteria TV-125, investigation of kinetic properties and antifungal activity against *Fusarium culmorum*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13(35): 1-7.
- Shahzad S.M., A. Khalid, M. Arshad & R. Kalil-ur, 2010. Screening rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of chickpea seedlings under axenic conditions. *Soil & Environment*, 29(1): 38- 46.
- Shanmugam P. & M. Narayanasamy, 2008. Optimization and production of salicylic acid by rhizobacterial strain *Bacillus licheniformis* MML2501. *The Internet Journal of Microbiology*, 6 (1): 1-8.
- Shridhar S.B., 2012. Review: Nitrogen fixing microorganisms. *International Journal of Microbiological Research*, 3(1): 4652.

- Soylu S., Ö. Baysal & E.M. Soylu, 2003. Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-Smethyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings. *Plant Science*, 165: 1069-1075.
- Sung N., K. Keun & H.C. Sung, 1993. Isolation of soil bacteria secreting raw-starch-digesting enzyme and the enzyme production. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 3: 99-107.
- Şahin F., H. Uslu, R. Kotan & F. Donmez, 2002. Bacterial canker, caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*, on tomatoes in eastern Anatolia region of Turkey. *Plant Pathology*, 51: 399.
- Tokgönül S., 1998. Ticari domates tohumlarında bakteriyel solgunluk etmeni (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*)'nin etmenin saptanması ve mücadele olanakları üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Adana. 93 sayfa.
- Umesha S., 2001. Occurrence of bacterial canker in tomato fields of Karnataka and effect of biological seed treatment on disease incidence. *Crop Protection*, 375-381.
- Van Loon L.C., P.A.H.M. Bakker & C.M.J. Pieterse, 1998. Systemic Resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36: 453-483.
- Wei G., J.W. Kloepper & S. Tuzun, 1996. Induction of systemic resistance to cucumber diseases and increases plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*, 86: 221-224.
- Weller D.M., 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26: 379-407.