




**Domates Bakteriyel Benek Hastalığının Biyolojik Mücadelesinde Farklı *Bacillus* Türlerinin Kullanımı**Use of Different *Bacillus* Species in the Biological Control of Tomato Bacterial Speck DiseaseÖzgür GÜLDOĞAN<sup>1</sup>, Benian Pınar AKTEPE<sup>2</sup>, Yeşim AYSAN<sup>3\*</sup>**Öz**

*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*' nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığı domateste verim kayıplarına neden olan önemli bir bakteriyel hastalıktır. Bu hastalık son yıllarda domates yetiştirilen tarla ve seralarda hatta ticari fideliklerde sorun oluşturmaktadır. Hastalığın mücadelesinde tohum uygulamaları önemli bir hastalık mücadele stratejisidir ve antagonist mikroorganizmaları kullanarak biyolojik tohum uygulamaları etkili ve çevre dostu bir mücadele şeklidir. Bu çalışmada, domates alanlarından izole edilen antagonist bakteriyel mikroorganizmalarla hastalığın biyolojik mücadele olanakları araştırılmıştır. Antagonistleri izole etmek için Mersin ili Erdemli ve Toroslar ilçesinde domates bitkisinin yetiştiği alanlardan toplam 36 adet toprak ve kök örnekleri toplanmıştır. Bu örneklerden bakteriyolojik tekniklere göre yapılan izolasyonlarda toplam 323 adet aday antagonist bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatların antimikrobiyal etkileri *in vitro* petri denemeleriyle incelenmiş ve 12 izolat 2.3-11.0 mm arasında inhibisyon zonu oluşturarak patojenin gelişimini baskı altına almıştır. *In vitro* çalışmalarda başarılı bulunan 12 adet antagonistik bakteri izolatu patojenle suni olarak bulaştırılmış tohuma uygulandığında hastalığın %33-95 oranında azaldığı ve hastalık şiddetinin %28-95 arasında baskılandığı saptanmıştır. Uygulamalar tohum çimlenmesinde olumsuz bir etki yaratmamıştır. En başarılı bulunan dört antagonist bakteri izolatlarıyla yapılan ikinci biyolojik tohum uygulaması denemesinde, hastalık %81-100 oranında baskılanmıştır. Böylece başarılı antagonistlerin etkisi ikinci kere kanıtlanmıştır. Bu başarılı izolatların tanı çalışmalarında MALDI-TOF MS tekniğinden faydalanılmıştır ve yapılan tanı testlerine göre antagonistlerin *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* ve *Paenobacillus polymyxa* olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmayla, antagonist özellikteki *Bacillus* türlerinin domateste Bakteriyel Benek Hastalığının mücadelesinde biyolojik tohum uygulaması olarak başarıyla kullanılabilceği gösterilmiştir. Gelecekte antagonistik *Bacillus* izolatların yeşil aksamdaki bu hastalığı engelleme oranı, etki mekanizmaları ve diğer antagonistlere, bitki patojenlerine olan etkileri araştırılmalıdır. Pratikte kullanımı için kitle üretimleri, ruhsat ve patent alma gibi detaylı çalışmalara da ihtiyaç vardır. Antagonistlerle ek denemeler yapıldıktan sonra bu hastalığın entegre yönetiminin bir parçası olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antagonist, Bakteriyel benek, Biyolojik mücadele, Domates, Tohum uygulamaları<sup>1</sup> Özgür Güldoğan, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana, Türkiye. [ozgurguldogan@gmail.com](mailto:ozgurguldogan@gmail.com)  OrcID: 0000003-1696-3621<sup>2</sup> Benian Pınar Aktepe, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Kadiriye Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, Osmaniye, Türkiye. [benianaktepe@gmail.com](mailto:benianaktepe@gmail.com)  OrcID: 0000-0002-4731-9954<sup>3\*</sup> Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Yeşim Aysan, Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana, [aysanys@gmail.com](mailto:aysanys@gmail.com)  OrcID: 00000003-2647-5111**Atıf/Citation:** Güldoğan, Ö., Aktepe, B.P., Aysan, Y. Domates bakteriyel benek hastalığının biyolojik mücadelesinde bakteriyel antagonistlerin kullanımı. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(4), 829-839.©Bu çalışma Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi tarafından Creative Commons Lisansı (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) kapsamında yayınlanmıştır. Tekirdağ 2022

## Abstract

Bacterial Speck Disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* is an important tomato bacterial disease that causes yield losses. In recent years, the disease has been a problem in tomato growing areas such as greenhouses and open fields and also commercial nurseries. Seed treatment is an important disease management strategy in the control of the disease, and seed treatments using by antagonistic microorganisms are an effective and environmentally friendly disease control method. In the research, biological control possibilities of the disease were investigated with antagonistic bacterial microorganisms isolated from tomato fields. In order to isolate the antagonists, a total of 36 soil and root samples were collected from the tomato plant growing areas in Erdemli and Toroslar districts of Mersin province. A total of 323 candidate antagonist bacterial strains were isolated from these samples in their isolations according to bacteriological techniques. The antimicrobial effects of these strains were investigated by *in vitro* petri dishes, and 12 antagonistic strains formed an inhibition zone between 2.3-11.0 mm and suppressed the growth of the pathogen. The strains reduced the disease incidence by 33-95% ratios and disease severity by 28-95% ratios when the twelve strains, which were successful in *in vitro* tests, were applied to tomato seeds as biological seed treatments. Applications did not have a negative effect on seed germination. In the second biological seed treatment experiment with the four most successful antagonistic bacterial strains, the disease was suppressed by 81-100% ratios. Thus, the effect of successful antagonists has been proven for the second time. The MALDI-TOF MS technique was used in the identification of the successful antagonistic strains, it was determined that the antagonists were identified as *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus* and *Paenobacillus polymyxa*. It has been shown in the study that *Bacillus* species with antagonist properties can be used successfully as biological seed treatments in the control of Bacterial Speck Disease on tomatoes. It should be investigated in the further research that the effect of the antagonistic *Bacillus* strains on the inhibition of the disease on foliage parts of tomato, their mechanism of action and the effects on other antagonists, plant pathogens. There is also a need for detailed studies such as mass production, obtaining licenses and patents for its practical use. It was concluded that the antagonistic strains can be used in part of the integrated disease management programs after the additional experiments are performed.

**Keywords:** Antagonist, Bacterial speck, Biological control, Tomato, Seed treatment.

## 1. Giriş

Domates (*Solanum lycopersicum L.*) *Solanaceae* familyasında bulunan ve anavatanı Güney ile Orta Amerika olan önemli bir bitkidir. Günümüzde sofralık, kurutmalık veya sanayilik olarak yüzlerce farklı özellik ve tipte domates çeşidi dünya çapında yaygın bir şekilde yetiştirilmektedir. Ülkemizde ise tüm yıl boyunca hem örtü altında hem de açık alanda sofralık ve sanayilik domates üretimi yapılmaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre ülkemizde örtü altında sebze yetiştiriciliği 1950'li yıllarda başlamış olup, 1990'dan sonra hızlı bir şekilde artış göstermiştir. Örtü altı sebze yetiştiriciliğindeki bitki türleri karşılaştırıldığında en büyük payı domates almaktadır. Ülkemizin tüm tarımsal alanlarında açıkta yetiştiriciliği yapılmasına rağmen örtü altı yetiştiriciliği daha çok Ege ve Akdeniz kıyı şeritlerinde yapılmaktadır (Anonim, 2021).

Birçok kültür bitkisinde olduğu gibi domates yetiştiriciliğinde de hastalık ve zararlılar mevcuttur. Domates bitkisinde hastalığa neden olan pek çok bakteriyel, fungal ve viral etmen sorun oluşturmaktadır. *Pseudomonas syringae* pv *tomato* (Okabe) Young, Dye ve Wilkie'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığı da domates bitkisinde görülen bakteriyel hastalıklarından biridir. Bitkisel üretim faaliyetleri açısından önemli bir paya sahip olan Bakteriyel Benek Hastalığı domatesin pazar değerini düşüren ve verimi azaltan bir hastalıktır (Mc Carter ve ark., 1983; Devash ve ark., 1980; Miller ve Jones, 2014). *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* domates yapraklarında ve gövdede kara lekeye yani nekroza neden olan Gram negatif bir bakteridir (Jones ve ark., 1991). Etmen, bitkinin tüm toprak üstü organlarında belirti oluşturabilir. Başlangıçta fidelerin kotiledon yapraklarında görülen hastalık, gerçek yapraklara ve sap kısmına sıçrar ardından ilerleyen zamanda tüm fidelerin kurumasına yol açabilir. Özellikle örtü altında yapılan domates yetiştiriciliğinde, gövde ve yan dallardaki lekeler kahverengi-siyah renkte uzunca ve yüzeyseldir. Turfanda domates yetiştiriciliğinde en önemli zararını çiçeklerde oluşturur ve hasta çiçeklerin ölümüyle meyve tutumunu engelleyeceğinden büyük ürün kayıpları oluşur (Miller ve Jones, 2014; Aysan ve ark., 2019). Hastalık tohum kaynaklı olarak ya da daha önceki ürünlerden tarlada kalan hastalıklı bitki artıklarından bulaşma ile sağlıklı fidelerin enfeksiyonu başlar. Domates tohumlarında uzun süre yaşamını sürdüren bu patojen tohumun çimlenmesi esnasında popülasyonunu artırır ve tohum kabuğundan gerçek yapraklara bulaşarak hastalığın yayılmasına neden olur (Aysan ve ark., 2005). Bulaşma sonucunda hastalık etmeni bulaşık fideler aracılığıyla tarlaya aktarılır, böylece etmen uygun koşullar olduğunda epidemilere yol açar. Toprak üstü aksamdaki enfekteli bulaşık bitki artıklarından sağlıklı bitkiye giriş yarılarından olur (Aysan ve Saygılı, 2008; Miller ve Jones, 2014). Bakteriyel etmenler tarafından enfekte edilen bitkilerdeki ekonomik kayıpların önüne geçmek veya baskı altında tutmak bazen oldukça zordur. Çevresel koşullar hastalık gelişimini desteklediğinde standart tedaviler her zaman etkili değildir (Jardine ve Stephens, 1987). Bu nedenlerle bakteriyel hastalık mücadelesinde en başarılı yol kültürel önlemler, tohum uygulamaları (Horuz ve Aysan, 2018; Umarusman ve ark., 2019), kimyasal (Jardine ve Stephens, 1987; Saad ve Hassan, 2000) ve biyolojik mücadeleyi kapsayan entegre mücadele yöntemlerinin kullanılmasıdır (Jones ve ark., 2007). Entegre mücadele uygulamalarında farklı mücadele teknikleri bir arada kullanılarak geleneksel pestisitlerin kullanımını azaltılır böylece tarımın yapıldığı ekolojik çevreye daha az zarar verilir, ekonomik kazanç sağlanır ve tarımın sürdürülebilir olmasına katkı sağlanır. Biyolojik mücadele günümüzde ekolojik dengenin korunabilmesi açısından stratejik önem arz eden bir konuma gelmiştir. Bu nedenle çalışmamızda domatesin tamamen kendi habitatından, ticari olarak domates yetiştiriciliği yapılan tarla, sera ve ev bahçelerinde yetiştirilen domates bitkilerinin kök ve kök bölgesi toprağından antagonist bakteriler izole edilmiş ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu Bakteriyel Benek Hastalığının biyolojik mücadelesinde kullanım olanakları araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Patojen bakteri izolatının geliştirilmesi ve virülensliğinin artırılması

Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan ve Prof. Dr. Yeşim Aysan tarafından *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olarak tanımlanan YA-845 kodlu izolat bu çalışmada patojen olarak kullanılmıştır. Uzun süre derin dondurucuda saklanan patojen bakterinin virülensliği azalabileceğinden bu izolatın virülensliğinde artış sağlamak amacıyla domateste patojenite testi yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). YA-845 kodlu izolatın 48 saatlik kültüründen hazırlanan  $10^6$  hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon, domates fidelerine el pülverizatörü ile yaprak altından püskürtülerek bulaştırılmıştır. İklim odasında (22°C'de, %75 nem, 8/16 saat aydınlık/karanlık) muhafaza edilen domates bitkilerinin yapraklarında benek belirtileri gözlemlendikten sonra bakteriyolojik tekniklere göre tek bir lekeden patojen bakteri izolasyonu yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Koch postulatı aşamaları tamamlandıktan sonra virülensliği artırılmış YA-845 kodlu izolatın gram reaksiyonu, KB besi yerinde floresan pigment üretimi ve LOPAT karakterleri (Lelliott ve Stead, 1987) belirlendikten sonra ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere eğik olarak hazırlanmış YDC agar besi yerinde +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

## 2.2. Aday antagonist bakterilerin izolasyonu

Mersin ili, Erdemli ve Toroslar ilçelerinde 18 üretim alanından, 36 adet kök ve kök bölgesi toprağından aday antagonist izolasyonu yapılmıştır. Domates bitkisinin kök bölgesindeki toprak partikülleri temizlenip kılcal köklerden parçalar alınmıştır. Her bir üretim alanından elde edilen kılcal kökler birleştirilmiş ve paçal yapılarak 10 gr kökten izolasyonlar yapılmıştır. Kök bölgesi toprağı ise gazete kâğıdı üzerine serilerek oda sıcaklığında kurutulmuş ve ardından 0.2 mm deliklere sahip elekten geçirilmiştir. Bir üretim alanından elde edilen toprak örnekleri birleştirilerek tek bir örnek haline getirilmiş ve 10 gr topraktan bakteri izolasyonu yapılmıştır. İzolasyona hazır hale gelen 10'ar gr'lık toprak ve kök örnekleri 90 ml Saline Buffer (%085 NaCl çözeltisi) içerisinde oda sıcaklığında 200 dev/dak'da çalışan çalkalayıcıda en az 3 saat çalkalanmıştır. Çalkalanan örneklerden 1ml alınarak 9ml salin buffer içeren tüplere seyreltme serileri hazırlanmıştır. Her bir seyretmeden 100µl alınarak 3 tekrarlı olacak şekilde TSA besi yerine ekim yapılmıştır. Petrilerin 25°C'de 48 saat inkübasyonundan sonra gelişen koloniler incelenerek şekil ve renk olarak farklı morfolojik gelişim gösteren kolonilerden TSA besi yerine saflaştırmalar yapılmıştır (Martinez-Cano ve ark., 2022).

## 2.3. Aday antagonistlerin *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

Domates köklerinden ve domates yetiştirilen topraktan izole edilen 323 adet aday antagonist bakteri ve Çukurova Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış olan 14 adet bakteri izolatının *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi *in vitro* petri denemeleriyle incelenmiştir. Aday antagonistler TSA besi yerine üç nokta inokulasyonu ile ekilip (Mitchell, 1992; Horuz ve Aysan, 2018) 25°C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Benzer şekilde, besi yerinde 48 saatlik taze geliştirilen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatının spektrofotometrede 10<sup>6</sup> hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyonu hazırlanmıştır. Besi yerinde üç nokta inokulasyonu ile geliştirilen aday antagonistlere 15-20 cm uzaklıktan el pülverizatörüyle patojen bakteri süspansiyonu püskürtülmüştür. Her aday antagonist izolatu patojen bakteriye karşı üç tekrarlı olarak test edilmiştir. Kontrol olarak üç adet TSA besi yerine herhangi bir aday antagonist bakteri aşılması yapılmadan sadece patojen bakteri püskürtmesi yapılmıştır. İnkübatörde 25°C'de 48 saat inkübe edilen petrilere oluşan inhibisyon zonları mm olarak ölçülerek kaydedilmiştir. İnhibisyon zonu oluşturan aday antagonist bakteriler *in vivo* tohum denemeleri için seçilmiştir.

## 2.4. Bakteriyel antagonistlerin tohum kökenli bakteriyel benek hastalığına etkisi

*In vitro* petri denemelerine göre antibakteriyel etkisi saptanmış 12 adet bakteriyel antagonist suni olarak *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile bulaştırılmış domates tohumlarındaki hastalığı baskılama oranı tohum denemeleriyle araştırılmıştır. Denemeye alınan 12 adet antagonist içerisinde en başarılı bulunan ve farklı yerlerden izole edilen dört antagonistle tohum sayıları artırılarak ikinci bir deneme daha kurulmuştur. YA-845 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatı TSA besi yerinde 25°C'de 48 saat geliştirildikten sonra yaklaşık 2.9x10<sup>6</sup> hücre/ml (dansiyometre 1.27 değerinde) yoğunluğunda bir süspansiyon hazırlanmıştır (Aktepe, 2021). Herhangi bir kimyasalla ilaçlanmamış domates tohumları hazırlanan bu patojen bakteri süspansiyonuna 30 dakika süreyle daldırılarak bulaştırılmıştır (Horuz ve ark., 2018; Karabüyük ve Aysan, 2019). Tohumlar patojen bakteriyle bulaştırıldıktan sonra tülbenkten geçirilerek süzölmüş ve 20x20 ebatlarında tahta çerçeveler üzerine yayılarak bulaştırma işlemi tamamlanmıştır. Negatif kontrol uygulaması olarak ilk denemede 105, ikinci denemede 150 adet domates tohumu sadece steril suya daldırılmış ve ekimi yapılmıştır. *In vitro* denemelerde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenen 12 adet antagonistin 48 saatlik taze kültüründen dansiyometreyle (2.0 değerinde) süspansiyonları ayrı ayrı hazırlanmıştır. Yaklaşık bir saat önce patojenle bulaştırılmış domates tohumları hazırlanan antagonist süspansiyonuna 30 dakika süre ile daldırılarak muamele edilmiştir. Bu süre sonunda süzgeçle süzölen antagonistlerle uygulama görmüş bulaşık tohumlar steril torfla dolu plastik küvetlere ekilmiştir. İlk denemede, her bir antagonist uygulaması için 3 tekrar ve her tekrarda 35 tohum olacak şekilde deneme kurulmuştur. Her bir antagonist için toplamda 105 adet tohum kullanılmıştır. İkinci denemede yine 3 tekrar, her tekrarda 50 tohum olmak üzere her uygulama için 150 tohum kullanılarak deneme kurulmuştur. Uygulama görmüş tohumların ekildiği küvetler %75 nem ve 25±°C'de muhafaza edilmiştir. Yaklaşık olarak 14 gün sonra çimlenen tohumlardan gelişen fidelerin kotiledon yaprakları günlük olarak incelenerek pozitif kontrole ait uygulamada gözle görülür hastalık belirtileri oluştuğunda değerlendirme yapılmıştır. Tohumlar çimlendikten sonra pozitif kontrol uygulamasındaki fidelerin kotiledon yapraklardaki lekeler ortaya çıktığında bitkiler hasta olarak kabul edilmiştir.

Her bir antagonist bakteri uygulamasında hasta bitki sayıları çimlenen bitki sayılarına bölünerek her tekerrürün hastalık %'si hesaplanmıştır. Antagonist bakterinin hastalığı baskılama etkisi Abbott formülü ( $\% \text{ etki} = (\text{kontrol-uygulama}) / \text{kontrol} \times 100$ ) kullanılarak yapılmıştır (Karman, 1971). Bu hesaplama sonucunda antagonistin fide üzerindeki hastalık çıkışına etkisi % olarak hesaplanmıştır. Antagonist bakterinin fidelerde oluşturduğu hastalık şiddetini değerlendirirken Aysan (1999) tarafından geliştirilen 0-3 skalası (0: kotiledonlarda leke yok, 1: kotiledonlarda 1 leke var, 2: kotiledonlarda 2 veya 3 leke var, 3: kotiledonlarda 4 ve daha fazla leke var) kullanılmıştır. Değerlendirmelerden sonra her uygulamanın bir tekerrüründeki hasta bitkilerden patojen bakteri izolasyonu yapılarak tütünde aşırı duyarlılık testi (HR) ile hastalık belirtilerinin *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'dan kaynaklandığı ispatlanmıştır. Elde edilen skala değerleri, Townsend-Heuberger formülü kullanılarak yüzde hastalık şiddeti değerlerine dönüştürülmüştür (Karman, 1971). Antagonist bakterilerin hastalık şiddetini azaltma oranı Abbot formülü ile hesaplanmıştır. Yapılan uygulamalar arasındaki istatistikî farklar ANOVA istatistikî programında LSD çoklu karşılaştırma testi ile ( $p \leq 0.05$ ) ortaya konulmuştur.

### 2.5. Bakteriyel antagonistlerin tohum çimlenmesine etkisi

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

### 2.6. Bakteriyel antagonistlerin tanısı

Denemede kullanılan antagonistlerin tanısı Tryptic Soy Agar (TSA) besi yerine çizildikten ve 48 saatlik inkübasyon sonrası MALDI-TOF MS ile yapılmıştır. Günümüzde mikroorganizmaların tanısında yaygın olarak kullanılan MALDI-TOF MS teknolojisi (Soylu ve ark., 2020) ile antagonist bakterilerin tanısı Prof. Dr. Soner SOYLU'nun denetiminde Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır. MALDI-TOF MS' de mikroorganizmaların protein yapılarının kütle spektrometresindeki izolasyonu ve m/z değerlerine göre bulunan spektraların grafiksel görüntülerinin sistemin kendi veri tabanındaki referans organizmalara uyumuna göre mikroorganizmaların cins ve türleri tanılanmaktadır (Pavlovic ve ark., 2012).

## 3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

### 3.1. Patojen bakteri izolatının geliştirilmesi ve virülensliğinin artırılması

Patojen bakteri, YA-845 kodlu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* izolatından hazırlanan 106 hücre/ml yoğunluğundaki süspansiyon domates fidelerinin yaprak altına püskürtüldükten sekiz gün sonra etrafı sarı hale ile çevrili siyah lekeler tipik Bakteriyel Benek Hastalığı belirtileri gözlenmiştir. Bakteriyolojik tekniklere göre tek bir lekeden patojen bakteri izolasyonu yapılmış ve virülensliği artırılmış bu izolatın dört adet saf kültürü elde edilmiştir. Patojen bakterinin gram negatif, floresan tipte koloni oluşturduğu ve LOPAT karakterine (+ - - - +) göre *Pseudomonas syringae* olduğu teyit edilmiştir. Patojenite testiyle de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* olduğu belirlenmiştir.

### 3.2. Aday antagonist bakterilerin izolasyonu

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

### 3.3. Aday antagonistlerin *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

Domates köklerinden ve domates yetiştirilen topraktan izole edilen 323 adet aday antagonist ve *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış 14 adet bakteri izolatı olmak üzere toplam 337 adet aday antagonist bakteriyle yapılan *in vitro* petri denemelerinde, 12 izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi saptanmıştır. TSA besi yerinde oluşan inhibisyon zonları ortalamasının 2.3 ile 11.0 mm arasında değiştiği

saptanmıştır. *Xanthomonas* türlerine antagonistik dört izolat *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nın da besi yerinde gelişimini baskı altına almıştır. Mersin ili Erdemli ilçesinden beş izolat ve Toroslar ilçesinden iki izolatin antibakteriyel özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. İzole edilen antagonist özellikteki yedi bakteriye izolatın besi topraktan ikisi kökten elde edilmiştir.

### 3.4. Bakteriye antagonistlerin tohum kökenli bakteriye benek hastalığına etkisi

Tablo 1'de görüldüğü gibi, domates yetiştirilen topraktan izole edilen OG/6-8 kodlu izolat 11.00 mm, *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış AE/2-6 kodlu izolat 10.60 mm ve YL/4-3 kodlu izolat 10.00 mm, domates kökünden izole edilen KG/8-9 kodlu izolat 9.60 mm, yine topraktan izole edilen OG/6-14 kodlu izolat 9.30 mm inhibisyon zonu oluşturarak besi yerinde patojenin gelişimini engellemiştir. OG/7-1, Suruç/4-3, OG/7-13 ve YL/5-3 kodlu izolatlara sırasıyla ortalama 7.60, 7.60, 7.30 ve 6.00 mm inhibisyon zonu oluştururken TOH/4, OG/6-7 ve KG/6-6 kodlu izolatlara 3.60, 2.30 ve 2.30 mm inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Tablo 1. Patojen bakteriye karşı antagonistik etki gösteren izolatlara

Table 1. Isolates with antagonistic effects against pathogenic bacteria

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

Tablo 2'de görüldüğü gibi, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* ile bulaşık domates tohumlarına 12 bakteriye antagonistin uygulandığı birinci denemede Bakteriye Benek Hastalığı %27.65-94.72 oranında baskılanmıştır. Sadece patojen bakteriye bulaştırılmış domates tohumları çimlendiğinde gelişen fidelerin %26.07'sinin kotiledon yapraklarında lekelerin olduğu ve pozitif kontrolde yer alan lekeli fidelerdeki hastalık şiddetinin ortalama %15.55 olduğu hesaplanmıştır.

Tablo 2. Antagonistlerin domateste bakteriye benek hastalığına etkisi (birinci deneme)

Table 2. Effect of antagonists on bacterial pith disease in tomatoes (first trial)

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

\*Farklı harfi içeren ortalamalar LSD(0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

İstatistiksel olarak incelendiğinde AE/2-6 kodlu izolat hariç tüm uygulamalar tohum kökenli bakteriyel hastalığı engellemede başarılı bulunmuştur. OG/6-7 kodlu izolat hastalığı %95.30 düzeyinde baskılayarak en başarılı uygulama olarak belirlenmiş ve tek bir istatistiki grupta yer almıştır. İkinci istatistiki grubu OG/6-14, Suruç/4-3, OG/7-13, YL/5-3 ve KG/8-9 kodlu izolatlardan oluşmuştur. Bu beş izolat hastalığı %73.49-84.73 oranında baskılayıp hastalık şiddetini %76.20-83.15 oranında azaltmıştır. TOH/4, KG/6-6 ve OG/7-1 kodlu izolatlarda da diğer bir etkili grubu oluşturmuş ve hastalık çıkışını %67.59-71.23, hastalık şiddetini %58.07-73.18 oranında azaltmışlardır. YL/4-3 ve OG/6-8 kodlu izolatlarda Bakteriyel Benek Hastalığını %57.53-60.60 ve hastalık şiddetini de % 66.75-78.13 düzeyinde engellemiştir. İstatistiksel olarak en başarılı bulunan ilk iki grupta yer alan altı izolat dört farklı üretim alanında izole edilmiştir ve her birinden seçilen dört antagonistle yapılan ikinci tohum denemesinde bu izolatlardan başarılı bir kez daha teyit edilmiştir. *Tablo 3*'te görüldüğü gibi KG/8-9, Suruç/4-3, YL/5-3 ve OG/6-7 kodlu izolatlardan yapılan ikinci denemede pozitif kontrol uygulamasında yer alan fidelerin % 24.90'ında hastalık görülürken antagonist bakteri uygulaması yapılmış tohumlardan gelişen fidelerin %4.24-4.68'i hasta olarak belirlenmiştir. Antagonistlerle yapılan tohum uygulamaları hastalığı %81.16-100.00 oranında baskılamıştır. Benzer şekilde hastalık şiddeti de %53.32-100.00 oranında azalmıştır.

**Tablo 3. Antagonistlerin domateste bakteriyel benek hastalığına etkisi (ikinci deneme)**

*Table 3. Effect of antagonists on bacterial pith disease in tomatoes (second trial)*

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

\*Farklı harfi içeren ortalamalar LSD(0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Detaylı araştırmalar için seçilen dört antagonist ile yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneme sonuçları *Tablo 4*'te toplu olarak görülmektedir. Mersin ili Toroslar ilçesinde ev bahçesinde yetiştirilen domates toprağından elde edilen KG/8-9 kodlu izolat *in vitro* denemelerde 9.60 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuş, tohum kökenli inokulumdan kaynaklı hastalık oluşumunu ilk denemede %73.49 ikinci denemede tamamen (%100) baskılamıştır. Mersin ili Erdemli ilçesinde serada yetiştirilen domates toprağından elde edilen OG/6-7 kodlu izolat ise 2.30 mm ile en küçük inhibisyon zonuna sahip olmasına rağmen hastalığı %95.30 ve %81.16 oranında baskılamıştır.

**Tablo 4. Seçilen antagonistlerin domateste bakteriyel benek hastalığına etkisi (In vitro ve In vivo test)**

*Table 4. The effect of selected antagonists on bacterial spot disease in tomatoes (In vitro and In vivo Test)*

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

### 3.5. Bakteriyel antagonistlerin tohum çimlenmesine etkisi

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

**Tablo 5. Biyolojik tohum uygulamalarının çimlenmeye etkisi (birinci deneme)**

Table 5. Effect of biological seed treatments on germination (first trial)

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

\*Farklı harfi içeren ortalamalar LSD(0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Tablo 6’da seçilen antagonistlerle (KG/8-9, OG/6-7, YL/4-3 ve Suruç/4-3) daha fazla tohum sayısı yapılan ikinci denemede YL/4-3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların istatistiksel olarak tohum çimlenmesine herhangi bir olumsuz etki yaratmadığı saptanırken KG/8-9 ve OG/6-7 kodlu izolatlar çimlenmesi sırasıyla %37.24 ve %26.89 düzeyinde azaltmıştır. Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların hem Bakteriye Leke (*Xanthomonas euvesicatoria*) hem de Bakteriye Benek Hastalığı (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) engelleneme yeteneğinde olduğu ve tohum çimlenmesine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı bu çalışmayla ortaya konmuştur. Domates tohumlarındaki *Xanthomonas euvesicatoria* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu azaltmak için gelecekte YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların biyolojik tohum uygulamaları olarak kullanımı başarı getirebilecektir

**Tablo 6. Seçilen antagonistlerle yapılan tohum uygulamalarının çimlenmeye etkisi**

Table 6. The effect of seed treatments with selected antagonists on germination

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

\*Farklı harfi içeren ortalamalar LSD(0.05) testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

Dost mikroorganizmalar olarak adlandırılan, bitki hastalıklarının biyolojik mücadelesinde kullanılan antagonist bakteriler (Aktepe, 2018), bakteriyofajlar (Cemen ve ark., 2018) ve funguslar (Tekiner ve ark., 2019) ile ilgili araştırmalar son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Gıda güvenliği, çevre ve insan sağlığı ile sürdürülebilir tarım konularına verilen önem arttıkça biyolojik mücadele araştırmaları da dikkat çekmeye başlamıştır. Dost mikroorganizmalar organik veya geleneksel üretim yapılan alanlarda toprak mikrobiyal aktivitesini artırarak toprak yapısı ve özelliklerini iyileştirir ayrıca bitkinin hastalıklara karşı daha dayanıklı olmasını sağlar. Bu durum domateste yapılan pek çok araştırmayla ortaya konmuştur. Solucan gübresi kullanımıyla toprak mikrobiyotası zenginleştirilmiş ve domateste Bakteriye Benek Hastalığına karşı direnç sağlanmıştır (Karnez ve ark., 2021). Diğer bir araştırmada *Bacillus pumilus* ve *Bacillus amyloliquefaciens* adlı antagonist bakteriler tohuma uygulandığında domateste Bakteriye Benek Hastalığına karşı dayanıklılık mekanizması harekete geçirilmiştir (Lanna-Filho ve ark., 2017). Dost mikroorganizmaların kullanıldığı bir diğer alan da bakıra direnç geliştirmiş patojen bakteri popülasyonun yaygın olduğu üretim alanlarıdır. Örneğin Güney Afrika’da bakıra direnç geliştirmiş *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonu ile mücadelede entegre hastalık yönetiminde *Bacillus subtilis* izolatları başarıyla kullanılmıştır (McLeod ve ark., 2017). Silva ve ark., (2008) *Acinetobacter johnsonii*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus sphaericus*, *Paenibacillus macerans* ve *Staphylococcus aureus* adlı antagonist bakterileri tohuma uygulayarak tohum kökenli *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu %44



oranında kontrol altına almışlardır. Ji ve ark., (2005) domateste *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu baskı altına almak için antagonist bakterilerden *Bacillus pumilus* SE34, *Pseudomonas fluorescens* 89B-61 ve *Pseudomonas syringae* Cit7 kodlu izolatlarını köke, tohuma ve yeşil aksama uygulamışlardır. Hastalığın %12-%83 düzeyinde baskılandığını bildirmişlerdir. Lanna-Filho ve ark., (2017)'nin yaptığı çalışmada *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* mücadelesinde endofitik yaşayan *Bacillus pumilus* ve *Bacillus amyloliquefaciens* antagonist bakterileri kullanıldığında bitkide dayanıklılık mekanizmasının teşvik edildiğini göstermişler ve Bakteriyel Benek Hastalığı %62 oranında baskılandığını saptamışlardır. Bu çalışmada da farklı *Bacillus* türüne ait izolatlar kullanılarak tohum kökenli hastalığı baskılama yetenekleri araştırılmış ve oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Hatta *Bacillus subtilis* YL/4 -3 ve *Bacillus subtilis* Suruç/4-3 kodlu izolatların hem Bakteriyel Leke hem de Bakteriyel Benek Hastalığını engelleme yeteneğinde olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada her ne kadar bu izolatların etki mekanizmaları ortaya konmamış olsa da ümit var sonuçlar olduğu açıktır. Gelecekte bu izolatların yeşil aksamda hastalığı engelleme etkileri ve etki mekanizmaları ile diğer antagonistlere, bitki patojenlerine ve insanlara olan etkileri araştırılmalıdır. Pratikte kullanımı için kitle üretimleri, ruhsat ve patent alma gibi detaylı çalışmalara da ihtiyaç vardır.

### 3.6. Bakteriyel antagonistlerin tanısı

MALDI TOF MS ile yapılan tanı sonucunda, YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların indeks değeri 1.976 ve 1.876 olarak belirlenerek *Bacillus subtilis* ile tür düzeyinde tam eşleşme sağlanmıştır. OG/6-7 kodlu izolat 1.974 indeks değeri ile *Bacillus pumilus* olarak KG/8-9 kodlu izolat 1.984 indeks değeri ile *Paenobacillus polymyxa* olarak tanılanmıştır. Bu iki bakteri türünün antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu gösteren farklı çalışmalar bulunmaktadır. Çakar ve Tozlu (2022) yaptıkları çalışmada iki *Bacillus pumilus* (RK-103 ve TV-67C) izolatının patateste verim kayıplarına neden olan toprak kaynaklı kuru çürüklük etmeni *Fusarium oxysporum*'un biyolojik mücadelesinde ümit var olduğu belirtilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da *Paenobacillus polymyxa*'nın geniş bir konukçu aralığına sahip bitki büyümesini teşvik eden antagonistik kök bakterilerinden (rizobakter) biri olduğu bildirilmiştir (Timmusk ve ark., 2005).

## 4. Sonuç

Bu çalışmada, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun tohum kaynaklı bulaşıklığını azaltmak için yerel antagonistler kullanılarak yapılan biyolojik tohum uygulamalarının etkinlikleri araştırılmıştır. Domates köklerinden ve domates yetiştirilen topraktan izole edilen 323 adet aday antagonist ve *Xanthomonas* türlerine antagonist özelliği saptanmış 14 adet bakteri izolatı olmak üzere toplam 337 adet aday antagonist bakteriyel yapılan *in vitro* petri denemelerinde, 12 izolatın *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'ya antibakteriyel etkisi saptanmıştır. Patojenle bulaşık domates tohumlarına 12 bakteriyel antagonistin uygulandığı birinci denemede Bakteriyel Benek Hastalığı %28-95 oranında baskılanmıştır. Detaylı araştırmalar için seçilen dört antagonist (KG/8-9, Suruç/4-3, YL/5-3 ve OG/6-7) ile yapılan ikinci denemede, tohuma uygulanan antagonistler hastalığı %81.16-100.00 oranında baskılamıştır. Çimlendirme denemelerinde ise KG/8-9, Suruç/4-3 ve YL/5-3 kodlu izolatların çimlenmeye herhangi bir olumsuz etki yapmadıkları belirlenmiştir. MALDI TOF MS ile yapılan tanı sonucunda, YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatlar *Bacillus subtilis*, OG/6-7 kodlu izolat *Bacillus pumilus* ve KG/8-9 kodlu izolat *Paenobacillus polymyxa* olarak tanılanmıştır. Domates tohumlarındaki *Xanthomonas euvesicatoria* ve *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* popülasyonunu azaltmak için gelecekte YL/4 -3 ve Suruç/4-3 kodlu izolatların biyolojik tohum uygulamaları olarak kullanımı başarı getirebileceği sonucuna varılmıştır. Bu antagonistlerin yeşil aksamdaki hastalığı baskılama düzeyi, diğer domates patojenlerine, tohum ve yeşil aksamdaki antagonistlere ve hedef dışı canlılara da etkisi araştırılmalıdır. Ayrıca kitle üretimleri, ruhsat ve patent alma konusunda daha detaylı yapılacak incelemelere de ihtiyaç vardır.

## Teşekkür

Bu çalışmada kullanılan antagonist bakteri izolatların MALDI-TOF MS ile tanısını yapan sayın Prof. Dr. Soner SOYLU'ya teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- Anonim, (2021). Örtü Altı Domates Yetiştiriciliği. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü, Erdemli-Mersin. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/alata/Belgeler/Diger-belgeler/%C3%96rtu%C3%BCalt%C4%B1DomatesYeti%C5%9Ftiricili%C4%9FiAAta.pdf> Erişim:26.12.2021
- Aktepe, B.P. (2018) *Erwinia amylovora*'nın biyolojik mücadelesinde epifitik bakteri ve mayaların etkilerinin araştırılması. (Doktora Tezi) Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Aktepe, B.P. (2021) The effect of different plant activators and biological preparete on the biological control of bacterial speck disease in tomato. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 26(2): 355-364.
- Aysan, Y. (1999). *Domates bakteriyele leke hastalığının tanımı, ırklarının tespiti, domates tohumlarında saptanması ve kimyasal savaşıma alternatif yöntemlerin araştırılması üzerine çalışmalar*. (Doktora Tezi) Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Aysan, Y., Mirik, M., Çetinkaya-Yıldız, R., Küsek, M. (2005). *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun yayılmasına tohum kökenli inokulumun rolü. *Türkiye II. Tohumculuk Kongresi* 9-11 Kasım, 353s, Adana, Türkiye.
- Aysan, Y., Saygılı, H. (2008). Bitki Bakteri Hastalıkları. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir.
- Aysan, Y., Üstün, N., Mirik, M., Saygılı, H., Şahin, F. (2019). Bitki Bakteri Hastalıkları. Toprak Ofset Matbaacılık, Tekirdağ.
- Cemen, A., Aysan, Y., Horuz, S., Saygılı, H. (2018). Potential of bacteriophages to control bacterial speck of tomato (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 27:9366-9373.
- Çakar, G., Tozlu, E. (2022). The biological control of *Fusarium oxysporum*, the causal agent of potato rot. *Gesunde Pflanzen*, 74: 305-315
- Devash, Y., Okon, Y., Henis, Y. (1980). Survival of *Pseudomonas tomato* in soil and seeds. *Phytopathologische Zeitschrift*. 99: 175-185.
- Horuz, S., Aysan, Y. (2018). Biological control of watermelon seedling blight caused by *Acidovorax citrulli* using antagonistic bacteria from the genera *Curtobacterium*, *Microbacterium* and *Pseudomonas*. *Plant Protection Science* 54: 138-146.
- Horuz, S., Ocal, A., Aysan, Y. (2018). Efficacy of hot water and chemical seed treatments on bacterial speck of tomato in Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(5): 3185-3190.
- Jardine, D.J., Stephens, C.T. (1987). Influence of timing of application and chemical on control of bacterial speck of tomato. *Plant Disease*, 71:405-408.
- Ji, P., Campbell, H.L., Kloepper, J.W., Jones, J.B., Suslow, T.V., Wilson, M. (2005). Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under weld conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control* 36:358-367
- Jones, J.B., Jackson, L.E., Balogh, B., Obradovic, A., Iriarte, F.B., Momol, M.T. (2007). Bacteriophages for plant disease control. *Annual Review of Phytopathology*, 45: 245-262.
- Jones, J.B., Jones, J.P., Stall R.E., Zitter, T.A. (1991). Compendium of Tomato Diseases. ASP Pres, Minnesota, USA.
- Karabüyük, F., Aysan Y. (2019). Bazı bitki ekstraktlarının *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*'nun neden olduğu domates bakteriyele benek hastalığına antibakteriyel etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(2) 231-243.
- Karman, M. (1971). Bitki Koruma Araştırmalarında Genel Bilgiler, Demelerin Kuruluşu ve Değerlendirme Esasları. T. C. Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele ve Karantina Genel Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- Kamez, E., Güldoğan, Ö., Ercan, N., Korkmaz, K., Aysan, Y. (2021). Domateste bakteriyele benek hastalığının mücadelesinde vermikompost uygulamasının etkisi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi* 26(3): 726-735.
- Lanna-Filho R., Souza R.M, Alves E. (2017). Induced resistance in tomato plants promoted by two endophytic bacilli against bacterial speck. *Tropical Plant Pathology* 42: 96-108.
- Lelliott, R.A., Stead, D.E. (1987). *Methods in Plant Pathology*. Published on behalf of the British Society for Plant Pathology by Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Martinez-Cano, B., Garcia-Trejo, J.F., Sanchez-Gutierrez, A.E., Toledano-Ayala, M., Soto-Zarazua, G.M. (2022) Isolation and characterization of plant growth-promoting compost bacteria that improved physiological characteristics in tomato and lettuce seedlings. *Agriculture*, 12(1):3.
- Mc Carter, S.M., Jones, J.B., Gitaitis, T.D., Smtley, D.R. (1983). Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in association with tomato seed, soil, host tissue and epiphytic weed hosts in Georgia. *Phytopathology* 73:1393-1398
- McLeod A., Masimba T., Jensen T., Serfontein S.C. (2017). Evaluating spray programs for managing copper resistant *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* populations on tomato in the Limpopo region of South Africa. *Crop Protection* 102: 32-42.
- Miller, S.A., Jones, J.B. (2014). Bacterial Speck. (Editors: J.B Jones, T.A Zitter, T.M. Momol and S.A. Miller) In: Compendium of Tomato Diseases and Pests, Second Edition, The American Phytopathological Society, 54-55p.
- Mitchell, R.E. (1992). Metabolites from pseudomonads that inhibit the growth of *Erwinia amylovora*. *Sixth International Workshop on Fire Blight*, Athens, Greece 21.

- Pavlovic, M., Konrad, R., Iwobi, A.N., Sing, A., Busch, U., Huber, I. (2012). A dual approach employing MALDI-TOF MS and Real-Time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters*, 328: 46-53.
- Saad A.T., Hassan, H.A. (2000). Pathogenesis and control of bacterial speck, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, on tomato. *EPPO Bulletin* 30:341–345.
- Silva, J.R.C., de Souza, R.M., Zacarone, A.B., da Silva, L.H.C.P., Castro, A.M.S. (2008). Control with endophytic bacteria and in vitro inhibition of *Pseudomonas syringae* pv *tomato*, agent of bacterial speck of tomato. *Ciência e Agrotecnologia*, 32(4): 1062-1072.
- Soylu, E.M., Soylu, S., Kara, M., Kurt, Ş. (2020). Sebzelelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların in vitro antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 23(1): 7-18.
- Tekiner, N., Kotan, R., Tozlu, E., Dadaşoğlu, F. (2019). Determination of some biological control agents against alternaria fruit rot in quince. *Alinteri Journal of Agriculture Sciences*, 34(1): 25-31.
- Timmusk, S., Grantcharova, N., Wagner, E.G. (2005). *Paenibacillus polymyxa* invades plant roots and forms biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(11): 7292–7300.
- Umarusman , M., Aysan, Y., Özgüven, M. (2019). Farklı bitki ekstraktlarının bezelye bakteriyel yaprak yanıklığına (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) antibakteriyel etkilerinin araştırılması. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(3): 297-314.