



Araştırma Makalesi

Adana’da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriye Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

Merve OKUR¹, Yeşim AYSAN^{1*}

ÖZ

Bu çalışmada, Adana’da bulunan ticari fideliklerde sorun olan kabakgil bakteriye hastalık etmenlerinin tanılanması ve antagonist bakteri izolatlarla Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığı’nın biyolojik mücadelesi araştırılmıştır. Adana’da yapılan hastalık sorveylerinde elde edilen hastalık etmeni izolatlar arasında 27 izolat *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ve 14 izolat *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* olarak tanılanmıştır. Biyolojik mücadele çalışmalarında 298 adet aday antagonist bakterinin *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’a karşı *in vitro* antibakteriyel etkisi, fosforu çözme, siderofor ve IAA üretme yeteneği incelenmiş ve *in vivo* tohum uygulamaları için 15 adet antagonist bakteri seçilmiştir. kurulan birinci tohum denemesinde, 12 etkili antagonist bakterinin %21-78 değerinde hastalık oranında azalışa neden olduğu tespit edilmiştir. İkinci tohum denemesinde, 5 adet (AD 4-2, OG1-2, OG7-7, NÇ-KK, X-77) antagonist bakteri ve bir çift kombinasyon (OG1-2 ve OG7-7) kullanıldığında hastalığın umut vadeden bir şekilde baskılandığı teyit edilmiştir. Hastalığı etkili şekilde baskılayan antagonist bakteri izolatları *Providencia rettgeri*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus pumilus* ve *Enterococcus casseliflavus* olarak tanılanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, antagonist, IAA, Siderofor, Antimikrobiyal etki

Isolation of Cucurbit Bacterial Disease Agents Affecting Commercial Nurseries in Adana and Biological Control of Cucumber Angular Leaf Spot Disease

ABSTRACT

In this study, the identification of cucurbit bacterial pathogens and the biological control of cucumber angular leaf spot disease using antagonistic bacterial strains were investigated in commercial nurseries in Adana. Among the strains obtained from disease surveys in Adana, 27 were identified as *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, and 14 were identified as *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. In the biological control studies, the *in vitro* antibacterial effects, phosphorus solubilization, siderophore production, and indole-3-acetic acid (IAA) production capabilities of 298 candidate antagonistic bacteria against *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* were examined, leading to the selection of 15 antagonistic bacteria for *in vivo* seed applications. In the first seed trial, 12 effective antagonistic bacteria achieved a 21-78% reduction in disease incidence. In the second seed trial, significant disease suppression was confirmed when five antagonistic bacteria (AD 4-2, OG1-2, OG7-7, NÇ-KK, X-77) and two combinations (OG1-2 and OG7-7) were applied. The antagonistic bacterial strains that demonstrated effective disease suppression were identified as *Providencia rettgeri*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus pumilus*, and *Enterococcus casseliflavus*.

Keywords: *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, antagonist, IAA, Siderophore, Antimicrobial effect

ORCID ID (Yazar sırasına göre)

0009-0009-8832-2488; 0000-0003-2647-5111

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi: 18.07.2024

Kabul Tarihi: 18.10.2024

¹ Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Seyhan, Adana

*E-posta: aysanys@gmail.com

Adana’da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

Giriş

Kabakgiller; Cucurbitaceae familyasına ait çoğunlukla tropik, subtropik ve ılıman bölgelerde yayılış gösteren, yaklaşık 98 cins ile 975 türden oluşan çiçekli bir bitki ailesidir (Xu ve ark., 2017; Paris, 2001). Asya’da 3000 yıldan daha uzun bir süre önce kabakgil yetiştiriciliğinin başladığı bilinmektedir (Lebeda ve ark., 2007). Ülkemizde ticari anlamda yetiştiriciliği yapılan kabakgiller familyasına ait bitki türleri olarak karpuz (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai), hıyar (*Cucumis sativus* L.), kavun (*Cucumis melo* L.), kabak (*Cucurbita pepo* L.), bal kabağı (*Cucurbita moschata* L.) ve acur (*Cucumis melo* var. *flexuosus*) olarak sıralanabilir. Kabakgillerde sorun teşkil eden bakteriyel hastalık etmeni sayısı oldukça fazladır, bu hastalık etmenlerinden ülkemizde sorun olduğu tespit edilenler ise; *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Karaca ve Demir, 1988), *Acidovorax citrulli* (Demir, 1996), *Pseudomonas viridiflava* (Aysan ve ark., 2003), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Dillon ve ark., 2021), bazı *Enterobacter* üyeleri (Özdemir, 2021) ve *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (Aysan ve ark., 2006) şeklinde sıralanabilir.

Ülkemizde varlığı yaklaşık 35 yıldır bilinmekte olan ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke hastalığına sebebiyet veren *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith and Bryan) Young et al. (*Psl*) hıyar bitkilerindeki en önemli bakteriyel hastalık etmenidir. Aerobik özellikte olan, gram-negatif, 1-5 polar kamçıya sahip bir bakteridir. Bu patojen bakterinin optimum gelişme sıcaklığı 25-27°C’dir (Özaktan ve Bora, 1994). Hastalık etmeninin tanısını ve mücadelesini sağlamak amacıyla bazı araştırmalar yürütülmüştür (Aksoy, 2006). Batı Anadolu bölgesinde yapılan bir çalışmada, hastalık şiddetinin illere göre farklılık gösterdiği ve %32’ye kadar ulaştığı belirlenmiştir. Hastalığın yaygınlık oranının ise %30.5 olduğu saptanmıştır (Türküsay, 1998). *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, bitki artıkları aracılığıyla toprağa bulaşarak burada 1-2 yıl yaşamını sürdürebilir, ancak bitki artıkları bulunmadığında toprakta uzun süre varlığını sürdüremez. Etmen üretim materyali kökenli olması sebebiyle ilk belirtilerini kotiledon yapraklarda verir, ilerleyen hastalık gerçek yapraklarda damarlarla sınırlanmış köşeler şeklinde kendine özgü bir belirti ile karşımıza çıkar. Bu lekelerin zamanla rengi değişir önce sarı ardından kahverengileşir ve hücreler ölür. Ölen

hücreler dökülerek yapraklarda düzensiz deliklere sebebiyet verir. Hastalık, yağmur, sulama ve bakım işlemleri sırasında yayılır ve bu yayılışta sulama suyunun önemli bir rolü vardır. Sıcak ve nemli iklim koşulları hastalığın gelişimini teşvik eder (Mortensen ve Fatmi, 2017). Sabahın erken saatlerinde veya yüksek nem koşullarında yaprağın alt yüzeyinde bakteriyel akıntı gözlemlenebilir ve daha sonra bu akıntı beyazımsı bir kabuk benzeri şekilde kurur. Hastalıkla mücadelede kültürel önlemler arasında, hastalıktan arındırılmış tohum ve dirençli çeşitlerin kullanımının yanı sıra, ürün rotasyonu, hastalıklı bitki artıklarının temizlenmesi, özellikle seralarda etmenin gelişimi için uygun ortamın engellenmesi, nem dengesinin korunması ve vektörlerle mücadele önemli bir yere sahiptir. Kimyasal mücadelede, koruma amacıyla bakır bileşikleri, Maneb ve Mancozeb gibi maddelerin kullanılabilmesi belirtilmektedir (EPPO, 2004). Hastalıkla mücadelede kültürel önlemlerin her zaman istenilen sonucu vermediği ve kimyasal mücadelenin çevre ve insan sağlığına potansiyel riskler taşıdığı gerçeği, kimyasal mücadeleye alternatif mücadele yöntemlerinin özellikle biyolojik mücadelenin (Horuz ve Aysan, 2023) araştırılmasını teşvik etmektedir. Bu bağlamda, biyolojik mücadelenin önemli bir alternatif olabileceği düşünülebilir. Bakteriyel hastalıklarla kimyasallara alternatif mücadele yöntemleri arasında dayanıklılığın teşvik edilmesi (Baysal ve ark., 2003), bitki uçucu yağ ve ekstraktların kullanılması (Soylu ve ark., 2009; Mengülluoğlu ve Soylu, 2012; Bozkurt ve ark., 2020; Soylu ve ark., 2024), nanopartiküllerin kullanılması (Şahin ve ark., 2022), viral ve bakteriyel mikrobiyomlarla biyolojik mücadele (Bozkurt ve Soylu, 2019; Duman ve Soylu, 2019) en fazla araştırılan konulardır. Bu bağlamda, biyolojik mücadelenin önemli bir alternatif olabileceği düşünülebilir.

Bu çalışmanın ilk adımında ticari fideliklerde yaygın olarak bulunan kabakgil bakteriyel hastalık etmenlerinin neler olduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın ikinci kısmında ise ülkemizde varlığı uzun yıllardır bilinen *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’ın neden olduğu Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığı’nın mücadelesinde yerel antagonistleri kullanarak biyolojik tohum uygulamalarının kullanım potansiyeli ortaya konmuştur .

Adana’da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

Materyal ve Metot

Biyoeftinlik denemelerinde bakteri kültürü olarak 2023 yılında izole edilen ve tür düzeyinde tanısı yapılan *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* kullanılmıştır. Patojenin alt tür düzeyindeki tanısı bu çalışma kapsamında yapılmıştır. Karşılaştırma kültürü olarak Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan ve daha önceki araştırmalar kapsamında tür ve alt tür düzeyinde tanısı yapılmış olan YA-913 kodlu *Acidovorax citrulli*, YA-95 kodlu *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, YA-241 kodlu *Erwinia amylovora*, YA-713 kodlu *Pectobacterium caratovororum*, YA-731 kodlu *Pseudomonas corrugata* ve YA-26 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatu kullanılmıştır.

Çalışmada ticari olarak satın alınan Borna çeşidi hıyar fideleri, Hermanos, FK-202 ve Bravos çeşidi kavun fideleri, Miço çeşidi kabak fideleri, Karain ve Sahra çeşidi karpuz fideleri ile; Beith alpha çeşidi hıyar tohumu ve üreticiden temin edilen ilaçsız yerli hıyar tohumları kullanılmıştır. Torf olarak ise Klasman Torf Potgrond P ürünü kullanılmıştır.

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma bölümünde bulunan, klima ile ısıtılan ve soğutulan 26±2°C sıcaklıkta, %65-75 nem içeriğinde, gündüz 16 saat aydınlık, gece 8 saat karanlık koşullara sahip, iklim odasında patojenite testleri ve tohum denemeleri yapılmıştır.

Ticari Fidelik Ziyaretleri ve Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması

Adana ilinde birçok ticari fidelik bulunmakta ve bu ticari fideliklerin tamamında kabakgillerin üretimi yoğun olarak yapılmaktadır. Ticari fideliklerde üretilen hıyar, karpuz ve kavun fidelerinin Adana, Mersin, Osmaniye, Hatay, Maraş ve Adıyaman illerinde bulunan üreticilere sevkiyatı şubat ayının başından itibaren başlamaktadır. Benzer şekilde kabak ve balkabağı fidelerinin sevkiyatı da eylül-ekim aylarında yapılmaktadır. Bu tarihler göz önünde bulundurularak, kabakgil yetiştiriciliği yapılan ticari fideliklere fide sevkiyatının hazır olduğu dönemde ziyaretlere başlanmıştır. Kabakgillerin kotiledon yapraklarında su emmiş gibi görünen ıslak lekeler bakteriyel bir hastalığın varlığını kanıtlar nitelikte olduğundan ticari fideliklerden hastalıklı bitki örnekleri toplanırken kotiledon yapraklardaki su emmiş lekeler referans noktası

olarak kullanılmıştır. Fidelik ziyaretlerinde inceleme yapılırken bitkilerin kotiledon yaprakları ve ardından gerçek yaprakları son derece dikkatli bir şekilde incelenmiştir. Gerçek yapraklarda özellikle yaprak kenarlarında sarımsı haleler bulunan nekrotik lekeler, yaprakta ve/veya gövde dokularında yumuşak çürüklük belirtileri gösteren örnekler toplanmıştır. Kabakgil bitkilerine ait hasta bitki dokuları kâğıt havlu arasına sarılarak kese kağıdı içerisinde Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde bulunan Bakteriyoloji laboratuvarına getirilmiştir. Hasta örneklerden patojen bakteri izolasyonu yapılana kadar hasta dokular +4 C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Hasta Bitkilerden Patojen Bakteri İzolasyonları

Farklı tarihlerde ticari fideliklere yapılan ziyaretlerde 82 adet bitkide hastalık belirtileri tespit edilmiş ve ayrıca her bir tohum lotundan gelişen fidelerin yer aldığı viyollerden en az iki adet olmak üzere toplam 10 adet hasta kabakgil (hıyar, kavun ve kabak) bitkileri toplanmıştır. Bu bitkilerden patojen izolasyonu yapılana kadar örnekler buzdolabında muhafaza edilmiştir. Laboratuvarında hasta bitki dokuları (kotiledon ve gerçek yapraklar) önce akan çeşme suyunda yıkanmış ve ilaç kalıntıları (özellikle mavi renkli olarak görülen bakırlı preparatlar) uzaklaştırılmıştır. Kağıt havlu üzerinde tamamen kuruyuncaya kadar örnekler bekletilmiştir. Çalışma alanı %70’lik alkolle silinerek bir kağıt havlu yayılmış ve üzerine hasta bitki dokuları yerleştirilmiştir. Ardından, steril bir bistüri yardımıyla hastalıklı ve sağlıklı kısmı içerecek şekilde tek bir lekeden 3-4 mm boyutunda doku örnekleri alınmıştır. Alınan bu leke %70’lik alkol ile yüzeyden dezenfekte edilmiş ve steril porselen havanlara konulmuştur. Havanların içerisindeki örnek havaneli yardımıyla iyice ezilerek üzerine 3 ml Saline Buffer (%0.85’lik NaCl çözeltisi) eklenerek homojenize edilmiştir. TSA besi yeri içeren petripler çizim yapılmadan önce kapakları steril kabinde açılarak yüzeyindeki nem uzaklaştırılmıştır. Steril kabinde 15 dakika bekletilen havanlardan bir öze dolusu (yaklaşık 10µl) homojenat alınarak petrilere üç çizgi yöntemi ile çizimler yapılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987). Petriplerin ağzı parafin sarılarak kapatılmıştır. İzolasyon petripleri 26°C’de inkübatörde 24-48 saat inkübe edilmiş ve gelişen koloniler incelenmiştir. Besiyerinde baskın olarak

Adana’da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmelerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

gelişen beyaza yakın krem renkli tek koloniler seçilerek TSA besiyerine saflaştırmalar yapılmıştır.

Patojen Bakteri İzolatlarının Tanısı

Hasta bitkilerden yapılan izolasyonlar sonucunda saflaştırılan bakterilerin tanısında Gram reaksiyon, LOPAT testleri (Lelliot ve Stead, 1987), TSA ve King B besiyerlerindeki koloni morfolojisi ve MALDI-TOF MS yöntemi (Soylu ve ark., 2020) kullanılmıştır.

Farklı Kabakgil Bitkilerinde Patojenite Testleri

Hasta kabakgil bitkilerinden yapılan izolasyonlar sonucunda saflaştırılan 41 adet bakteri izolatının patojenite testleri konukçu bitkileri üzerinde yapılmıştır.

İlk patojenite testi laboratuvar koşullarında koparılmış hıyar (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*) ve limon meyveleri (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) üzerinde yapılmıştır. Akan çeşme suyu altında yıkanan hıyar ve limon meyveleri kurutulduktan sonra yüzeyi %70’lik alkolle silinerek dezenfekte edilmiştir. Yüzeyden dezenfekte edilen meyveler steril filtre kağıdı yerleştirilmiş petriyeler içerisine konulmuştur. Hasta hıyar, kabak ve kavun bitkilerinden izole edilen 41 adet patojen bakteri izolatının 24-48 saatlik taze kültürlerinden dansiyometre yardımıyla 10^7 hücre/ml yoğunluğunda bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar, steril şırınga yardımıyla meyvelerin üst kısmında bulunan beş yere yara açılarak inoküle edilmiştir. Negatif kontrol olarak steril su ile, pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (YA-26 kodlu) izolatıyla meyvelere aynı şekilde işleme tabii tutulmuştur. Filtre kağıtları steril suyla nemlendirildikten sonra meyveler oda sıcaklığında 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Hıyar meyvelerinde inokulasyon noktası etrafında gelişen su emmiş alanların ve limon meyvelerinde inokulasyon noktası etrafında içe çökük kahverengi lekelerin varlığı hastalık oluşumu için pozitif olarak değerlendirilmiştir. İnokulasyon noktası etrafında hastalık belirtisi oluşturan izolatların patojenitesi pozitif olarak değerlendirilmiştir.

İkinci patojenite testi ısıtmasız cam sera koşullarında, ticari fideliklerden satın alınan 8-10cm boyunda, sağlıklı kabakgil (hıyar, kabak, kavun ve karpuz) fideleri üzerinde 17 Mayıs 2023 tarihinde yapılmıştır. Çalışmada hıyar (*Cucumis*

sativus) çeşidi olarak oturak, açık tarla yetiştiriciliğine uygun Borna F1; kavun (*Cucumis melo*) çeşidi olarak tünel ve açık tarla yetiştiriciliğine uygun Kırkağaç tipi kavun çeşitleri olan Hermanos F1 ve Bravos F1; kabak (*Cucurbitae pepo*) çeşidi olarak açık tarla yetiştiriciliğine uygun ampul tipi bir çeşit olan Miço F1; karpuz (*Citrullus lanatus*) çeşidi olarak açık tarla ve örtü altı yetiştiriciliğine uygun siyah meyve rengine sahip bir çeşit olan Karain F1 ve Crimson Sweet yani alaca meyve rengine sahip bir çeşit olan Sahra F1 çeşitlerine ait fidelere kullanılmıştır. Bu denemede 41 bakteri izolatı yerine, bunların izole edildiği 10 hasta bitkiden birer adet izolat seçilerek toplam 10 izolat ile çalışılmıştır. Seçilen bakteri izolatları TSA besiyerinde 24-48 saat geliştirildikten sonra dansiyometre yardımıyla steril saf suda 10^7 hücre/ml yoğunluğunda süspansiyonları hazırlanmıştır. Her bir bakteri izolatı, 6 kabakgil çeşidine (Borna, Hermanos, Bravos, Miço, Karain ve Sahra) üçer tekrar olmak üzere toplam 18 fideye inoküle edilmiştir. Negatif kontrol olarak steril su ve pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (YA-26 kodlu) izolatı, aynı yöntemle farklı çeşit ve türlere ait kabakgil fidelere püskürtülmüştür. Denemede toplam 216 adet fide kullanılmıştır. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölüm arazisindeki ısıtmasız cam serada tutulan bitkilerin, pozitif kontrolde hastalık belirtisi görüldüğü tarihe kadar bakımları yapılmıştır. Fideler günlük olarak kontrol edilmiş ve hastalık belirtisi gösteren bitkilerden yeniden bakteri izolasyonları yapılarak Koch postulatlarının aşamaları tamamlanmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda elde edilen re-izolatlar eğik agar besi yeri olan YDCA besi yerinde +4 °C’de buzdolabında saklanmıştır.

Biyolojik Mücadele Çalışmaları

Pseudomonas syringae pv. *lachrymans*’ın neden olduğu Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının biyolojik mücadele olanaklarının araştırıldığı bu kısımda, aday antagonistler kabakgil yetiştirilen alanların toprağından, yeşil aksamından, meyvelerinden ve tohumlarından izole edilmiş, patojen bakteriye etkisi in vitro ikili kültür petri denemeleri ile ortaya konmuştur. Aday antagonistler içerisinde antibiyotik üreterek patojenin gelişimini engelleyen, siderefor oluşturan, indol asetik asit üretme (IAA) ve fosfor çözme yeteneklerine sahip izolatlar seçilmiştir.

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köseli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

İzolasyonlar için örnekler seçilirken hastalık etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın varlığının bilindiği tarlalar ve bitkiler tercih edilmiştir. Arazide nispeten diğer hastalıklı bitkilere göre daha sağlıklı görünen bitkiler toplanmıştır.

Aday Antagonistlerin izolasyonu

Antagonist bakteri izolasyonu için alınan örneklerden 20 gram hassas terazide tartılmış ve önceden hazırlanmış 180 ml saline buffer (%0.85 NaCl) içeren erlenlere eklenmiştir. Karışım en az 3 saat 200 dev/dak hızda çalışan çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Çalkalama işleminin sonunda erlenden alınan 1ml'lik örnek 9 ml saline buffer içeren tüplere koyularak seyreltme serileri hazırlanmıştır. Her seyreltmeden 100µl örnek alınarak TSA besiyerine 3 tekrarlı olacak şekilde ekimleri yapılmıştır. Seyreltme ekimleri en çok seyreltilenden en aza doğru gerçekleştirilmiştir. Petrilerin 26°C'de 48 saat gelişmesi beklenmiş ve gelişen koloniler incelenmiştir. Besi yerinde farklı koloni morfolojisine, rengine ve yapısal özelliklerine sahip koloniler TSA besiyerlerine saflaştırılmıştır. Elde edilen izolatlar daha sonraki çalışmalarda da kullanılmak üzere YDCA besiyerinde +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Kabakgil yetiştiriciliği yapılan tarla toprağından, kabakgillerin yeşil aksamındaki epifitik floradan ve kabakgil tohumlarından 134 adet aday antagonist elde edilmiştir, buna ek olarak Bakteriyoloji kültür koleksiyonunda bulunan, 164 izolat da çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada toplam 298 adet aday antagonist bakteri kullanılmıştır.

Aday Antagonistlerin Seçimi

Aday antagonistlerin in vitro koşullarda *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'a olan antibakteriyel etkisi ikili kültür petri denemeleriyle araştırılmıştır (Mitchell, 1992). Aday antagonistler TSA besiyerine üç nokta şeklinde ekim yapılmış ve 24-48 saat inkübe edilmiştir. *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın McFarland dansiyometre yardımıyla 10⁷ hücre/ml yoğunlukta bir süspansiyonu hazırlanmıştır. Temiz bir el pülverizatörüne aktarılan patojen süspansiyonu üç nokta ekimi yapılmış aday antagonistlere 15 cm uzaktan püskürtülmüştür. Kontrol petrisi olarak, TSA besiyerine yalnızca patojen bakteri püskürtülmüştür. Bakteri süspansiyonunun püskürtüldüğü petriler 26°C'de 24-48 saat

geliştirilmiştir. Petrilerde gelişen aday antagonist izolatların çapı ile çevresinde oluşan engelleme zonları mm olarak ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Daha sonra bakteri çapı ve engelleme zonu birbirine oranlanmış ve izolatların "Antagonistik İndeks Değerleri" hesaplanmıştır (Jiang ve ark., 2015).

Testler sonucunda seçilen 29 antagonist bakterinin siderofor üretebilme yetenekleri mavi CAS agar besiyeri kullanılarak belirlenmiştir (Schwyn ve Neilands, 1987). CAS agar besiyerine eşit uzaklıklarda üç nokta şeklinde ekimi yapılan antagonistler 26 °C'de 7 gün boyunca geliştirilmiştir. Gelişim süresinin sonunda bakteri kolonisi çevresinde zon oluşturan antagonistler için ölçümler yapılmıştır. Aday antagonistlerin siderofor şiddeti, zon oluşan bölgenin çapının antagonist bakterinin çapına oranlanmasıyla elde edilen indeks değerine göre değerlendirilmiştir. Hiç engelleme zonu oluşturmayan aday antagonistlerin çözünürlük indeksi 0 olarak kabul edilmiş, çözünürlük indeksi 1 ve üzeri olan aday antagonistler siderofor üretme yani demiri besin olarak kullanma yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir.

Pseudomonas syringae pv. *lachrymans*'a karşı değişen oranlarda antibakteriyel etki gösteren 29 adet antagonistin IAA üretimi Salkowski yöntemiyle tespit edilmiştir (Glickman ve Dessaux, 1995). İçerisinde 3 mg ml⁻¹ L-tryptophan içeren Laura Bertoni (LB) sıvı besiyeri tüplerine, 10⁷ hücre/ml yoğunluğuna ayarlanmış olan antagonist süspansiyonları 500 µl eklenmiş ve 4 gün boyunca 30°C'de 200 dev/dak çalkalayıcıda çalkalanmıştır (Sezonov ve ark., 2007). Bu sürenin sonunda örneklerin içindeki tortuların ayrılması için solüsyonlar 5000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve işlemin sonunda tüplerin üstünde kalan süpernatant tortudan ayrılarak steril eppendorflara aktarılmıştır. Süpernatantın üzerine 2 damla (yaklaşık 40 µl) fosforik asit eklenmiş ve bu karışım içinde 4 ml Salkowski çözeltisi (150 ml %98'lik H₂SO₄, 7.5 ml 0.5 M'lık FeCl₃.6H₂O, 250 ml saf su) olan cam tüplere aktarılarak oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda 30 dakika beklemeye bırakılmıştır. İşlem sonunda IAA üretim miktarı yüksek olan antagonistlerin besiyerinin rengini kırmızı/mora doğru değiştirdiği gözlenmiştir. Ölçümler 535 nm dalga boyundaki spektrofotometrede okunarak absorbans değerleri kaydedilmiştir. Antagonistlerin ürettiği IAA miktarı standart IAA

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmelerinin İzolasyonu ve Hıyar Köseli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

absorbans değerleriyle kıyaslanmak suretiyle ppm ($\mu\text{g ml}^{-1}$) düzeyinde belirlenmiştir (Doksöz, 2021).

Antagonist bakteri izolatlarının fosforu çözme yeteneği tri-kalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) kullanılarak belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2012). Sözü edilen bu besi yerini içeren petrilere antagonistler üç nokta şeklinde ekim yapılmış ve petriler 26°C 'de 7 gün gelişmeye bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda ekimi yapılan antagonist bakterilerin çevresinde şeffaf bir engelleme zonu oluşturan örnekler pozitif kabul edilmiştir. Oluşan bu zonun, bakteri kolonisinin çapına oranlanmasıyla fosfor çözünürlük indeksi hesaplanmıştır.

Bu işlemler sonucunda seçilen antagonist bakterilerin tohum denemelerine dahil edilmeden önce birbirleriyle olan etkileşimlerine ikili kültür petri denemeleriyle bakılmıştır. TSA besi yerine üç nokta ekimi ve 4 tekerrür olacak şekilde yapılmıştır. Antagonistler 24 saat geliştirildikten sonra, antagonist bakterilerden dansiyometrede 10^7 hücre/ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmış ve bu petrilerin üzerine 15 cm uzaklıktan püskürtülmüştür. Püskürtme işlemi gerçekleştirilen petriler 24 saat geliştirildikten sonra antagonist bakterilerin birbirlerine karşı engelleme zonu oluşturup oluşturmadığı incelenmiştir. Birbirlerine karşı engelleme zonu oluşturan antagonist bakteriler, kombinasyon çalışmasında deneme dışı bırakılırken, birbirlerini engellemeyen antagonist izolatların kombinasyonları çalışmaya dahil edilmiştir.

Denemelerin Kurulması ve Değerlendirilmesi

Toplam iki biyolojik tohum uygulamasından oluşan bu çalışmada birinci deneme için ticari olarak satın alınan Beith alpha çeşidi hıyar tohumları kullanılmıştır. Tohumlar ticari bir fungusitle ilaçlanmış olduğundan tohum ilacını uzaklaştırmak için musluk suyuyla 3 kez yıkanarak pestisitler arındırılmıştır. İkinci denemede Trabzon ilinin Akçaabat ilçesinden getirilen çeşidi bilinmeyen ilaçsız yerli hıyar tohumları kullanılmıştır. Tohumlar herhangi bir ilaçla muamele görmediği için direkt kullanılmıştır.

Patojen bakteri *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın TSA besiyerinde 48 saat geliştirilmiş olan taze kültüründen dansiyometrede 1.00 ölçüm değerinde yaklaşık 2.4×10^6 hücre/ml yoğunluğunda bir süspansiyon

hazırlanmıştır. Hıyar tohumlarına yara açılması ve patojenin girişinin kolaylaşması için bu süspansiyona 1g/L karborandum tozu eklenmiştir (Bashan ve ark., 1978). Patojen bakteri süspansiyonun içine hıyar tohumları daldırılmış, patojenin tohumlara tutunabilmesi için 150 dev/dak hızda çalışan bir erlen karıştırıcıda 30 dakika boyunca çalkalanmıştır. Çalkalamanın sonunda tülbent yardımıyla süzülen patojenle suni olarak bulaştırılmış tohumlar steril kurutma kağıtlarına serilerek 30 dakika boyunca steril kabinde kurumaya bırakılmıştır. Birinci deneme için kuruyan tohumlar taze kültürden geliştirilmiş ve 1.0 yoğunlukta hazırlanmış olan 15 farklı antagonist süspansiyonunun içerisine daldırılmıştır. Antagonistlerin tohuma kolonize olmasını sağlamak için uygulama görmüş tohumlar 150 dev/dak hızda 30 dakika boyunca çalkalanmıştır. İkinci deneme için aynı işlem 5 farklı antagonist bakteri ve bir adet ikili kombinasyon ile gerçekleştirilmiştir. Antagonist kombinasyonunda hazırlanan eşit popülasyon yoğunluğundaki bakteri süspansiyonları eşit miktarda karıştırılarak kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak sadece patojenle bulaştırılmış tohumlar, negatif kontrol olarak sadece steril saf suya daldırılmış tohumlar kontrol uygulamaları olarak denemede yer almıştır. İlk denemede yer alan her bir uygulama 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 50 tohum bulunurken ikinci denemede benzer şekilde 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 25 adet tohum yer almıştır. Torf içeren plastik küvetlere tohum ekimi gerçekleştirildikten sonra nem sağlamak amacıyla kapakları kapatılmış ve Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümünde bulunan iklim odasına (sıcaklık $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$, nem %65-75, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık) yerleştirilmiştir. Denemeler günlük olarak kontrol edilmiş ve tohumlar çimlendikten sonra küvetlerin kapakları açılmıştır (Horuz ve Aysan, 2018).

Pozitif kontrol uygulamasında yer alan hıyar fidelerinin kotiledon yapraklarında gözle görülür hastalık belirtileri (su emmiş lekeler, sarı haleli kahverengi lekeler) oluştuktan sonra değerlendirme aşamasına geçilmiştir. Her bir biyolojik tohum uygulamasında yer alan toplam fide sayısı ve hasta fide sayıları not edilmiştir. Hasta fide sayısı çimlenen toplam fide sayısına oranlanarak hastalık oranı (%) hesaplanmıştır. Ayrıca her bir uygulamadaki hasta fidelerin kotiledon yapraklarındaki lekeler 0-3 skalasına göre değerlendirilmiş ve hastalık şiddeti

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köseli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

hesaplanmıştır (Karman, 1970). Hastalık şiddetinin tespitinde Aysan (1999) tarafından geliştirilen 0-3 skalası modifiye edilerek (0: kotiledonlarda leke yok, 1: kotiledonlarda 1 leke, 2: kotiledonlarda 2 leke, 3: kotiledonlarda 3 veya daha fazla leke var ise) kullanılmıştır. Antagonistlerin hastalığı baskılama düzeyi pozitif kontrolle karşılaştırılarak Abbott formülüne göre hesaplanmıştır (Karman, 1970). Elde edilen veriler CoStat İstatistik Yazılımı (CoHort Software, Pacific Grove, CA, U.S.A. Version 6.4) kullanılarak analiz edilmiştir. Tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılarak $p \leq 0.05$ önem düzeyinde LSD çoklu karşılaştırma testiyle uygulamalar arasındaki farklılık ortaya konmuştur.

Başarılı Antagonistlerin Tohum Çimlenmesine Etkisi

Tohum denemelerinde başarılı bulunan 5 adet antagonist bakteri (AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7, NÇ-KK ve X77) TSA besiyerinde 48 saat geliştirildikten sonra saf suyla süspansiyon edilerek dansiyometrede 1.00 yoğunlukta hazırlanmıştır. Hıyar tohumları, antagonist süspansiyonlarının içerisine daldırılmıştır ve tohumlar 150 dev/dak hızda 30 dakika boyunca çalkalanmıştır. Çalkalama sonunda antagonist solüsyonları süzülerek ayrılmıştır ve hemen ardından tohum ekimleri steril küvet ve steril torflara gerçekleştirilmiştir. Kontrol olarak tohumlar steril suya daldırılmıştır ve ekimleri bu şekilde yapılmıştır. Deneme 3 tekerrür ve her tekerrürde 25 tohum olacak şekilde kurulmuştur. Denemeler, sadece suyla muamele görmüş çimlenen tohum sayısı (kontrol) ve antagonist bakteri uygulaması görmüş çimlenen tohum sayısı birbirine oranlanarak değerlendirilmiştir.

Başarılı Antagonistlerin Tanısı

Tohum denemelerinde başarılı bulunan 5 adet antagonist bakteri (AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7, NÇ-KK ve X77) dansiyometrede 1.00 yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmış ve hazırlanan bu süspansiyonlar tütün yaprağının iki damar arasına steril bir şırınga yardımıyla inoküle edilmiştir. İnokülasyonun ardından 24 saat oda sıcaklığında inkübe edilen tütünün, inokülasyon yapılan yaprak damar aralarındaki nekrotize olmuş görünümü pozitif olarak değerlendirilmiştir. Antagonist bakterilerin yumuşak çürüklük etmeni olup olmadığını belirlemek için; patatesler musluk suyuyla yıkanarak toprağından

arındırılmış ve %1'lik sodyum hipoklorid çözeltisinin içine daldırılarak 30 dakika süreyle bekletilmiştir. Sürenin sonunda patates yumruları 3 kere steril saf sudan geçirilerek durulanmış ve steril kabin içerisinde kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan patatesler steril bir bıçak yardımıyla yaklaşık 1 cm kalınlığında daireler şeklinde kesilmiş ve içinde steril kurutma kağıdı bulunan steril cam petrilere koyularak 24 saatlik taze kültürden geliştirilmiş antagonist bakteriler bu patateslerin üzerine steril kürdan yardımıyla inoküle edilmiştir. Patateslerin altında bulunan kurutma kâğıdı yaklaşık 1 ml steril saf su ile nemlendirilerek kapakları kapatılmış ve 26 C'de çalışan inkübatöre alınarak 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda patatesteki yumuşak/sulu çürüklüğe sebep olan antagonist bakterilerin pektolitik enzim üretme aktivitesinin olduğu ve yumuşak çürüklük patojeni olabileceği belirlenmiştir.

Bakterilerin insan patojeni olup olmadığını anlamak için insan vücut sıcaklığında gelişimini bilmek gerekmektedir. Bu bağlamda, tohum denemelerinde başarılı bulunan 5 adet antagonist bakteri (AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7, NÇ-KK ve X77) izolatu TSA besiyerine ekilmiş ve 36 °C'de 24-48 saat boyunca inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda bu sıcaklıkta gelişme yeteneği olmayan bakterilerin insan patojeni olamayacağı belirlenmiştir.

Tohum denemelerine dahil edilen 15 antagonist bakteri izolatu (NÇ-KK, NÇ-YKI, NÇ-YKR, DK-Sarı OG 7-13, OG 7-7, OG 1-2, OG 8-8, YL 4-3, AY10-M2, AZ10-6-2, Ad4-2, X77, HA9 ve HA3) içerisinden 5 tanesinin (AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7, NÇ-KK ve X77) tür teşhisi MALDI TOF MS yöntemi ile yapılmıştır.

MALDI-TOF MS patojenlerin kesin tür teşhislerinin yapılmasını sağlayan bir sistemdir. Sistemin çalışma mekanizması, bakteriden doğrudan lazer ile elde edilen protein profillerinin cihazın kütüphanesindeki tanımlı izolatlar ile karşılaştırılma prensibine dayanmaktadır. Saf kültürden alınan ve TSA besi yeri ortamında 24 saat geliştirilen antagonist bakteri kültürleri ethanol/formik asit yöntemi ile muamele edildikten sonra (Pavlovic ve ark., 2012) cihazın örnek tablasına (target) yüklenerek cihazın kütüphanesindeki mikroorganizmalar ile BioTyper™ 1.1 software (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) yazılımı ile karşılaştırmak sureti ile teşhisleri yapılmıştır. Teşhisler sonucunda firmanın belirttiği üzere ortaya çıkan

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmelerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

skor değerleri 2.3-3.0 aralığında ise tür düzeyinde oldukça güvenilir; 2.0-2.99 aralığında cins düzeyinde oldukça güvenilir, tür düzeyinde güvenilir; 1.70-1.99 arasında ise cins düzeyinde güvenilir tür düzeyinde muhtemel düzeyde güvenilir; 1.7 değerinin altında olan skorlar ise güvensiz tanı olarak değerlendirilmiştir (Soylu ve ark., 2020).

Bulgular

Ticari Fidelik Ziyaretleri ve Hastalıklı Bitki Örneklerinin Toplanması

Çizelge 1'de görüldüğü gibi ticari fideliklere yapılan toplam dört ziyarette, 82 hasta bitki örneğinin 65 adeti hıyar, 13 adeti kavun ve 4 adeti ise kabak fidelerinden alınmıştır. Karpuz fidelerinde hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Toplam 10 hasta fideden (hıyar, kavun ve kabak) ayrı ayrı izolasyonlar gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Ticari fideliklerin incelenmesi sırasında alınan bitki örnekleri sayısı

Tarih	Bitki	Hasta Fide Sayısı	Alınan Örnek Sayısı
3 Şubat 2023	Kavun	9	2
1 Mart 2023	Hıyar	30	3
14 Mart 2023	Kavun	4	1
30 Mart 2023	Kabak	4	2
	Hıyar	35	2
Toplam		82	10

Hasta Bitkilerden Patojen Bakteri İzolasyonları

Dört farklı tarihte ziyaret edilen ticari fideliklerde toplam 82 adet hasta bitki içerisinde seçilen 10 adet hasta hıyar, kabak ve kavun bitkilerinin kotiledon ve gerçek yapraklarından yapılan izolasyonlarda, TSA besi yerinde krem renkli, parlak, mukoid ve yuvarlak koloniler dominant olarak gelişmiştir. Her bir hasta bitki örneğinin izole edildiği petriden toplam 41 adet bakteri izolatu saflaştırılmıştır. Bu 41 izolatu 19 adeti hıyardan, 14 adeti kavundan ve 8 adeti kabak bitkilerinden izole edilmiştir.

Patojen Bakteri İzolatlarının Tanısı

Çizelge 2'de görüldüğü gibi hıyardan izole edilen 19 adet, kabaktan izole edilen 8 adet ve kavundan izole edilen 14 adet izolatu tümünün (41 adet) *Pseudomonas syringae* olduğu Gram reaksiyon, LOPAT testleri, farklı besiyerlerindeki (TSA ve King B) koloni morfolojisi ve MALDI-TOF MS

yöntemiyle belirlenmiştir. İzolatların pathovar düzeyinde tanısında patojenite testlerinden yararlanılmıştır.

Çizelge 2. Patojen izolatlarının tanı testlerinde elde edilen sonuçlar

Testler	Hıyar İzolatu (19 adet)	Kabak İzolatu (8 adet)	Kavun İzolatu (14 adet)
Floresan pigment	+	+	+
Gram reaksiyon	-	-	-
L (levan oluşumu)	+	+	+
O (Oksidaz testi)	-	-	-
P (Pektolitik aktivite)	-	-	-
A (Arginin reaksiyonu)	-	-	-
T (Tütünde aşırı duyarlılık)	+	+	+

Farklı Kabakgil Bitkilerinde Patojenite Testleri

Laboratuvar koşullarında koparılmış hıyar ve limon meyveleri üzerinde yapılan patojenite testinde, inokulasyondan 5-7 gün sonra inokulasyon noktası etrafında hıyar meyvelerinde su emmiş alanlar ve limon meyvelerinde içe çökük kahverengi lekeler tespit edilmiştir. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatlarının limon, hıyar, kabak, kavun ve karpuz bitkileri gibi geniş bir konukçu dizisini hastalandırırken *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* izolatlarının sadece hıyar kabak ve kavun bitkilerini hastalandırdığı (Lelliot ve Stead, 1987), karpuzda hastalığın ya hiç ya da çok az düzeyde ortaya çıktığı (Özaktan ve Bora, 1994) bilinmektedir. Bu denemede elde ettiğimiz veriler de bu bilgiyi desteklemektedir.

Koparılmış meyvelerde yapılan patojenite testine göre, kavundan elde edilen 14 izolatu *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* olduğu, hıyar ve kabaktan elde edilen 27 izolatu *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* olduğu belirlenmiştir. Sağlıklı kabakgil (hıyar, kabak, kavun ve karpuz) fideleri üzerinde, seçilen 10 izolatu, cam serada koşullarında yapılan patojenite testlerinde, izolatların tümü Borna F1 çeşidi hıyar fidelerini ve Miço F1 çeşidi kabak fidelerini hastalandırmıştır. Hıyar ve kabak bitkilerinin gerçek yapraklarında ıslak lekeler şeklinde haşlayan hastalık belirtileri on ikinci günde ortaya çıkarken, on beşinci günde etrafı sarı kahverengi lekeler dönüşmüştür. Lekeler genellikle yaprak

Adana’da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

kenarlarında oluşmuştur. Yaprak ayasında meydana gelen lekeler hızlıca ilerleyerek birkaç gün içinde yaprak ayasını kapladıkları gözlenmiştir. Kırkağaç tipi kavun çeşitleri olan Hermanos F1 ve Bravos F1 çeşitlerine ait fidelerin yapraklarında sadece kavundan elde edilen bakteriyel izolatlar hastalık oluşturmuştur. Kavun yapraklarında kahverengi lekeler meydana gelmiştir. İzolatların hiçbiri Karain F1 ve Sahra F1 çeşitlerine ait karpuz fidelerini hastalandırmamıştır. Pozitif kontrol olarak kullanılan YA-26 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* izolatı hıyar, kavun ve kabak fidelerini hastalandırmıştır. Negatif kontrol olarak su uygulanan bitkilerde herhangi bir leke tespit edilmemiştir. Farklı kabakgil türlerine ait fidelerde yapılan patojenite test sonuçlarına göre, kavundan elde edilen 4 izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* olduğu, hıyar ve kabaktan elde edilen 6 izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* olduğu belirlenmiştir.

Biyolojik Mücadele Çalışmaları Aday Antagonistlerin İzolasyonu

Hıyar Köşeli Yaprak Leke hastalığı etmeni *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’ın biyolojik mücadelesinde kullanılmak üzere yapılan aday antagonist izolasyonları sonucunda, kabakgil yetiştiriciliği yapılan topraktan 39 adet, kabakgil yeşil aksamından 27 adet, kabakgil meyvelerinden 24 adet ve kabakgil tohumlarından 44 adet olmak üzere toplam 134 adet aday antagonist izole edilmiştir. Ayrıca bakteriyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan 164 adet aday antagonist de çalışmaya dahil edilmiştir ve toplam 298 adet bakteri izolatı çalışmada aday antagonist olarak kullanılmıştır.

Aday Antagonistlerin Seçimi

Çalışmada kullanılan toplam 298 adet aday antagonist bakterinin 29 adeti *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’a karşı antibakteriyel etki göstererek besi yerinde patojenin gelişimini baskılamıştır. Petrielerde gelişen antagonist izolatların çapı ile çevresinde oluşan engelleme zonları mm olarak ölçülerek “Antagonistik İndeks Değerleri” hesaplandığında, 29 izolat 1.71-5.33 değeri arasında değişiklik göstermiştir. En yüksek antagonistik indeks değerleri 5.33 ile NÇ-YKI isimli antagonist bakteri izolatında olmuş ve tek bir istatistiksel grupta yer almıştır. OG1-9 kodlu antagonist de 4.08 indeks değeri ile ayrı bir grupta yer alan bir diğer başarılı antagonistik etki

gösteren izolat olmuştur. Bunu sırasıyla, 3.68 ve 3.66 indeks değeriyle ayrı istatistiksel grupta yer alan TOROS-6 ve NÇ-KK kodlu izolatlar takip etmiştir. NÇ-YKR 3.59, YL4-33.32 ve DK-SARI 3.23 antagonistik indeks değeri oluşturarak başarılı antagonistler arasında yer almışlardır. Etkili antagonistler olarak değerlendirilen 22 izolat ortalama 1.71- 2.78 arasında indeks değeri oluşturarak istatistiksel analiz sonucunda 16 farklı istatistiksel grupta yer almış ve patojeni baskılama yeteneğinde oldukları tespit edilmiştir (Çizelge 3.).

Antibakteriyel etkiye sahip 29 adet antagonist izolatın 18 adeti siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Antagonistlerin siderofor oluşturma indeks değerleri 1.13 ile 2.65 aralığında değişim göstermiştir. Değerlendirme sonucunda siderofor oluşturma yeteneği en etkili izolatlar sırasıyla 2.65 ile HA4 kodlu antagonist iken, bunu 2.59 ile LOG-6, 2.55 ile HA8, 2.52 ile YL4-3 ve 2.50 ile HA9 kodlu antagonistler izlemiştir.

Çizelge 3. Antagonist bakterilerin etki mekanizmaları

Antagonistler	Antibakteriyel Etki	Siderofor Üretme	IAA (µg/ml)	Fosfor Çözme
NÇ-YKI	5.33 ^a	1.87 ^{cd}	8.01 ^q	Negatif
OG1-9	4.08 ^b	1.87 ^{cd}	12.96 ^g	Negatif
TOROS 6	3.68 ^c	0.00 ^g	16.20 ^f	Negatif
NÇ-KK	3.66 ^c	0.00 ^g	26.30 ^d	Negatif
NÇ-YKR	3.59 ^{cd}	2.32 ^{ab}	10.46 ^j	Negatif
YL4-3	3.32 ^{dc}	2.52 ^a	7.50 ^s	Negatif
DK-SARI	3.23 ^d	2.40 ^{ab}	10.12 ^l	Negatif
KONYA5-1	2.78 ^f	0.00 ^g	11.25 ⁱ	Negatif
LOG6	2.77 ^f	2.59 ^a	6.76 ^u	Negatif
OG1-2	2.75 ^{fg}	1.95 ^c	170.50 ^a	Negatif
OG7-13	2.68 ^{gh}	2.11 ^{bc}	170.5 ^a	Negatif
TOROS5-1	2.65 ^{fi}	0.00 ^g	11.25 ⁱ	Negatif
AY10 M2	2.55 ^{ij}	2.26 ^{ab}	10.46 ^j	Negatif
HA8	2.48 ^{kl}	2.55 ^a	9.89 ^m	Negatif
TURUNÇ 2-6	2.46 ^{hij}	1.18 ^f	6.37 ^v	Negatif
HA1	2.38 ^{ijk}	0.00 ^g	9.04 ^o	Negatif
TOROS5-2	2.38 ^{ijk}	0.00 ^g	7.73 ^r	Negatif
OG7-7	2.27 ^{kl}	1.33 ^{ef}	170.50 ^a	Negatif
AZ106-2	2.15 ^{klm}	1.43 ^{ef}	73.88 ^c	Negatif
OG6-7	2.10 ^{klm}	0.00 ^g	9.89 ^m	Negatif
AD4-2	2.08 ^{lmn}	1.57 ^{de}	170.50 ^a	Negatif
HA9	2.01 ^{lo}	2.50 ^a	149.47 ^b	Negatif
OG8-8	1.99 ^{lo}	1.14 ^f	9.26 ⁿ	Negatif
MYAPRAK3	1.90 ^{m-p}	0.00 ^g	11.59 ^h	Negatif
HA3	1.88 ^{mp}	1.13 ^f	10.46 ^j	Negatif
X77	1.81 ^{nop}	0.00 ^g	16.49 ^c	Negatif
HA4	1.79 ^{op}	2.65 ^a	8.70 ^p	Negatif
OG1-10	1.78 ^{op}	0.00 ^g	7.16 ^t	Negatif
LÇ8	1.71 ^p	0.00 ^g	10.23 ^k	Negatif

Antibakteriyel etkiye sahip 29 adet antagonist izolatın 18 adetinin, bitki büyümesinde ve gelişmesinde oldukça önemli bir role sahip olan

Adana’da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmelerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

IAA üretim miktarlarının 6.37 ile 170.5 µg/ml aralığında değişim gösterdiği belirlenmiştir. IAA üretim değeri 170.5 µg/ml olan 4 adet antagonist bakteri (AD 4-2, OG 7-7, OG 1-2 ve OG 7-13 kodlu izolatlar) tespit edilmiştir. Bu değerleri 149.47 µ/ml yoğunlukla HA-9 isimli izolat, 73.88 µg/ml ile AZ10-6-2 isimli izolat ve 26.3 µg/ml ile NÇ-KK isimli izolat takip etmiştir.

Antibakteriyel etkiye sahip 29 adet antagonistin hiçbirisi tri-kalsiyum fosfat içeren PVK besisinde fosforu çözmeyi başaramamıştır.

In vivo Tohum Denemeleri

Birinci biyolojik tohum denemesinde, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ile suni olarak bulaştırılmış hıyar tohumlarına 15 adet antagonist bakteri (NÇ-KK, NÇ-YKI, NÇ-YKR, DK-SARI OG 7-13, OG 7-7, OG 1-2, OG 8-8, YL 4-3, AY10-M2, AZ10-6-2, AD4-2, X77, HA9 ve HA3 kodlu izolatlar) uygulandığında, tohumdaki patojen popülasyonunda azalma olduğundan Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının %20.78 - 78.39 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Negatif kontrol olarak sadece steril suyla muamele görmüş hıyar tohumlarından çimlenen fidelerin hiçbirinde herhangi bir hastalık gözlenmemiştir. Bu durum, denemede kullanılan hıyar tohumlarının herhangi bir patojenle bulaşık olmadığını göstermektedir.

Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ile bulaşık hıyar tohumlarından gelişen fidelerin yaklaşık %53’ünde hastalık belirlenmiştir (Çizelge 4.). Kotiledon yapraklarda su emmiş lekeler ortaya çıkmış ve üç gün içinde bu belirtiler kahverengi etrafı sarı haleyle çevrili lekelerle dönmüştür. İlerleyen dönemlerde, özellikle nem varlığında beşinci günden sonra fidelerde ölümler meydana gelmiştir.

Çizelge 4. Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığına Biyolojik Tohum Uygulamalarının Etkisi (Birinci Deneme)

Antagonist	Hastalık Oranı (%)	Etki (%)	Hastalık Şiddeti (Skala değeri ort.)	Etki (%)
Pozitif Kontrol	52.88 ^{ab}	-	1.05 ^a	-
HA3	55.84 ^a	-5.6	0.96 ^a	7.95
AZ10-6-2	50.72 ^b	4.08	0.88 ^{ab}	15.48
HA9	50.62 ^b	4.27	0.95 ^a	8.57
NÇ-YK-R	41.89 ^c	20.78	0.72 ^{bc}	30.89
OG 7-13	41.6 ^c	21.33	0.58 ^{cd}	44.35
NÇ-YK-I	38.82 ^{cd}	26.59	0.68 ^{bc}	34.87

DK-SARI	35.71 ^{de}	32.47	0.59 ^{cd}	43.74
YL4-3	32.65 ^e	38.26	0.46 ^{de}	56.20
OG 1-2	27.78 ^f	47.47	0.31 ^{efg}	70.06
X-77	27.23 ^f	48.51	0.37 ^{defg}	72.61
OG 8-8	25.08 ^{fg}	52.57	0.38 ^{defg}	63.98
AY10M2	23.81 ^{fg}	54.97	0.40 ^{def}	61.42
AD 4-2	21.41 ^g	59.51	0.23 ^{fg}	78.26
OG 7-7	14.73 ^h	72.14	0.29 ^{efg}	72.61
NÇ-KK	11.43 ^h	78.39	0.16 ^g	64.21

*: farklı harfi içeren ortalamalar LSD testine (%5 önem düzeyinde) göre istatistiksel olarak farklıdır.

Çizelge 4’te görüldüğü gibi, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, üç biyolojik tohum uygulaması (HA3, AZ10-6-2 ve HA9 kodlu izolatlar) pozitif kontrolle aynı grupta yer alan başarısız uygulamalar olarak belirlenmiştir. Geriye kalan 12 biyolojik tohum uygulaması (NÇ-KK, OG 7-7, AD 4-2, AY10M2, OG 8-8, X-77, OG 1-2, YL4-3, DK-SARI, NÇ-YK-I, OG 7-13 ve NÇ-YK-R) pozitif kontrolden farklı bir istatistiki grupta yer aldığından hastalığı baskılayan başarılı tohum uygulamaları olarak saptanmıştır. Bu etkili antagonistler hastalığı de %20.78-78.39 oranında baskılayan, hastalık şiddetindeki azalışın %30.89-78.26 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Başarılı olan 12 biyolojik tohum uygulaması içerisinde, en etkili olanların NÇ-KK ve OG 7-7 kodlu antagonist bakterilerin yer aldığı uygulamalar olduğu tespit edilmiştir. NÇ-KK, %78 ve OG 7-7, %72 oranında hastalığı baskılayan hastalık şiddetini de sırasıyla %64 ve %73 oranında azaltmıştır.

Diğer başarılı tohum uygulaması olan AD 4-2, AY10M2, OG 8-8, X-77 ve OG 1-2 kodlu antagonistlerin kullanıldığı parsellerde, hastalık %47-60 oranında azalırken hastalık şiddetindeki azalışın %70-78 arasında olduğu saptanmıştır. İstatistiksel olarak etkili bulunan diğer uygulamalarda (YL4-3, DK-SARI, NÇ-YK-I, OG 7-13 ve NÇ-YK-R) hastalık %21-38 oranında baskılanırken hastalık şiddetindeki azalış %31-56 düzeyinde olmuştur. İkinci bir tohum denemesi kurmak için seçilen antagonistler öncelikle ilk tohum denemesi sonuçları göz önünde bulundurularak değerlendirilmiş ve istatistiki olarak en başarılı sonuç veren iki antagonist uygulaması NÇ-KK ve OG 7-7 seçilmiştir. İki uygulama sayıca yetersiz görüldüğü için diğer uygulamalar içerisinde antimikrobiyal etki, IAA üretme yeteneği ve siderofor üretme yeteneği de göz önünde bulundurularak üç antagonist (X77, AD 4-2 ve OG 1-2) daha seçilmiştir. Toplam 5 adet antagonist bakteri ile ikinci biyolojik tohum denemesi basamağına geçilmiştir. Tohum

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

denemelerinde kullanılmak üzere seçilen 5 adet (NÇ-KK, AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7 ve X-77 kodlu izolatlar) antagonist bakterinin ikili kombinasyonlarının da denemelere dahil edilmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple antagonist bakterilerin birbirleriyle etkileşimlerini belirlemek için ikili kültür petri denemelerine başvurulmuş ve ikili kültür petri denemelerinde birbirlerine karşı engelleme zonu oluşturan antagonist bakteri çiftlerinin etkileşimleri pozitif olarak değerlendirilmiştir. Beş adet antagonist bakterinin yalnızca bir çiftinin birbirleriyle etkileşime girmedikleri (OG 1-2 VE OG 7-7) ve tohum denemelerinde kullanılabileceği anlaşılmıştır.

İkinci deneme; ilk deneme ve antagonistlerin etki mekanizmaları göz önünde bulundurularak seçilen 5 adet antagonist (NÇ-KK, AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7 ve X-77) ve 1 adet kombinasyon (OG 1-2 ve OG 7-7) ile kurulmuştur Hastalığın %11-19 aralığında azaldığı tespit edilmiştir. Negatif kontrol olarak yalnızca steril suya daldırılmış hıyar tohumlarından çimlenen fidelerin hiçbirinde herhangi bir hastalık belirtisine rastlanmamıştır. Pozitif kontrol olarak *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ile bulaşık hıyar tohumlarından gelişen fidelerin %100'ünde hastalık varlığı tespit edilmiştir. Çizelge 5'te görüldüğü gibi istatistiksel olarak değerlendirildiğinde tüm antagonist uygulamaları pozitif kontrolden farklı grupta yer almış ve başarılı uygulamalar olarak değerlendirilmiştir. Hastalık şiddetini %20.45-40.52 aralığında azalttıkları belirlenmiştir.

Çizelge 5. Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığına Biyolojik Tohum Uygulamalarının Etkisi (İkinci Deneme)

Antagonist	Hastalık Oranı (%)	Etki(%)	Skala değeri ort.	Etki(%)
Pozitif Kontrol	100.00 ^a	-	2.69 ^a	
NÇ-KK	88.87 ^b	11.13	1.60 ^c	40.52
OG 1-2	88.00 ^{bc}	12.00	1.67 ^c	37.92
AD 4-2	87.55 ^{bc}	12.45	2.14 ^b	20.45
X-77	84.64 ^{bc}	15.36	1.74 ^c	35.32
OG 1-2 ve OG 7-7	81.99 ^{bc}	18.01	1.68 ^c	37.55
OG 7-7	80.78 ^c	19.22	1.80 ^c	33.09

*: farklı harfi içeren ortalamalar LSD testine (%5 önem düzeyinde) göre istatistiksel olarak farklıdır.

Her iki deneme için de OG 7-7 en başarılı tohum uygulaması olarak kaydedilmiştir ve ikinci uygulamada hastalığı %19 oranında engellerken

hastalık şiddetindeki azalışın %33 olduğu tespit edilmiştir.

Uygulamalar içinden 4 tanesi aynı istatistiki grupta yer alarak hastalığı sırasıyla OG 1-2 %12, AD 4-2 %12.45, X77 %15.36 ve Kombinasyon %18 oranında engellemiş ve hastalık şiddetinde ise %20-38 arasında bir azalışa neden olduğu belirlenmiştir. İlk denemede de en başarılı uygulamalardan biri olan NÇ-KK izolatu hastalık şiddetindeki azalışın en yüksek olduğu uygulama olmuş, %41 oranında hastalık şiddetini azaltırken, hastalık oranında %11'lik bir etki göstermiş ve istatistiki olarak başarılı bir uygulama olarak değerlendirilmiştir.

Başarılı Antagonistlerin Tohum Çimlenmesine Etkisi

Tohum denemeleri sonucunda *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın neden olduğu Hıyar Köşeli Yaprak Leke hastalığını başarılı bir şekilde baskılayan antagonist bakterilerin tohum çimlenmesine etkisi araştırıldığında, tüm antagonist bakteri uygulamalarının (OG 1-2, NÇ-KK, OG 7-7, AD 4-2 Kombinasyon ve X77) kontrolle aynı grupta yer aldığı ve istatistiksel olarak önemli bir azalışa neden olmadığı sonucuna varılmıştır (Çizelge 6).

Çizelge 6. Başarılı Antagonistlerin Tohum Çimlenmesine Etkisi

Antagonist	Ekilen Tohum Sayısı	Çimlenen Tohum Sayısı	Çimlenme Oranı (%)	Değişim
Kontrol (saf su)	75	75	100.00 ^a	-
OG 1-2	75	75	100.00 ^a	-
NÇ-KK	75	73	97.33 ^a	2.67
OG 7-7	75	73	97.33 ^a	2.67
AD 4-2	75	72	96.00 ^a	4.00
OG 1-2 ve OG 7-7	75	72	96.00 ^a	4.00
X77	75	71	96.67 ^a	5.33

*: farklı harfi içeren ortalamalar LSD testine (%5 önem düzeyinde) göre istatistiksel olarak farklıdır.

Başarılı Antagonistlerin Tanısı

Başarılı antagonist bakterilerin tanılanma aşamasında tütünde aşırı duyarlılık reaksiyonu, patateste pektolitik enzim aktivitesi, 36 °C'de gelişim ve MALDI-TOF MS yöntemlerine başvurulmuştur.

Tohum denemelerinde kullanılan 5 adet antagonist bakteri (AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7, NÇ-KK ve X77) için tütünde aşırı duyarlılık

Adana’da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmelerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

reaksiyonu testi yapılmış ve tüm antagonist bakteri izolatları negatif sonuç vermiştir. Ardından bu beş izolat patatesta pektolitik enzim aktivitesi testine tabii tutulmuş ve yine tüm antagonist bakteriler patatesta herhangi bir yumuşama/çürümeye neden olmaksızın negatif sonuç vererek nişastayı parçalama yeteneklerinin olmadığı anlaşılmıştır. Antagonist bakterilerin insan patojeni olma riskinin varlığını kanıtlamak için yapılan 36 °C’de gelişim testlerinde ise antagonist bakterilerden hiçbirinin 36 °C’de gelişmediği gözlemlenmiştir. Laboratuvar testlerinin ardından MALDI-TOF MS ile yapılan tanı sonucunda NÇ-KK kodlu izolatın 1.825 indeks değeri ile *Enterococcus casseliflavus*, AD 4-2 kodlu izolatın 1.882 indeks değeri ile *Bacillus mojavensis*, OG 1-2 kodlu izolatın 2,133 indeks değeri ile *Bacillus pumilus*, OG 7-7 kodlu izolatın 2.386 indeks değeri ile *Providencia rettgeri* ve X77 kodlu izolatın 2.190 indeks değeri ile *Bacillus amyloliqofasciens* olduğu tanılanmıştır. Bu antagonistlerin farklı izolatlarının hem bakteriyel hem de fungal hastalıklara karşı başarılı olduğunu gösteren farklı çalışmalarda bulunmaktadır (Güldoğan ve ark., 2022; Tümen ve ark., 2022; Aktepe ve Aysan, 2023; Yıldız ve ark., 2023).

Tartışma

Çukurova Bölgesindeki kabakgil üretim alanlarından ve tohumların yüzeyinden izole edilen yerel antagonistlerle (toplam 298 adet) yapılan biyolojik tohum uygulamaları sonucunda *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’ın neden olduğu Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığı %21-78 oranında baskılanırken hastalık şiddetinde %31-78 oranında bir azalış saptanmıştır. En başarılı 5 antagonistle yapılan ikinci bir denemede bu antagonistlerin başarısı bir kez daha teyit edilmiştir. Bu başarılı antagonistler *Bacillus amyloliqofasciens*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus pumilus*, *Enterococcus casseliflavus* ve *Providencia rettgeri* olarak tanılanmıştır.

Biyolojik tohum uygulamasında kullandığımız bu dost mikroorganizmaların antimikrobiyal madde ve siderefor üreterek patojeni baskı altına aldığı, ayrıca büyüme hormonu olan IAA üreterek bitkide sağlıklı büyümeyi teşvik ettiği belirlenmiştir. Genel olarak antagonist bakterilerin bu yeteneklerinin yanında topraktaki fosforu çözerek ve azotu fikse ederek bitkinin topraktan besin elementi alımını arttırdığı bilinmektedir. Bunlara ek olarak bitkiyi tuzluluk,

kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerinden de koruma yetenekleri bulunmaktadır (Mercado-Blanco ve Lugtenberg, 2014; Olur, 2020). Dost mikroorganizmaların tüm özellikleri göz önünde bulundurulduğunda hastalıkları baskılarken aynı zamanda bir biyogübre görevi üstlendikleri söylenebilir. Özellikle *Bacillus* cinsine ait faydalı bakterilerin bu konuda oldukça başarılı oldukları bilinir. Benzer şekilde *Bacillus amyloliqofasciens* hem biyolojik gübre olarak etki gösterirken hem de bitki hastalıklarıyla mücadelede başarılı bir antagonist olarak bilinmektedir (Chowdhury ve ark., 2015; Luo ve ark., 2022). Bu çalışmada kullanılan *Bacillus amyloliqofasciens*,(X-77 kodlu antagonist izolat) yalnızca Hıyar Köşeli Yaprak Leke hastalığını baskı altına almakla kalmamıştır, bunun yanı sıra mısırdaki *Dickeya zae* (Samson ve ark., 2005)’nin neden olduğu Bakteriyel Gövde Çürüklüğü Hastalığını baskılamada da oldukça başarılı sonuçlar vermiştir (Keser ve ark., 2023). *Bacillus mojavensis*’in (AD 4-2 izolatı), *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*’ın neden olduğu Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının tohum enfeksiyonunu başarılı bir şekilde baskıladığı tespit edilmiştir. Bu antagonistin farklı izolatlarının hem bakteriyel hem de fungal hastalıklara karşı başarılı olduğunu gösteren farklı çalışmalar bulunmaktadır. Elmada *Erwinia amylovora*’nın neden olduğu Ateş Yanıklığı Hastalığının (Aktepe ve Aysan, 2023), domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*’nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığının (Yıldız ve ark., 2023), kabakgil bitkilerinde fungal kökenli Antraknoz Hastalığının, (Neher ve ark., 2009), mısır ve diğer bazı bitkilerdeki fungal hastalıkların biyolojik mücadelesinde patentli olarak etkili bir şekilde kullanıldığı belirtilmektedir (Bacon ve ark., 2005).

Bu hastalığı azaltmada etkili olan bir diğer antagonist bakteri *Bacillus pumilus* (OG 1-2 kodlu izolat) olmuştur. Bu antagonistin yine domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*’nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığına karşı başarılı olduğunu gösteren laboratuvar çalışmalarımız mevcuttur (Güldoğan ve ark., 2022). Ayrıca, *Bacillus pumilus*’un farklı izolatlarının kabakgillerde görülen Külleme Hastalığı’nın (*Podosphaera xanthii*) biyolojik mücadelesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Ni ve Punja, 2021).

Providencia rettgeri’nin (OG7-7 kodlu izolat) Hıyar Köşeli Yaprak Leke hastalığının

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

tohumlardaki enfeksiyonunu baskılamadaki başarısı bu çalışma çerçevesinde kanıtlamıştır. Başka bir çalışmada ise yine hıyar fidelerinde köklenmeyi artırmak için özellikle köklerde kolonize olan PGPR bakterileri olarak başarıyla kullanılmıştır. Bunun yanında Entomopatojen özelliği bilinen *Providencia rettgeri*, antagonist böceklerin mikrobiyal mücadelesinde de kullanılmaktadır. Yerfıstığında bitkiyi tuzluluk stresine dayanıklı hale getirebilmek için yine *Providencia rettgeri*'den yararlanılmış, bu antagonistin fosforu çözmeye yeteneği ön plana çıkmıştır (Jiang ve ark., 2019). Bunların yanında *Providencia rettgeri*'nin Çin'de Calla zambağında Yumuşak Çürüklüğe neden olan bir patojen olduğu rapor edilmiştir. Bu çalışmada elde ettiğimiz *Providencia rettgeri* izolatu patateslere uygulandığında herhangi bir çürüklük yapmamıştır. Bu da elde ettiğimiz izolatu patojen bakteri izolatu olmadığını göstermektedir.

Entomopatojen bakterilerden olan *Enterococcus casseliflavus*'un (NÇ-KK kodlu izolat) da daha önce depolanmış ürün zararlıları (Channaiah ve ark. 2010) ve lepidopterlerden (Vilanova ve ark. 2016) izole edildiği ve *Enterococcus casseliflavus* Ta12 izolatu'nun *Tuta absoluta* larvalarına karşı etkili bir entomopatojen olduğu rapor edilmiştir (Eski ve ark., 2024).

Sonuç olarak, biyolojik mücadele stratejileri, çevresel sürdürülebilirlik açısından önemli avantajlar sunarak hem insan sağlığına zarar vermeyen hem de tarımsal uygulamaların uzun vadede sürdürülebilirliğini sağlayan bir yöntemdir. Bu yaklaşımlar, doğal ekosistemlerin korunmasına katkıda bulunur, biyoçeşitliliği teşvik eder ve toprak verimliliğini artırır. Bu faydalar, biyolojik mücadele uygulamalarının yaygınlaştırılması ve desteklenmesi için güçlü bir gerekçe oluşturur. Bu nedenle, tarımsal uygulamalarda biyolojik mücadele tekniklerini yaygınlaştırmak amacıyla daha fazla eğitim, araştırma ve politika desteği gibi çeşitli önlemler alınmalıdır. Çalışma sonucunda, başarılı izolatların çeşitli etki mekanizmaları sayesinde güçlü antibakteriyel etki göstermesi, kimyasal mücadele yöntemlerinde sıklıkla karşılaşılan direnç geliştirme sorununa potansiyel bir çözüm sunmaktadır. Bu izolatların hem in vitro hem de in vivo koşullarda patojenlere karşı yüksek antibakteriyel potansiyel sergilemesi, bu biyolojik mücadele elemanlarının biyopreparat formülasyonları şeklinde geliştirilip farklı hastalıklara karşı entegre mücadele

programlarında kullanılabileceği önerisini desteklemektedir. Bu yaklaşım, tarımsal üretimde sürdürülebilirlik ve kimyasallara karşı patojen bakterinin dirençli popülasyonlarının yönetimi açısından önemli bir adım olabilir.

Sonuç

Bu çalışma çerçevesinde Adana'da ticari olarak kabakgil fide üretiminin yapıldığı tesislere ziyaretler gerçekleştirilmiş ve hasta bitkiler toplanarak patojen bakteri izolasyonları yapılmıştır. Yapılan izolasyonlar sonucunda 82 adet hasta hıyar, kabak ve kavunda *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin varlığı tespit edilmiştir. İzolasyonlar, hıyar ve kabak bitkilerinde *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın, kavun bitkilerinde ise *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin en yaygın patojen türü olduğunu, yeni patojenik türlerin Adana'daki ticari fideliklerde bulunmadığını kanıtlar nitelikte olmuştur.

Farklı konukçularda yapılan patojenite testlerinde *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* hıyar ve kabakta hastalık oluştururken *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin kavun, hıyar ve kabakta hastalığa neden olduğu görülmüştür. *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ve *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*'nin ayırımında limon, kavun /hıyar veya limon, kavun/kabak bitkilerinin kullanımının daha doğru sonuçlar vereceği kanaatine varılmıştır. Bu bağlamda, hıyar ve kabak bitkilerinde baskın olarak bulunan *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'ın neden olduğu Hıyar Köşeli Yaprak Leke hastalığının biyolojik mücadelesi kapsamında kabakgil familyasına ait bitkilerin doğal florasından, yetiştirildiği topraklardan, tohumlarından ve meyvelerinden örnekler alınarak aday antagonist bakteri izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Toplam 298 adet aday antagonist bakterinin, patojen bakteri *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*'a karşı antibakteriyel etkileri araştırılmış ve 29 adet antagonist bakteri inhibisyon zonu oluşturarak patojen bakteriyi *in vitro* koşullarda engellediği tespit edilmiştir. Başarılı antagonistlerin etki mekanizmaları IAA üretme, siderofor oluşturma ve fosfatı çözmeye yeteneklerine göre incelendiğinde, 18 adet antagonist bakterinin siderofor oluşturma yeteneğinin olduğu, tüm antagonist bakterilerin farklı düzeyde IAA üretme yeteneğinin olduğu ve hiçbir antagonist bakterinin

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

fosforu çözme yeteneğinin olmadığı tespit edilmiştir. Tüm bu etki mekanizmaları göz önünde bulundurularak, biyolojik tohum uygulamaları için 15 adet (NÇ-KK, NÇ-YKI, NÇ-YKR, DK-SARI OG 7-13, OG 7-7, OG 1-2, OG 8-8, YL 4-3, AY10-M2, AZ10-6-2, AD4-2, X77, HA9 ve HA3 kodlu izolatlar) antagonist bakteri seçilmiş ve iklim odası koşullarında tohum denemeleri kurulmuştur. Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının biyolojik mücadelesi için kurulan birinci tohum denemesinde hastalık %21-78 oranında baskılanırken, hastalık şiddetindeki azalış %31-78 aralığında olmuştur. Birinci denemede başarılı bulunan 5 antagonist bakteri ve bunların bir çiftinin kombinasyonu (NÇ-KK, AD 4-2, OG 1-2, OG 7-7, X-77 ve OG 7-7 ve OG 1-2'nin kombinasyonu) kurulan ikinci denemede ise tüm uygulamalar pozitif kontrolden farklı istatistiki grupta yer alarak yine başarılı uygulamalar olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır. Ayrıca antagonist bakterilerin tohum çimlenmesine herhangi bir olumsuz etkisinin de olmadığı tespit edilmiştir. Başarılı antagonistlerden, NÇ-KK kodlu izolat *Enterococcus casseliflavus*, AD 4-2 kodlu izolat *Bacillus mojavensis*, OG 1-2 kodlu izolat *Bacillus pumilus*, OG 7-7 kodlu izolat *Providencia rettgeri* ve X77 kodlu izolat *Bacillus amyloliquofasciens* olarak tanımlanmıştır.

Bitki hastalıklarıyla mücadele kapsamında kimyasal mücadeleye alternatif mücadele yöntemleri geliştirmek insan ve çevre sağlığı için oldukça büyük bir önem teşkil etmektedir. Kimyasal mücadele, kısa vadede kolay sonuç veren bir yöntem olarak görülse de uzun vadede zararları yararlarından çok daha fazladır. Kimyasalların ürünlerdeki kalıntı riski, patojenin bu kimyasallara direnç kazanması, toprak ve su kirliliğine sebep olması, uzun vadede sürdürülebilir olmaması, geniş spektrumlu kimyasalların hedef dışı canlılara olumsuz etkisi ve her şeyden önce insan sağlığına olan etkileri değerlendirildiğinde pek çok yan etki kullanımı sınırlayan faktörler olarak sayılabilir. Yalnızca bu sebepler bile hem dünyada hem de ülkemizde, tarımda tek başına kimyasallarla yapılan mücadele yöntemlerinden uzaklaşıp daha sürdürülebilir, entegre ve doğaya dost mücadele yöntemlerinin arayışına sebep olmaktadır. Bu bağlamda antagonist bakteriler, faydalı funguslar ve dost mayalar biyolojik mücadelenin en büyük silahları olarak görülebilir. Bu mikroorganizmalar bitkileri hastalıklara karşı dirençli hale getirmenin

yanı sıra, biyolojik çeşitliliği koruyarak doğal dengeye katkı sağlamak, bitkilerin topraktan besin elementi alımını kolaylaştırmak ve bitkiyi tuzluluk, kuraklık gibi abiyotik stres faktörlerinden korumak için de oldukça büyük önem arz etmektedir. Kabakgillerdeki bu bakteriyel hastalığın biyolojik mücadelesinde, antagonist bakteriler tohum uygulaması olarak kullanıldığında, oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak en son nokta bu antagonistlerin kitle üretimlerinin yapılarak fide ve tohum üreticilerinin kullanımına sunulmasıdır. Bu bağlamda antagonistlerin toplu üretimleri, üretici koşullarında (fideliklerde, serada ve açık alanda) etkilerinin belirlenmesi ve hedef dışı canlılara olan etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır. Ayrıca kabakgil üretim alanında bu başarılı antagonistlerin bakteriyel etmenlerden *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* ve fungal etmenlerden *Pseudoperonospora cubensis*'in mücadelesinde kullanım olanaklarının da araştırılması faydalı olacaktır. Bu araştırma, gelecekte yapılacak olan diğer çalışmalara basamak olması ve ışık tutabilecek olması nedeniyle oldukça önemlidir.

Teşekkür

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine FYL-2023-15812 nolu projeye verdiği maddi desteğinden dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Aksoy, H. M. (2006). Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* [(Smith and Bryan) Young, Dye and Wilkie] at Bafra province greenhouses. *Plant Pathology Journal* 5(1): 80-82.
- Aktepe, B. P., Aysan, Y. (2023). Biological control of fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* on apple. *Erwerbs-Obstbau*, 65(4): 645-654.
- Aysan Yiğenoğlu, Y. (1999) Domates bakteriyel kara leke hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) tanımlanması, ırklarının belirlenmesi ve kimyasal savaşıma alternatif yöntemlerin saptanması üzerinde araştırmalar, Doktora tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 122 s.
- Aysan, Y., Cetinkaya-Yildiz, R., Mirik, M., Kusek, M., and Sahin, F. (2006) Bacterial soft rot disease on various hosts in Turkey. 12th Congress of Mediterranean

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

- Phytopathological Union, June 11-15, 2006, Rhodes Island, Greece. 127-129.
- Aysan, Y., Mirik, M., Ala, A., Sahin, F., and Cinar, O. (2003) First report of *Pseudomonas viridiflava* on melon in Turkey. *Plant Pathology* 52(6): 800.
- Bacon, C. W., Hinton, D. M. and Hinton Jr, A. 2005. Growth-inhibiting effects of concentrations of fusaric acid on the growth of *Bacillus mojavensis* and other biocontrol *Bacillus* species. *Journal Applied Microbiology*, 100(1): 185-94.
- Bashan, Y., Okon, Y., and Henis, Y. (1978) Infection studies of *Pseudomonas tomato*, causal agent of bacterial speck of tomato. *Phytoparasitica* 6: 135-143.
- Baysal, Ö., Soylu, E.M., and Soylu, S. (2003). Induction of defence related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-s-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Plant Pathology*, 52: 747-753.
- Bozkurt, İ.A., Soylu, S., Kara, M., and Soylu, E.M. (2020). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils isolated from medicinal plants against gall forming plant pathogenic bacterial disease agents. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23: 1474-1482.
- Bozkurt, İ.A., ve Soylu S. (2019). Elma kök uru hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*'e karşı epifit ve endofit bakteri izolatlarının antagonistik potansiyellerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16: 348-361.
- Channaiah, L. H., Subramanyam, B., McKinney, L. J., and Zurek, L., 2010. Stored-product insects carry antibiotic-resistant and potentially virulent enterococci. *FEMS Microbiology Ecology*, 74(2): 464-471.
- Chowdhury, S. P., Hartmann, A., Gao, X., and Borriss, R., 2015. Biocontrol mechanism by root-associated *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42—a review. *Frontiers in Microbiology*, 6.
- Demir, G. (1996) A new bacterial disease of watermelon in Türkiye: bacterial fruit blotch of watermelon (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (Schaad et al.) Willems et al.). *Journal of Turkish Phytopathology* 25: 43-49.
- Dillon, M. M., Ruiz-Bedoya, T., Bundalovic-Torma, C., Guttman, K. M., Kwak, H., Middleton, M. A., Guttman, D. S., Wang, P. W., Horuz, S., Aysan, Y. (2021). Comparative genomic insights into the epidemiology and virulence of plant pathogenic pseudomonads from Turkey. *Microbial Genomics* 7(7), <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000585>
- Doksöz, F. S., and Bozkurt, I. A. (2022). Biological control of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* causing the olive knot disease with epiphytic and endophytic bacteria. *Journal of Plant Pathology* 104(1): 65-78.
- Duman, K., and Soylu, S. (2019). Characterization of plant growth-promoting traits and antagonistic potentials of endophytic bacteria from bean plants against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Bitki Koruma Bülteni*, 59, 59-69.
- EPPO (2004). Outdoor Cucurbits. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 34: 101–108.
- Eski, A., Erdoğan, P., Demirbağ, Z., and Demir, İ., 2024. Isolation and identification of bacteria from the invasive pest *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and evaluation of their biocontrol potential. *International Microbiology*, 27(2): 631-643.
- Glick, B. R. (1995) The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41(2): 109-117.
- Güldoğan, Ö., Aktepe, B. P., Aysan, Y. (2022). Domates bakteriyel benek hastalığının biyolojik mücadelesinde farklı *Bacillus* türlerinin kullanımı. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(4): 829-839.
- Horuz, S., and Aysan Y. (2023) Biocontrol of cucurbit bacterial diseases, In: *Microbial Biocontrol: Molecular Perspective in Plant Disease Management*, 49: 205-215. Singapore: Springer Nature Singapore.
- Horuz, S., ve Aysan Y., (2018) *Curtobacterium*, *Microbacterium* ve *Pseudomonas* cinslerinden antagonistik bakteriler kullanılarak *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu karpuz fide yanıklığının biyolojik kontrolü. *Bitki Koruma Bilimi*, 54(3): 138-146.

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

- Jiang, C. H., Wu, F., Yu, Z. Y., Xie, P., Ke, H. J., Li, H. W., and Guo, J. H. (2015) Study on screening and antagonistic mechanisms of *Bacillus amyloliquefaciens* 54 against bacterial fruit blotch (BFB) caused by *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Microbiological Research* 170: 95-104.
- Jiang, H., Qi, P., Wang, T., Chi, X., Wang, M., Chen, M., Chen, N., and Pan, L., 2019. Role of halotolerant phosphate-solubilising bacteria on growth promotion of peanut (*Arachis hypogaea*) under saline soil. *Annals of Applied Biology*, 174(1): 20-30.
- Karaca, I., and Demir, G. (1988). Investigations on seed-borne bacterial pathogens in some plants. *Doğa, Türk Tarım ve Ormanlık Dergisi* 12(2): 120-131.
- Karman, M. (1971) Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler Denemelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. T. C Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, *Mesleki Kitaplar Serisi* İzmir, 279s.
- Keser, M., Yıldız, R. C., ve Aysan, Y., 2023. Adana ve Osmaniye illerinde yetiştirilen mısır bitkilerinde bakteriyel gövde çürüklüğü hastalığının saptanması ve biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(3): 667-682.
- Kumar, K., Amaresan, N., Jayakumar, V., and Thajuddin, N. (2012) Endophytic bacteria from tomato and chilli, their diversity and antagonistic potential against *Ralstonia solanacearum*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 45(3): 344-355.
- Lebeda, A., Widrechner, M., Widrechner, M. P., Staub, J., Ezura, H., Zalapa, J., and Kristkova, E. (2007) Cucurbits (Cucurbitaceae; *Cucumis* spp., *Cucurbita* spp., *Citrullus* spp.). In: Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement. Iowa State University. 272-344.
- Lelliott, R. A., and Stead, D. E (1987) Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 216s.
- Luo, L., Zhao, C., Wang, E., Raza, A., and Yin, C., 2022. *Bacillus amyloliquefaciens* as an excellent agent for biofertilizer and biocontrol in agriculture: An overview for its mechanisms. *Microbiological Research*, 259.
- Mengulluoglu, M., and Soylu S. (2012). Antibacterial activities of essential oils from several medicinal plants against the seed-borne bacterial disease agent *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Research on Crops*, 13: 641-646.
- Mercado-Blanco, J., and Lugtenberg, J. J. B., 2014. Biotechnological applications of bacterial endophytes. *Current Biotechnology*, 3(1): 60-75.
- Mitchell, R. E., (1992) Metabolites from *pseudomonas* that inhibit the growth of *Erwinia amylovora*. In: VI International Workshop on Fire Blight 338: (pp. 219-222).
- Mortensen, C. N., and Fatmi, M. (2017) Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in Cucumber Seeds. In: Detection of Plant-Pathogenic Bacteria in Seed and Other Planting Material, Second Edition. *The American Phytopathological Society* 189-193.
- Neher, O. T., Johnston, M. R., Zidack, N. K., and Jacobsen, B. J., 2009. Evaluation of *Bacillus mycoides* isolate BmJ and *B. mojavensis* isolate 203-7 for the control of anthracnose of cucurbits caused by *Glomerella cingulata* var. *orbiculare*. *Biological Control*, 48(2): 140-146.
- Ni, L., and Punja, Z. K., 2021. Management of powdery mildew on greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants using biological and chemical approaches. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 43(1): 35-42.
- Olur, Ü., 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, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van, 88s.
- Ozaktan, H., and Bora, T. (1994) Investigations on the comparison of in-vitro and in-vivo reaction tests for the determination of susceptibility of some cucurbits to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. *Journal of Turkish Phytopathology* 23(3): 105-111.

Adana'da Ticari Fideliklerde Sorun Olan Kabakgil Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu ve Hıyar Köşeli Yaprak Leke Hastalığının Biyolojik Mücadelesi

- Ozdemir, Z. (2021) Identification of Enterobacteriaceae members and fluorescent pseudomonads associated with bacterial rind necrosis and rot of melon in Turkey. *European Journal of Plant Pathology* 160(4): 797-812.
- Paris, H. S. (2001) History of the cultivar-groups of *Cucurbita pepo*. *Horticultural Reviews-Westport Then New York*, 25: 71-170.
- Pavlovic, M., Konrad, R., Iwobi, A. N., Sing, A., Busch, U., and Huber, I. (2012) A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters* 328(1): 46-53.
- Samson, R., Legendre, J. B., Christen, R., Fischer-Le Saux, M., Achouak, W., Gardan, L., 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiacato* the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary*. 55(4): 1415-1427.
- Schwyn, B., and Neilands, J. B. (1987) Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry* 160(1): 47-56.
- Sezonov, G., Joseleau-Petit, D., and d'Ari, R. (2007) *Escherichia coli* physiology in Luria-Bertani broth. *Journal of Bacteriology* 189(23): 8746-8749.
- Soylu, E. M., Soylu, S., Kara, M., ve 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.
- Soylu, S., Evrendilek, G.A., and Soylu, E.M. (2009). Chemical compositions and antibacterial activities of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*) and dill (*Anethum graveolens* L.) essential oils against the growth of food-borne and seed-borne plant pathogenic bacteria. *Italian Journal of Food Science*, 21: 347-355.
- Soylu, S., Kara, M., Gümüş, Y., and Soylu, E.M. (2024). Isolation and identification of *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum*, cotton bacterial blight disease agent and determination of the antibacterial activity of various plant essential oils. *Harran Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 28: 180-191
- Şahin, B., Aydın, R., Soylu, S., Türkmen, M., Kara, M., Akkaya, A., Çetin, H., and Ayyıldız, E. (2022). The effect of *Thymus syriacus* plant extract on the main physical and antibacterial activities of ZnO nanoparticles synthesized by SILAR Method. *Inorganic Chemistry Communications*, 135: 109088.
- Tümen, B., Aktepe, B. P., Aysan, Y. (2022). Tohumaya uygulanan bakteriyel antagonistlerin biberde bakteriyel leke hastalığına etkisi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 37(2): 211-220.
- Türküsay, H. (1998) Batı Anadolu'nun bazı illerinde Hıyar Köşeli Leke Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* ((Smith and Bryan) Young, Dye And Wilkie) oranı ve hıyar çeşitlerinin hastalığa reaksiyonları üzerinde araştırmalar. *Doktora Tezi*, Ege Üniversitesi, İzmir, 101s.
- Vilanova C, Baixeras J, Latorre A, Porcar M., 2016. The generalist inside the specialist: gut bacterial communities of two insect species feeding on toxic plants are dominated by *Enterococcus* sp. *Front Microbiol*, 7: 1005.
- Xu, Z., Chang, L., Xu, Z., and Chang, L. (2017) Cucurbitaceae. In: *Identification and Control of Common Weeds: Volume 3*, Springer, Singapur, 417-432.
- Yildiz, H. N., Altinok, H. H., Dikilitas, M., Günacti, H., and Ay, T. (2023). Suppression of tomato bacterial speck disease (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye, & Wilkie) via induced systemic resistance by *Pseudomonas* and *Bacillus* strains. *Botany*, 101(9), 391-399.