



Araştırma Makalesi

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

Aysel Zübeyde ERDEVİL^{1*}, Yeşim AYSAN²

ÖZ

Bu çalışmada, *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın biyolojik mücadelesinde rizosfer bakterilerinin kullanım olanakları *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırılmıştır. Bu amaçla çeşitli bitkilerin rizosferinden alınan toprak örneklerinden 241 adet, laboratuvarımız koleksiyonundan 157 adet olmak üzere toplam 398 aday antagonist bakterinin *in vitro* antagonistik ve bitki gelişimini teşvik eden etki mekanizmaları (antibakteriyel etki, siderofor üretme yeteneği, fosforu çözüme yeteneği ve indol asetik asit üretme miktarları) incelenmiştir. Bu testler sonucunda, 8 bakteriyel izolatın biyokontrol potansiyelleri *in vivo* koşullarda tohum denemeleri ile belirlenmiştir. Birinci tohum denemesinde, 8 uygulama hastalık şiddetini %0.48-39.45 oranında baskılamıştır. En başarılı iki izolat ile kurulan ikinci tohum denemesinde ise Y90 izolatı hastalığı %46.37 oranında engellerken Y28 izolatı hastalığı %18.97 oranında baskılamıştır. Başarılı antagonist bakteriyel izolatlar *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* Y90 ve *Providencia rettgeri* Y28 olarak tanımlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Acidovorax citrulli*, Kavun, Antagonist, Biyolojik Mücadele

Determination of the Potential Use of Rhizosphere Bacteria in *in vitro* and *in vivo* Conditions for the Biological Control of Bacterial Seedling Blight Disease in Melon

ABSTRACT

In this study, the potential use of rhizosphere bacterial isolates in the biological control of Bacterial Seedling Blight Disease in melon caused by *Acidovorax citrulli* was investigated under *in vitro* and *in vivo* conditions. A total of 398 candidate antagonist bacteria, including 241 soil samples from the rhizosphere of various plants and 157 isolates from our laboratory collection, were screened for their *in vitro* antagonistic and plant growth promoting mechanisms (antibacterial activity, siderophore production capability, phosphorus solubilization ability, and indole acetic acid production levels). As a result of these tests, 8 bacterial isolates were selected for use in biological seed trials. In the first seed trial, the 8 applications suppressed disease severity by 0.48-39.45%. In the second seed trial with the two most successful isolates, Y90 isolate prevented the disease by 46.37% while Y28 isolate prevented the disease by 18.97%. *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* Y90 and *Providencia rettgeri* Y28 were identified as successful antagonist bacterial isolates.

Keywords: *Acidovorax citrulli*, Melon, Antagonist, Biological Control

ORCID ID: (Yazar sırasına göre)

0000-0001-6013-9301, 0000-0003-2647-5111

Yayın Kuruluna Geliş Tarihi:26.07.2024

Kabul Tarihi: 23.10.2024

¹ Cihanbeyli İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü, Cihanbeyli, Konya

² Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Seyhan, Adana

*E-posta: erdevilay@gmail.com

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

Giriş

Türkiye coğrafi yapısı, ekolojik uygunluğu ve gen kaynaklarının çeşitliliği ile birçok sebze türünün yetiştirilmesine olanak sağlayan önemli bir ülkedir. Türkiye'de toplam sebze üretimi miktarı, 2023 yılı Türkiye sebze üretimi verilerine göre 31.690.50 ton olup bu üretimin yaklaşık %35'ini *Cucurbitaceae* familyasına ait sebze türleri oluşturmuştur (Anonim, 2023). Bu türlerden karpuz (*Citrullus lanatus*), kavun (*Cucumis melo* L.), hıyar (*Cucumis sativus* L.) ve kabak (*Cucurbita pepo* L.) ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen türler olup acur (*Cucumis melo* var. *flexuosus*), su kabağı (*Lagenaria siceraria*), lif kabağı (*Luffa cylindrica* L.) ve kudret narı (*Momordica charantia* L.) ise minör düzeyde üretilmiştir (Sari ve ark., 2007). *Cucurbitaceae* familyası içerisinde hem yüksek besin içeriği hem de ekonomik değeriyle ön plana çıkan sebzelerden olan kavunun yetiştiriciliğini sınırlayan birçok bakteriyel, fungal ve viral hastalık etmeni bulunmaktadır. Bu hastalık etmenleri arasında Bakteriyel Meyve Lekesi ve Fide Yanıklığı Hastalığı'na neden olan *Acidovorax citrulli*, kavun üretim alanlarında tahripkar etkileri nedeniyle ekonomik açıdan son derece önemli bir bakteriyel bitki patojenidir (Horuz, 2021). *Acidovorax citrulli*; aerobik, gram negatif, çubuk şeklinde, genellikle tek kamçılı (ender olarak 2 veya 3 kamçılı da olabilir) bakteriyel bir bitki patojenidir. İlk inokulum kaynağı bulaşık tohumlar olup yağmur, sulama suyu, böcekler, tarım alet ve ekipmanları ile bitkiden bitkiye kolay bir şekilde yayılmaktadır. Patojenin, uygun koşulların varlığında bulaşık tohumlarda 30 yıla kadar canlılığını koruyabildiği rapor edilmiştir (Block ve Shepherd, 2008). Diğer bir inokulum kaynağı da toprak, topraktaki hasta bitki kalıntıları, tarlada kendiliğinden gelişen fideler ve yabancı otlardır. Bitkilere yara veya doğal açıklıklardan giriş yapabilen patojen, hücreler arası boşluklara lokalize olmaktadır. Patojenin gelişmesi için optimum sıcaklık 32 °C'dir (Burdman ve Walcott, 2012).

Acidovorax citrulli'nin neden olduğu Bakteriyel Fide Yanıklığı ve Meyve Lekesi Hastalığı kendini öncelikle kotiledon yapraklarda oluşturduğu su emmiş görümlü lekelerle belli eder. Bu lekeler yapraklarda farklı noktalarda oluşur. Daha sonra birleşerek kotiledon yaprakların orta damarı boyunca ilerleyebilir. Gerçek yapraklarda ise yine

başlangıçta su emmiş lekeler şeklinde görülse de ilerleyen dönemlerde bu lekeler kahverengiye dönebilir. Patojen, genellikle gerçek yapraklarda belirti oluşturmaz. Ayrıca patojen yapraklarda epifitik olarak yaşamını sürdürebilir ve enfeksiyonlar meyve döneminde ortaya çıkabilir. Kavun meyvelerinde patojenin neden olduğu hastalık belirtileri kavun çeşitlerinin özelliklerine göre farklılık gösterir. Boyuna çizgili kavun meyvesinde ilk başta belirgin olmayan çok küçük, düzensiz, yağ emmiş lekeler şeklindedir. İlerleyen enfeksiyonlarda meyve kabuğunda içe çökük, kahverengimsi lekeler oluşturur (Walcott, 2008). Kabuk yüzeyi ağ şeklinde çizgilerden oluşan kavunlarda ise meyve kabuğunda küçük ve belirsiz çukurlar oluşur. İlerleyen enfeksiyonlarda kabuktaki patojen meyve etine doğru ilerler. Meyvelerde çürümeler, ağır koku oluşumları meydana gelir (Frankle ve ark., 1993).

Bakteriyel Fide Yanıklığı ve Meyve Lekesi Hastalığı ile mücadelede temel yaklaşım hastalığın tedavi edilmesinden ziyade, hastalığın oluşması ve yayılmasını önlemek olmalıdır. Hastalıkla mücadelede en etkili yöntem dayanıklı çeşitlerin kullanılmasıdır. Ancak bu hastalığa dayanıklı, ticari olarak erişilebilecek herhangi bir kabakgil çeşidi bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalıkla mücadele ilk adım, primer inokulum kaynağının patojenle bulaşık tohumlar olması nedeniyle tohum enfeksiyonlarını önlemeye veya azaltmaya yönelik çalışmalar olmalıdır. Kavun yetiştiriciliğinde kullanılacak ticari tohumlar, *Acidovorax citrulli* ile bulaşık olmamalıdır. Diğer kabakgil bitkilerinden kaynaklanabilecek kontaminasyonu engellemek amacıyla önlemler alınmalıdır. *Acidovorax citrulli*'nin epidemi oluşturabilmesi için 30.000 tohumdan sadece 1 tanesinin bile patojenle bulaşık olmasının yeterli olabildiği ve bu nedenle tohum sağlığı testlerinin oldukça önemli olduğu bildirilmiştir (Walcott ve ark., 2003). Ancak 1990'lı yıllardan günümüze pek çok fiziksel, kimyasal ve biyolojik tohum uygulamasının etkinliği araştırmacılar tarafından incelense de henüz patojenin tohumdaki inokulumunu tamamen yok edecek etkin bir uygulama bulunamamıştır (Oliveira ve ark., 2006). Bu durum *Acidovorax citrulli*'nin mücadelesinde kullanılacak yeni mücadele yöntemlerinin geliştirilmesini her zaman için gerekli kılmıştır. Bu kapsamda özellikle biyokontrol yeteneği olan mikroorganizmaların

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

keşfedilmesi ve bunların biyolojik tohum uygulamalarıyla patojen üzerindeki etkinliklerinin araştırılmasına yönelik çalışmaların yürütülmesi son derece önem arz etmektedir.

Bitkisel üretimde sentetik kimyasal pestisitlerin kullanımı çevre, ekoloji ve insan sağlığı üzerinde son derece önemli hasarlara neden olmaktadır. Bu nedenle sürdürülebilir tarımı destekleyen, sentetik kimyasallara alternatif olabilecek biyopestisitlerin geliştirilmesi son dönemin en popüler konularındandır. Bu bağlamda rizosfer bakteriler, sürdürülebilir tarım için kaynak olması ve bitkilerde besin kullanılabilirliğini artırırken aynı zamanda bitki hastalıklarının oluşumu ve kontrolünde baskılayıcı bir potansiyele sahip olması yönüyle önemli mikroorganizmalardır (Khalid ve ark., 2009; Bozkurt ve Soylu, 2019; Duman ve Soylu, 2019).

Bu çalışmada bazı rizosfer bakterilerin ve farklı patojenlere antagonistik etkileri kanıtlanmış bakteriyel izolatların, *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu kavun Bakteriyel Meyve Lekesi ve Fide Yanıklığı Hastalığı'na karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullardaki biyokontrol etkinlikleri ve etki mekanizmalarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada patojen bakteri izolatı olarak *Acidovorax citrulli* Taşçı izolatı kullanılmıştır (Selçuk, 2014)

Aday antagonist bakteri kültürleri, Adana ilinde karpuz, kavun, domates üretim alanlarından, Mersin ilinde okaliptüs (Karabucak Ormanı) ve Çam ağaçlarının (Gözne yaylası) bulunduğu bölgelerden, Konya ilinde kavun ve karpuz tarlasından alınan toprak örneklerinden izole edilmiştir. Bunların yanı sıra bakteriyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan 157 adet aday antagonist bakteri kültürü çalışmaya dahil edilmiştir.

Biyolojik tohum denemeleri Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümünde bulunan iklim odasında kurulmuştur. Tohum denemelerinde Dörtbudak Tohumculuk firmasından temin edilen, tohum ilaçlaması yapılmamış Kırkağaç çeşidine ait kavun tohumları kullanılmıştır. Torf olarak ise Klasmann Torf Potgrond P ürünü kullanılmıştır.

Topraktan Rizosfer Bakterilerinin İzolasyonu

Topraktan rizosfer bakterilerinin izole edilmesi amacıyla karpuz, kavun, domates, okaliptüs ve çam rizosferinden alınan toprak örnekleri filtre kağıtları üzerine serilerek kurutulmuştur. Kurutulan bu toprak örnekleri 2 mm kalınlığa sahip eleklerden geçirilerek yabancı cisimlerden arındırılmıştır. Ardından elenmiş topraklardan 25 g tartılarak içerisinde 250 ml salin buffer (%0.85 NaCl) bulunan erlenlere koyulmuştur. Sonrasında bu erlenler oda sıcaklığında 150 rpm hızda 2 saat çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Çalkalama işleminin ardından süspansiyonlardan seyreltme serileri (10^{-1} - 10^{-6}) hazırlanmıştır. Her bir seyreltmeden 100 µl alınarak içerisinde TSA (Tryptic Soy Agar) besiyeri olan petri kaplarına yayma yöntemi ile ekilmiştir (Johnson ve Curl, 1972). Bu petriler daha sonra 25 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda farklı koloni morfolojisine sahip olduğu belirlenen bakteriler saflaştırılmıştır. Bu bakteriler daha sonra aday antagonist çalışmalarında kullanılmak üzere içerisinde YDCA (Yeast Dekstroz Kalsiyum Karbonat Agar) besiyeri bulunan eğik deney tüplerine alınarak +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Topraktaki Toplam Bakteri Popülasyonunun Hesaplanması

Topraktaki toplam bakteri popülasyonunun hesaplanması amacıyla içerisinde 250 ml salin buffer bulunan şişelere 25 g toprak örneği koyulmuştur. Bu şişeler 150 rpm hızda 2 saat çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Elde edilen bu solüsyondan 1 ml alınarak içerisinde 9 ml salin buffer bulunan şişelere aktarılmış ve 10^{-6} 'ya kadar seyreltme serileri hazırlanmıştır. Daha sonra her bir seyreltmeden alınan 100 µl solüsyon TSA besi yerine konulmuş ve bir baget yardımıyla besiyeri üzerine yayılmıştır. Bu petriler 25 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda her bir seyreltme için petri kabında gelişen koloniler sayılmıştır. Elde edilen veriler üzerinden [(Koloni sayısı x Seyreltme örneği x 10 = 1 g topraktaki bakteri sayısı (koloni/g toprak)] formülüne göre toprak örneklerindeki popülasyon yoğunluğu hesaplanmıştır (Klement ve ark., 1990).

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

Rizosfer Bakterilerinin *In vitro*'da *Acidovorax citrulli*'ye Karşı Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi

Çalışmada aday antagonist bakterilerin antagonistik etkilerinin ve aktivitelerinin belirlenmesinde; antibiyosis, siderofor üretiminin belirlenmesi, indol asetik asit (IAA) üretme miktarları ve fosforu çözme yeteneklerinin belirlenmesi olmak üzere toplamda 4 farklı yöntem kullanılmıştır. Tüm bu yöntemlerin sonucunda *Acidovorax citrulli*'ye karşı etkili bulunan ve birden fazla etki mekanizmasına sahip olduğu belirlenen aday antagonistlerden tohum denemesinde kullanmak amacıyla seçimler yapılmıştır.

Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi: Aday antagonist bakterilerin antibakteriyel etkisinin belirlenmesinde ikili kültür testi kullanılmıştır (Mirik ve ark., 2008; Aktepe ve Aysan, 2023). Bu amaçla aday antagonistler TSA besiyerinde saf olarak geliştirilmiştir. Daha sonra bu kültürlerden alınan saf bakteriler, her bir petri kabında 3 farklı noktaya 120 derecelik açıyla inokule edilmiştir. Bu petri 25 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda 5.2×10^7 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanmış olan patojen süspansiyonu 24 saat geliştirilen aday antagonistlerin bulunduğu petrilere eşit uzaklıktan püskürtülmüş ve petrinin tamamının patojenle kaplanması sağlanmıştır. Her bir aday antagonist için 3 tekrarlı olacak şekilde deneme kurulmuştur. Kontrol petrilere sadece patojen *Acidovorax citrulli* püskürtülmüştür. Püskürtme işlemi tamamlanan petri 25 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda petri kabında oluşan inhibisyon zonları (mm) ölçülerek değerlendirilmeler yapılmıştır.

Siderofor Üretiminin Belirlenmesi: *Acidovorax citrulli*'ye antibakteriyel etkisi olduğu kanıtlanan bakterilerin siderofor üretme potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla Chrome Azurol-S Agar (CAS) besiyeri kullanılmıştır (Schwyn ve Neilands, 1997). Bu amaçla öncelikle antagonist bakteriler saf olarak TSA besiyerinde geliştirilmiştir. Saf olarak gelişen bu bakteriler steril öze yardımıyla Chrome Azurol-S Agar (CAS) içeren besiyerine 3 nokta ekim tekniğiyle inokule edilmiştir. Bu petri 25 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda antagonist bakteri etrafında oluşan sarımsı renkte bir hat oluşması durumunda

siderofor üretiminin pozitif olduğu belirlenmiştir. Deneme her antagonist için 3 tekrarlı olarak kurulmuştur.

Indol Asetik Asit (IAA) Aktivitesinin Belirlenmesi: Bir büyüme hormonu olan IAA üreten antagonistler bitkinin sağlıklı büyümesini sağlar ve bitkinin hastalıklara karşı direncini artırır. *Acidovorax citrulli*'ye antibakteriyel etkisi olduğu belirlenen antagonist bakterilerin IAA üretme yeteneklerinin tespit edilmesi amacıyla Salkowski yöntemi kullanılmıştır (Patten ve Glick, 2002). Bu yöntemde öncelikle antagonist bakteriler sıvı ortamda 48 °C'de geliştirilmiştir. Bu bakteri süspansiyonundan 500 µl alınarak içerisinde L-tryptophan bulunan steril LB besiyerine eklenmiştir. Bakteri içeren LB besiyeri 30 °C'de 4 gün boyunca çalkalayıcıda inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda deney tüpleri 5000 rpm'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen tüplerin üst kısmında bulunan süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine yaklaşık 40 µl fosforik asit eklenmiştir. Daha sonra 4 ml Salkowski çözeltisi (150 ml %98'lik H₂SO₄, 250 ml distile H₂O, 7.5 ml-0.5 M FeCl₃·6H₂O) içeren deney tüplerine hazırlanan bu karışım ilave edilmiştir. Bu tüpler oda sıcaklığında, karanlık ortamda 30 dk bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda bu çözeltiler spektrofotometrede 535 dalga boyunda okunarak absorbans değerleri tespit edilmiştir. Elde edilen bu değerler saf IAA çözeltilisinden elde edilen IAA konsantrasyon eğrisiyle karşılaştırılmış ve antagonist bakterilerin IAA üretim miktarları (µg/ml) tespit edilmiştir.

Fosforu Çözme Yeteneğinin Belirlenmesi: Fosforu çözerek bitkinin alımını kolaylaştıran dost bakteriler, bitki büyümesini teşvik eder ve bu sayede bitkilerin hastalıklara karşı dirençli olmasını sağlarlar.

Acidovorax citrulli'ye karşı antibakteriyel etkisi olduğu tespit edilen antagonist bakterilerin fosforu çözme potansiyellerinin belirlenmesi amacıyla Pikovskaya Agar (PVK) besiyeri hazırlanmıştır. Aday antagonistlerin 24 saatlik taze kültüründen steril öze ile alınmış ve PVK besiyerine her bir antagonist ayrı ayrı inokule edilmiştir. Bu petri 25 °C'de 7 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda petri kontrol edilmiş ve antagonist bakterilerin inokule edildiği bölgenin etrafında şeffaf zon oluşması durumunda test sonucu pozitif kabul edilmiştir (Pikovskaya,

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

1948). Deneme her antagonist için 3 tekrarlı olarak kurulmuştur.

Rizosfer Bakterilerinin Tohum Uygulaması Yöntemiyle Kavunda Fide Yanıklığı Hastalığı'na Etkisinin Belirlenmesi

Laboratuvar denemelerinde aday antagonistlerin *Acidovorax citrulli*'ye karşı antagonistik etkisi 4 farklı yöntemle (Antibiyosis, Siderofor Üretimi, IAA Üretimi, Fosforu Çözebilme Potansiyeli) testlenmiştir. *In vitro* çalışmaları sonucunda birden fazla etki mekanizmasıyla patojeni baskıladığı belirlenen 8 antagonistin, *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu hastalık şiddeti üzerindeki baskılayıcı etkileri tohum uygulaması yöntemiyle araştırılmıştır. Tohum denemeleri sonucunda bu 8 antagonist içerisinde en başarılı bulunan 2 antagonistle ikinci bir biyolojik tohum uygulama denemesi kurulmuştur.

Kavun tohumlarına patojenin bulaştırılması amacıyla, saf olarak geliştirilen *Acidovorax citrulli* kültürlerinden 10^8 hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan süspansiyonlar içerisine tohumlar konulmuş ve oda sıcaklığında 200 rpm'de 30 dakika süreyle çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra bu tohumlar ince tül süzgeçten geçirilerek steril kabin içerisinde kurutma kağıtlarına alınmış ve 1 saat kurumaya sağlanmıştır. Tohumlara patojen bulaştırma aşamasından sonra antagonist bakterilerin saf kültürleri TSA besiyerinde geliştirilmiş ve bu kültürlerden 10^8 hücre/ml yoğunluğunda antagonist süspansiyonları hazırlanmıştır. Bu antagonist içeren süspansiyonlar içerisine tohumlar konulmuş ve 150 rpm hızda 30 dakika boyunca çalkalanmıştır. Bu sürenin sonunda tohumlar ince tül süzgeçten geçirilerek süzölmüş ve steril kabin içerisinde kurutma kağıtlarında 1 saat kurumaya bırakılmıştır. Negatif kontrol tohumlar steril saf su içerisinde çalkalanırken pozitif kontrol sadece patojen bulaştırılmış tohumlardan oluşmuştur.

Antagonist uygulaması yapılmış hastalıklı kavun tohumları, steril torf içeren plastik kaplara ekilmiş ve iklim odasında 28 °C'de %85 nem varlığında yetiştirilmiştir. Birinci denemede her bir antagonist bakteri için deneme 3 tekrarlı olarak kurulmuştur. Her tekrarda 35 adet tohum, her antagonist bakteri için toplamda 105 adet tohum kullanılmıştır. İkinci denemede aynı şekilde 3 tekrarlı kurulmuş olup her tekrarda 50 adet tohum, her antagonist için toplamda 150 adet tohum

kullanılmıştır. Kavun tohumları çimlendikten sonra günlük olarak hastalık çıkışı takip edilmiş ve bitkilerin temel bakım işlemleri rutin olarak yapılmıştır. Günlük yapılan gözlemler sonucunda pozitif kontrol bitkilerin büyük çoğunluğunda hastalık belirtileri görüldüğünde deneme sonuçlandırılmıştır.

Değerlendirme

Antagonist bakteriyel izolatların *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu hastalık şiddeti üzerine etkisinin tespit edilmesi amacıyla Çizelge 1'de verilen 0-7 skalasına göre kotiledon yapraklardaki lekelenme oranı dikkate alınarak her bir bitki için skala değeri belirlenmiştir (Horuz, 2021). Elde edilen bu skala değerleri üzerinden Tawsend-Heuberger formülüne göre hastalık şiddeti (%) hesaplanmıştır. Antagonist bakterilerin, hastalık şiddetini azaltma oranı ise %Abbott formülüne göre belirlenmiş ve elde edilen veriler kullanılarak LSD çoklu karşılaştırma testiyle uygulamaların birbirinden farklılığı saptanmıştır.

Çizelge 1. Hastalık Şiddetinin Belirlendiği 0-7 skalası (Horuz, 2021).

Skala	Hastalık Durumu
0	Hastalık belirtisi yok
1	Yaprağın % 1-10'unda lekelenme
2	Yaprağın % 11-20'sinde lekelenme
3	Yaprağın % 21-35'inde lekelenme
4	Yaprağın % 36-50'sinde lekelenme
5	Yaprağın % 51-70'inde lekelenme
6	Yaprağın % 71-85'inde lekelenme
7	Yaprağın % 86-100'ünde çökme ve ölüm

Başarılı Antagonist Bakterilerin Tanınması

Bitki bakteriyolojisinde klasik (farklı besiyerlerinde koloni morfolojisi, LOPAT testleri, potasyum hidroksit ile gram reaksiyon testi vd.), serolojik (ELISA, Aglütinasyon vd.) ve moleküler testlere (PCR, Real Time PCR vd.) dayanan birçok tanılama tekniği bulunmaktadır. Bu testler çeşitli biyokimyasal kriterler, farklı içeriğe sahip besiyerleri, maliyetli kimyasallar ve zaman alıcı prosedürler gerektirmektedir. Buna karşılık MALDI TOF MS daha basit metodolojik yaklaşım içeren, teşhiste kullanılan malzeme ve zamanı önemli ölçüde azaltan ve dakikalar içerisinde sonuç verebilen başarılı bir tanı yöntemidir (Wieser ve ark., 2012).

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

Bakteriyel antagonistlerin kavunlarda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'na etkisinin araştırıldığı bu çalışma kapsamında, başarılı bulunan antagonist izolatların kesin tanısı Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nde Prof. Dr. Soner Soylu danışmanlığında Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI TOF MS) analiz yöntemi kullanılarak yapılmıştır. MALDI TOF MS tanı yöntemi, temel olarak mikroorganizmalarda bulunan spesifik peptid ve proteinlerin kütle spektrometresi analizine dayanır. Analiz amacıyla saf olarak besiyerlerinde geliştirilen bakteri kolonileri matrix solüsyonu içeren target adını verdiğimiz metal tabakalara koyulur ve tabakalar cihaza yerleştirilir. Daha sonra plakalardaki bu bölgelerde lazer atışıyla protein moleküllerinin iyonizasyonu yani harekete geçirilmesi sağlanır. Hareketli, uçuşan protein molekülleri dedektör sayesinde toplanarak sinyaller kayıt altına alınır. Daha sonra bu veriler bilgisayar yazılımında bulunan kütüphane verileri ile karşılaştırılarak mikroorganizmaların kesin tür tanıları yapılır (Ahmad ve ark., 2012; Aktan ve Soylu 2020).

Bulgular ve Tartışma

Topraktan Rizosfer Bakterilerin İzolasyonu

Bakteriyel Fide Yanıklığı ve Meyve Lekesi Hastalığı etmeni *Acidovorax citrulli*'nin biyolojik mücadelesinde kullanılabilir, antagonistik potansiyeli olan bakteriyel izolatları keşfedebilmek amacıyla Konya ilinde kavun ve karpuz, Adana ilinde kavun, karpuz ve domates, Mersin ilinde okaliptüs ve çam ağacı rizosferinden toprak örnekleri alınmış ve bu örneklerden bakteriyolojik yöntemlere göre izolasyonlar yapılmıştır.

Adana, Mersin, Konya olmak üzere 3 ilin 7 farklı bölgesinden alınan toprak örneklerinden 228'i bakteri, 13'ü maya olmak üzere toplamda 241 izolat saflaştırılmıştır. Çizelge 2'de görüldüğü üzere bu izolatların 59'u karpuz, 63'ü kavun, 23'ü domates, 45'i okaliptüs ve 51 adedi çam rizosferinden izole edilmiştir.

Çizelge 2. Toprak Örneklerinden İzole Edilen Bakteri ve Maya Sayıları

İl	Rizosfer Bölgesi	Topraktan Elde Edilen İzolat Sayısı
Adana	Kavun	47 Bakteri, 6 Maya
	Karpuz	45 Bakteri, 1 Maya
	Domates	20 Bakteri, 3 Maya
Mersin	Okaliptüs	44 Bakteri, 1 Maya
	Çam	49 Bakteri, 2 Maya
Konya	Kavun	10 Bakteri, 0 Maya
	Karpuz	13 Bakteri, 0 Maya
Toplam		228 Bakteri + 13 Maya=241 izolat

Rizosfer örneklerinden yapılan izolasyonlar sonucunda petri kaplarında, farklı morfolojik özelliklere sahip çok sayıda bakteri ve maya gelişimi görülmüştür. Adana'da kavun ve karpuz yetiştirilen üretim alanlarından alınan toprak örneklerinde pembe, kırık beyaz ve beyaz renkte bakteriler daha yoğun olarak gelişmiştir. Bu bakterilerden kırık beyaz ve beyaz renkte olanların çoğunlukla mat ve simetrik olmayan yapıda olduğu belirlenirken pembemsi olanların parlak ve düzgün şekilli bir görünüme sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca maya gelişiminin kavun örneğinde daha yoğunken karpuz örneğinde daha sınırlı olduğu görülmüştür. Buna karşılık Adana'dan alınan örneklerin aksine Konya'dan alınan karpuz ve kavun örneklerinde biyoçeşitliliğin daha az olduğu belirlenmiş ve bu örneklerde çoğunlukla aynı tipte bakteri kolonilerinin geliştiği görülmüştür. Bu kolonilerin genellikle mat veya parlak kremi beyaz renkte olup ağırlıklı olarak düzgün şekillere sahip olduğu belirlenmiştir. Bunların yanı sıra Konya örneklerinde maya gelişiminin görülmediği tespit edilmiştir. Mersin ilinden alınan çam ve okaliptüs örneklerinde bakteri gelişimi mayalara göre daha fazla olmuştur. Okaliptüs örneğinde ağırlıklı olarak kremi, beyaz renkte, sünme eğiliminde olan parlak renkte bakteri kolonileri görülürken çam örneğinde sarı, turuncu, pembe, beyaz ve bunların tonları olmak üzere çok farklı renklerde; simetrik, ortası bombeli parlak, beyaz üzeri kabartmalı, dairesel opak görünümlü gibi çeşitli tip ve şekillerde bakteri gelişimleri görülmüştür.

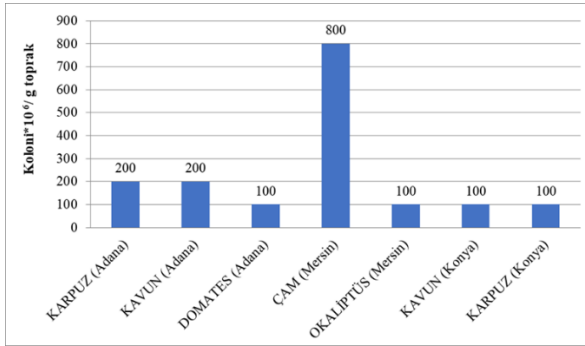
Topraktaki Toplam Bakteri Popülasyonu

Tarımsal uygulamaların (toprak işleme, pestisit ve kimyasal gübre kullanımı vd.) yaygın olarak

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

kullanıldığı kavun, karpuz ve domates üretim alanları ile tarımsal üretimin yapılmadığı bilinen, doğal bir dengeye sahip çam ve okaliptüs ormanlarının bulunduğu bölgelerden toprak örnekleri alınmış ve bu toprak örneklerindeki toplam bakteri popülasyonları tespit edilmiştir.

Rizosfer topraklarındaki toplam bakteri popülasyonlarının belirlenmesi amacıyla yapılan analizler sonucunda toprak örneklerindeki toplam bakteri popülasyonunun 100×10^6 ile 800×10^6 koloni/g toprak arasında değiştiği tespit edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. Toprak Örneklerindeki Toplam Bakteri Popülasyonu

Çam toprağı, 800×10^6 koloni/g toprak ile en fazla popülasyona sahip örnek olarak belirlenmiştir. Bunu 200×10^6 koloni/g toprak ile kavun (Adana) ve karpuz (Adana) örnekleri izlemiştir. Domates, okaliptüs, kavun (Konya) ve karpuz (Konya) örnekleri ise 100×10^6 koloni/g toprak ile en az popülasyona sahip toprak örnekleri olarak tespit edilmiştir.

Toprak biyoçeşitliliğinin zenginliği ve mikrobiyal toplulukların popülasyonu, toprak verimliliği ve bitki sağlığı üzerinde oldukça önemli etkilere sahiptir. Toprakta bulunan mikrobiyotaya, karbon ve azot döngüsü, organik bileşiklerin ayrışması, bitkilerde besin kullanılabilirliği ve bitki hastalıklarının baskılanması gibi birçok biyolojik süreçle bağlantılıdır. Özellikle modern konvansiyonel tarımın yaygınlaşmasıyla kimyasal gübreler ve pestisitlerin kullanımlarındaki artış, toprak mikrobiyotasının azalmasına ve toprakta bulunan organik maddenin kalitesinin bozulmasına neden olarak mikrobiyal popülasyonu negatif yönde etkilemektedir

(Thiele-Bruhn ve ark., 2012). Bu konu üzerine yürütülen bir çalışmada Pampulha ve Oliveira (2006), %60 bromoxynil+%3 prosulfuron içeren herbisit kombinasyonunun, dehidrogenaz aktivitesi üzerinde etkili olarak topraktaki mikrobiyal popülasyonun azalmasına neden olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmaya benzer şekilde Adebayo ve ark. (2007), Thiodan ve Karate ticari isimli insektisitlerin topraktaki fungus, aktinomiset ve protozoa sayısında düşüşe neden olduğunu rapor etmiştir.

Bu çalışmaları destekleyici nitelikte sonuçlar elde ettiğimiz bu tez çalışmasında herhangi bir tarımsal işleme ve kimyasala maruz kalmadığı bilinen çam ağacı rizosferinden alınan topraktaki bakteri popülasyonunun, tarımsal üretim yapılan alanlardan alınan toprak örneklerine göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Çam toprağının organik madde içeriğinin kaliteli olması, çam ağacının köklerinden çeşitli sekonder metabolitlerin salgılanması ve toprak yapısının bozulmasına yol açacak herhangi bir tarımsal uygulamanın yapılmaması bu popülasyonunun artmasını teşvik eden bazı unsurlar arasında sayılabilir.

Rizosfer Bakterilerinin *In vitro*'da *Acidovorax citrulli*'ye Karşı Antagonistik Etkileri

Kavun, karpuz, domates, okaliptüs ve çam ağacının rizosfer bölgesinden elde edilen 241 adet aday antagonist bakteriyel izolat ile daha önceki çalışmalarda bazı patojenlere karşı antagonistik etkisi kanıtlanmış 157 adet antagonist bakterinin *in vitro* koşullarda *Acidovorax citrulli*'ye karşı antagonistik ve bitki gelişimini teşvik eden etki mekanizmaları 4 farklı yöntemle (antibiyosis, siderofor üretme potansiyeli, IAA üretimi, fosfatı çözme yeteneği) araştırılmıştır.

Antibakteriyel Etki: Antibakteriyel etkisi araştırılan 398 aday antagonistten sadece 38 tanesinin *Acidovorax citrulli*'ye karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu izolatlar petri kaplarında 0.3-7.7 mm aralığında inhibisyon zonu oluşturmuştur. Toplamda 398 aday antagonist bakteri ile yürütülen ikili kültür testinde 7.7 mm inhibisyon zonu ile OG 1-2, en iyi etkiyi gösteren izolat olarak tespit edilmiştir. Bunu sırasıyla 7.0, 5.3 ve 4.3 mm inhibisyon zonu ile OG 1-2, Y17 ve Y28 isimli izolatlar izlemiştir. Öte

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

yandan Y90, Y8, Y65, Y13 ve OG 7-7 kodlu izolatlar patojenin gelişmesine fırsat vermeyerek petri kabını hızlı bir şekilde kaplamıştır.

Siderofor Üretme Yeteneği: Demir, çeşitli toprak türlerinde bol miktarda bulunan temel bir mikro besin elementi olmasına rağmen genellikle toprakta çoğu bitki ve diğer organizmalar tarafından kullanıma elverişli olmayan kompleks bir yapıda (Fe^{+3}) bulunur. Rizosfer bakterileri tarafından üretilen sideroforlar, kompleks yapılu bu moleküllerin çözünmesini sağlayarak demiri bitkiler için alınabilir forma (Fe^{+2}) dönüştürmektedir. Böylece sideroforlar, bitkilerde demir ihtiyacının giderilmesine yardımcı olmaktadır (Arora ve ark., 2013; Boiteau ve ark., 2016). Bununla birlikte demirin kısıtlı bulunduğu ortamlarda siderofor üreten antagonist mikroorganizmalar ve fitopatojenler arasında demir için rekabet oluşmaktadır. Ferrik demire bağlanma eğiliminde olan mikrobiyal sideroforlar, fitopatojenlerin demire erişimini sınırlayarak patojen popülasyonunun azalmasına neden olur ve böylece bitkilerde hastalık oluşumu ve gelişimini dolaylı olarak azaltabilmektedir (Beneduzi ve ark., 2012; Saha ve ark., 2016).

CAS besiyeri kullanılarak yapılan *in vitro* testler sonucunda 38 bakteriyel izolatın sadece 15 tanesinin siderofor üretme yeteneğine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu 15 antagonist bakteri etrafında ortalama 0.67-2.67 mm aralığında sarımsı bir hat oluşmuştur. Y57, Y28 ve Y32 isimli bakteriler 2.67 mm sarı hat ile siderofor üretme potansiyeli en yüksek bakteriyel izolatlar olarak belirlenmiş ve bunları 2.33 mm ile Y90 izlemiştir. Y49 ise 0.67 mm ile siderofor üretme potansiyeli en düşük izolat olarak belirlenmiştir.

Bitki büyümesini destekleyen bakteriler (PGPB) olarak bilinen, tohum ve kök gibi bitki organlarına uygulandığında bitkilerde gelişmeyi teşvik eden, bitki hastalıklarının baskılanmasında önemli rolleri olan birçok *Pseudomonas* türü vardır. Birçok araştırmacı *Pseudomonas* cinsi bakterilerin bitki hastalıklarının baskılanmasında yaygın olarak kullandıkları mekanizmalardan birinin pyoverdin ve pyochelin gibi sideroforların üretimi olduğunu bildirmiştir (Kloepper ve ark., 1980). Lim ve ark. (2002) tarafından yürütülen bir çalışmada *Pseudomonas fluorescens* GL20 isimli rizobakterinin fasulyelerde *Fusarium solani*'nin

neden olduğu Kök Çürüklüğü Hastalığı'nı kayda değer düzeyde baskıladığını ve aynı zamanda bitki büyümesini teşvik ettiğini bildirmiştir. Başka bir çalışmada ise Wensing ve ark. (2010), *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*'nin neden olduğu Soya Fasulyesinde Bakteriyel Yanıklık Hastalığı'nın biyokontrolünde, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 22d/93'ün etkili olduğunu bildirmiş ve bu antagonist bakterinin önemli düzeyde siderofor ürettiğini rapor etmiştir. *Pseudomonas* cinsinin yanı sıra *Rhizobium*, *Azotobacter* ve *Azospirillum* gibi birçok bakteri cinsine ait çeşitli bakterilerin de biyokontrol etki mekanizmaları sideroforlardır. Örneğin bir çalışmada, hidroksamat tipi siderofor üreten *Azotobacter chroococcum* RRLJ 203'ün *Fusarium oxysporum*, *F. solani* ve *F. moniliforme* gibi birçok fungal patojen üzerinde biyokontrol etkisi olduğu bildirilmiştir (Saikia ve Bezbaruah, 1995).

Indol Asetik Asit (IAA) Üretme Miktarı:

Fitohormonlar, bitkilerde hücre genişlemesi ve bölünmesi, tohum çimlenmesi, çiçeklenme, kök oluşumu, dormansi ve yaprak dökülmesi gibi birçok hücresel ve fizyolojik süreci düzenlemektedir (Lwin ve ark., 2012). Bu hormonların en önemlileri arasında yer alan oksinler; indol, naftalen, fenoksi ve benzol olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır. Indol grubuna dahil olan ve bitkilerde doğal bir şekilde üretilebilen Indol Asetik Asit (IAA), özellikle tepe tomurcukları ve kök uçları gibi meristematik dokularda sentezlenerek bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi teşvik etmektedir (Seçer, 1989). Bu sayede IAA, bitkilerde dayanıklılığı artırarak dolaylı yoldan hastalık oluşumunun ve gelişiminin azaltılmasını sağlayabilmektedir.

İkili kültür testleri sonucunda *Acidovorax citrulli*'ye karşı antibakteriyel etkisi olduğu saptanan 38 bakteriyel izolatın IAA üretme aktivitesi, Salkowski yöntemi uygulanarak hazırlanmış bakteri içeren çözeltilerin spektrofotometrede okunmasıyla analiz edilmiştir. Analiz sonucunda bakteriyel izolatların IAA üretme miktarları ($\mu\text{g/ml}$) tespit edilmiştir. Indol Asetik Asit (IAA) üretim miktarının belirlenmesi amacıyla yapılan analizler sonucunda 27 izolatın düşük miktarda (3.6-26.2 $\mu\text{g/ml}$) IAA ürettiği tespit edilirken 11 izolatın yüksek miktarda (156.8-170.5 $\mu\text{g/ml}$) IAA ürettiği belirlenmiştir. En yüksek IAA üretim miktarı 170.5 $\mu\text{g/ml}$ ile Y90, Y65, Y63, Y61, Y13, OG 7-7, OG 1-2, OG

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

1-10, AZ 10(6)2 ve B isimli izolatlarda görülmüştür. Bunları 156.8 µg/ml üretim miktarı ile Y28 izlemiştir. Y62 ve Y14 ise sırasıyla 5.5 ve 3.6 µg/ml konsantrasyonla en az IAA üreten izolatlar olarak belirlenmiştir.

Çeşitli ülkelerden farklı araştırmacılar tarafından yürütülen birçok çalışmada, bazı rizosfer bakterilerinin IAA üretme yoluyla farklı bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi teşvik ettiği bildirilmiştir (Aktan ve Soylu, 2020). Reetha ve ark. (2014), soğan rizosferinden izole ettikleri ve IAA üretme yeteneğine sahip olduğunu belirledikleri *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas fluorescens*'in, soğan yumrularına uygulanmasının bitkilerde kök gelişimini teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise Velusamy ve ark. (2013), rizosferden elde ettikleri PDY7 isimli izolatın *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*'nin neden olduğunu Çeltik Bakteriyel Yanıklığı Hastalığı'nı %51.88 oranında baskıladığını belirlemiş ve bununla birlikte *P. fluorescens* olarak tanımlanan PDY7'nin IAA üretme yoluyla çeltik bitkilerinde büyümeyi desteklediğini rapor etmişlerdir.

Fosforu Çözme Yeteneği: Fosfor, bitkiler için azottan sonra ikinci en önemli bitki besin elementidir. Bitkilerde çeşitli fizyolojik ve biyolojik süreçlerde (hücre bölünmesi, sinyal iletimi, fotosentez vd.) önemli rolleri olan fosforun %95-99'u genellikle toprakta çözünemeyen formda bulunur ve bu nedenle bitkiler fosforu verimli bir şekilde kullanamaz (Vassilava ve ark., 1998). Organik fosfor, birçok toprakta toplam fosforun büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Ancak bitkiler fosforu, genellikle inorganik formda kullanabilirler. Organik fosfor bileşiklerinin mineralizasyonu genellikle fosfataz enzimleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Topraktaki fosfataz aktivitesinin ana kaynağının mikrobiyal kökenli olduğu düşünülmektedir. Bitkiler için fosforun kullanılabilirliğini arttırmak amacıyla *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Enterobacter* ve *Bacillus* gibi birçok bakteri cinsi, organik asit üretme yoluyla fosforu bitkiler için alınabilir forma (HPO_4^{2-} ve $H_2PO_4^-$) dönüştürür ve böylece bitkilerde büyüme ve gelişmeyi teşvik eder. Bu fonksiyona sahip bakteriler 'Fosfat Çözücü Bakteriler (PBS)' adlandırılmaktadır (Singal ve ark., 1994). Bitki büyümesini teşvik eden PSB'ler; rekabetçi kök kolonizasyonu, litik enzimler ve allelokimyasalların sentezi ve virülenslik

faktörlerinin detoksifikasyonu gibi çeşitli mekanizmalarla fitopatojenlerin neden olduğu bitki hastalıklarını baskı altına alırlar ve ayrıca bitkilerde hastalıklara karşı direnci uyarabilmektedir (Sülü ve ark., 2016; Paul ve Sinha, 2017; Soylu ve ark., 2021; Kara ve Soylu, 2022; Soylu ve ark., 2022). Mohammed ve ark. (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada fosforu çözdüğü bilinen *Pseudomonas fluorescens*'in lipaz, proteaz ve α -amilaz üreterek *Ralstonia solanacearum*'un metabolik aktivitesine zarar verdiği bildirilmiş ve bu antagonistin uygulandığı domates bitkilerinde *R. solanacearum*'un neden olduğu solgunluk belirtilerinin azaldığı rapor edilmiştir.

Bu çalışma kapsamında, *Acidovorax citrulli*'ye karşı antibakteriyel etkisi ispatlanmış 38 bakteriyel izolatın fosforu çözme yeteneği Pikovskaya Agar besiyeri kullanılarak testlenmiştir. *In vitro*'da yürütülen denemede, 38 izolattan hiçbirinin fosforu çözme yeteneğine sahip olmadığı tespit edilmiştir.

Rizosfer Bakterilerinin Tohum Uygulaması Yöntemiyle Kavunda Fide Yanıklığı Hastalığı'na Etkisi

Çalışmanın son kısmında ise *in vitro* denemeleri sonucunda üç farklı etki mekanizmasına (Antibiyosis, Siderofor üretme ve IAA üretme) sahip olduğu belirlenen Y28, Y61, Y90, Y13, Y65, OG 1-2 ve OG 7-7 isimli izolatlar ile rizosferden izole edilen bakteriler içerisinde en yüksek antibakteriyel etkiye sahip izolat olan Kavun 10'un kavunlarda Fide Yanıklığı Hastalığı'nı baskılama potansiyeli tohum uygulaması yöntemiyle araştırılmıştır.

Birinci tohum denemesinde, *Acidovorax citrulli* ile bulaşık kavun tohumlarına 8 farklı antagonist bakteriyel izolat uygulanmıştır. Bu bakteriyel izolatlar, hastalık şiddetini %0.48 ile %39.45 aralığında değişen oranlarda azaltmıştır. İstatiksel olarak değerlendirildiğinde, en başarılı istatistiksel grupta yer alan Y28 ve Y90 hastalığı sırasıyla %39.45 ve %34.61 oranında baskılamıştır. İkinci istatistiksel grubu %11.38 etki oranıyla Y61 oluştururken diğer etkili grupta yer alan OG 7-7'de bu oran %9.94 olarak tespit edilmiştir. Diğer 4 izolat (Kavun 10, Y13, OG 1-2 ve Y65) ise hastalığı her ne kadar belirli düzeylerde engellese de kontrole göre

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

uygulamalar arasında istatistiki olarak fark saptanamamıştır (Çizelge 3; Şekil 2).

Çizelge 3. Antagonist Bakterilerin Kavunda Fide Yanıklığı Hastalığı'na Etkisi (Birinci Deneme)

Uygulamalar	Hastalık Şiddeti	% Etki
Y28	33.4 a*	39.45
Y90	36.7 a	34.61
Y61	52.6 b	11.38
OG 7-7	53.6 bc	9.94
Kavun 10	54.8 bcd	8.15
Y13	55.4 bcd	7.37
OG 1-2	58.0 bcd	3.46
Y-65	60.1 cd	0.48
Pozitif Kontrol	60.4 d	

LSD (0.05): 3.89; CV:4.9

*Farklı harfi içeren ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır.



Şekil 2. Y90, Y28, Pozitif ve Negatif Kontrol Uygulamalarının Hastalık Şiddetine Etkisi (Birinci Deneme)

Birinci tohum denemesinde en başarılı uygulamalar olarak tespit edilen Y90 ve Y28 ile kurulan ikinci tohum denemesinde, bu antagonist bakteriyel izolatların Kavunda Fide Yanıklığı Hastalığı'nı engelleme potansiyeli bir kez daha doğrulanmıştır. İstatistiki olarak incelendiğinde, her iki uygulamanın da kontrole göre farklı etkiler göstererek hastalığı kayda değer düzeyde

baskıladığı tespit edilmiştir. Y90 hastalık şiddetini %46.37 oranında azaltarak en başarılı uygulama olarak belirlenirken Y28'de bu oran %18.97 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Antagonist Bakterilerin Kavunda Fide Yanıklığı Hastalığı'na Etkisi (İkinci Deneme)

Uygulamalar	Hastalık Şiddeti	% Etki
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> subsp. <i>plantarum</i> Y-90	22.9 a*	46.37
<i>Providencia rettgeri</i> Y-28	34.6 b	18.97
Pozitif Kontrol	42.7 c	

LSD (0.05): 6.83; CV:11.2

*Farklı harfi içeren ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır

Gerek fillozfer gerekse rizosfer bakterilerinin *Acidovorax citrulli*'nin neden olduğu Bakteriyel Meyve Lekesi ve Fide Yanıklığı Hastalığı'nın biyokontrolünde potansiyel vaat ettiği birçok çalışma ile kanıtlanmıştır. Özellikle *Bacillus* cinsine ait *Bacillus cereus* (Oliveira ve ark., 2006), *Bacillus megaterium* pv. *cerealis* (Santos ve ark., 2006), *Bacillus amyloliquefaciens* (Jiang ve ark., 2015), *Bacillus subtilis* (Fan ve ark., 2017; Sülü, 2020) ve *Bacillus methylotrophicus* (Horuz ve Aysan, 2018b) gibi birçok tür bu hastalığın biyokontrolünde etkin antagonistlerdir.

Bacillus amyloliquefaciens'in karpuz bitkilerinde Bakteriyel Meyve Lekesi ve Fide Yanıklığı'nın biyokontrolünde kullanılabileceğine dair ilk rapor Jiang ve ark. (2015) tarafından verilmiştir. Bu çalışma kapsamında ise *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* ve *Providencia rettgeri* isimli bakteriyel izolatların kavun bitkilerinde biyokontrol bakterisi olarak kullanılabileceği ilk kez ortaya konmuştur.

Başarılı Antagonistlerin Tanısı

Acidovorax citrulli'ye karşı başarısı ispatlanmış Y90 ve Y28 isimli bakteriyel antagonistlerin tanısı MALDI TOF MS yöntemiyle yapılmıştır. Tanı sonucuna göre Y28 izolatı 2.146 benzerlik indeksiyle *Providencia rettgeri* olarak tanımlanmıştır. Y90'nun benzerlik indeksi değeri

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

1.884 olarak belirlenerek *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* ile tam eşleşme sağladığı belirlenmiştir.

Sonuç ve Öneriler

1980'li yıllardan günümüze kadar Bakteriyel Meyve Lekesi ve Fide Yanıklığı Hastalığı'nın mücadelesi amacıyla peroksiasetik asit (Hopkins ve ark., 2003), kitosan uygulaması (Li ve ark., 2013), laktik asit ve sıcak su uygulaması (Selçuk, 2014), rizobakterilerinin (Adhikari ve ark., 2017; Sülü, 2020) ve fillosfer bakterilerinin kullanımı (Horuz ve Aysan, 2018a) gibi birçok yöntem araştırılmıştır. Ancak patojenin tohum kaynaklı inokulumunu tamamen yok edecek etkili bir yöntem bulunamamış ve hastalık hala dünya çapında özellikle kavun ve karpuz üretim alanlarında tehdit unsuru olmaya devam etmektedir. Bu nedenle bu tez çalışması kapsamında, rizosfer bakterileri ile farklı patojenlere antagonistik etkileri kanıtlanmış bakterilerin, *Acidovorax citrulli*'ye karşı antagonistik etkileri ile etki mekanizmaları incelenmiş ve sonrasında *in vitro*'da etkinliği ispatlanmış antagonistlerin biyolojik tohum uygulamalarıyla hastalık şiddetine etkisi araştırılmıştır.

Biyokontrol etkilerin yanı sıra rizosfer toprak örneklerindeki toplam bakteri popülasyonları tespit edilmiştir. Çam toprağında, tarımsal üretimin yapıldığı toprak örneklerine (kavun, karpuz ve domates) kıyasla daha fazla bakteri popülasyonu bulunmuş ve biyoçeşitliliğin daha fazla olduğu görülmüştür. Çam ağacının köklerinden salgılanan metabolitlerin toprak mikrobiyotasını etkilemesi, bu toprağın tarımsal işlem ve kimyasallara maruz kalmaması dost mikroorganizmaların çeşitliliğini ve popülasyonunu teşvik eden faktörlerdendir.

Kavun, karpuz, domates, çam, okaliptüs rizosferinden alınan toprak örneklerinden izole edilen 241 izolat ve çeşitli patojenlere karşı antagonistik özellikler gösteren 157 bakteriyel izolat olmak üzere toplamda 398 aday antagonist izolat ile kurulan ikili kültür testinde sadece 38 izolatın *Acidovorax citrulli*'ye karşı antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır. Bu 38 izolatın *in vitro* koşullarda siderofor üretme, IAA üretme miktarı ve fosforu çözme yeteneklerinin araştırıldığı deneyler sonucunda, 38 izolattan 15'inin

siderofor ürettiği belirlenirken hiçbirinin fosforunu çözemediği saptanmıştır. Bununla birlikte 10 izolatın ise yüksek miktarda IAA ürettiği tespit edilmiştir.

In vitro deneyleri sonucunda başarılı bulunan 8 antagonistle kurulan birinci tohum denemesinde, bakteriyel izolatlar hastalık şiddetini %0.48-39.45 aralığında baskılamış ve en iyi etki Y28 ve Y90 uygulamalarında görülmüştür. Birinci tohum denemesinde %40'a yakın oranda hastalık şiddetini azaltan Y90 ve Y28 ile kurulan ikinci tohum denemesinde ise %46.37 etki oranıyla Y90 en başarılı uygulama olarak tespit edilmiştir. MALDI TOF MS yöntemiyle yürütülen tanı çalışmalarında, Y28 kodlu izolat *Providencia rettgeri* ve Y90 kodlu izolat ise *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* olarak tanılanmıştır.

Bu çalışma kapsamında, *Providencia rettgeri* ve *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, kotiledon yapraklardaki enfeksiyonların kontrol altına alınmasında kayda değer düzeyde başarılı bulunmuştur. Ancak bu çalışmayı, etkili bulunan antagonistlerin gerçek yaprak ve meyve enfeksiyonlarına olan etkisinin araştırılmasına yönelik çalışmalar izlemelidir. Ayrıca etkili bulunan biyolojik etmenlerin daha kapsamlı olarak araştırılarak farklı etkiye sahip antagonistlerle karışımlarının Bakteriyel Meyve Lekesi ve Fide Yanıklığı Hastalığı'nı baskılama potansiyelleri detaylı olarak incelenmelidir. Bunların yanı sıra *Acidovorax citrulli* ile mücadelede etkili olabilecek yeni yerel antagonistlerin keşfedilmesine yönelik çalışmaların yürütülmesi fayda sağlayacaktır. Bu bağlamda bu çalışma, gelecekte yapılacak akademik çalışmalara yol gösterici nitelikte olması yönüyle oldukça önemlidir.

Teşekkür

Başarısı kanıtlanan antagonist bakteriyel izolatların tanılanmasında değerli katkılar sunan Prof. Dr. Soner Soylu'ya (Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü) teşekkür ederiz.

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

Kaynaklar

- Adebavo, T. A., Oio, O. A., Olaniran, O. A. (2007) Effect of two insecticides Karate and Thiodan on population dynamics of four different soil microorganisms. *Research Journal of Biological Sciences*, 2(5): 557-560.
- Adhikari, M., Yadav, D. R., Kim, S.W., Um, Y. H., Kim, H. S., Lee, S.C., Song, J.Y., Kim, H. G., and Lee, Y. S. (2017) Biological control of bacterial fruit blotch of watermelon pathogen (*Acidovorax citrulli*) with rhizosphere associated bacteria. *The Plant Pathology Journal*, 33(2): 170–183.
- Ahmad, F., Babalola, O. O., and Tak, H. I. (2012) Potential of MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid detection technique in plant pathology: identification of plant-associated microorganisms. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404: 1247-1255.
- Aktan, Z.C., ve Soylu, S. (2020) Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(3): 641-654.
- Aktepe, B. P., and Aysan, Y. (2023) Biological control of fire blight disease caused by *Erwinia amylovora* on apple. *Erwerbs-Obstbau*, 65(4): 645-654
- Anonim (2023) TUIK. <https://data.tuik.gov.tr> [Erişim Tarihi:16.12.2023].
- Arora, N. K., Tewari, S., Singh, R. (2013) Multifaceted plant-associated microbes and their mechanisms diminish the concept of direct and indirect PGPRs. *Plant Microbe Symbiosis: Fundamentals and Advances*. New Delhi: Springer India, 411-449.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., Passaglia, L.M. (2012) Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35: 1044–1051.
- Block, C. C., and Shepherd, L. M. (2008) Long-term survival and seed transmission of *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* in melon and watermelon seed. *Plant Health Progress*, 9(1): 36.
- Boiteau, R. M., Mende, D. R., Hawco, N. J., Mellvin, M. R., Fitzsimmons, J. N., Saito, M. A., Sedwick, P. N., Delong, E. F., and Repeta, D. J. (2016) Siderophore-based microbial adaptations to iron scarcity across the eastern Pacific Ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(50): 14237-14242.
- Bozkurt, İ. A. ve Soylu S. (2019) Elma kök uru hastalığı etmeni *Rhizobium radiobacter*'e karşı epifit ve endofit bakteri izolatlarının antagonistik belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16: 348-361
- Burdman, S., and Walcott R. (2012) *Acidovorax citrulli*: generating basic and applied, knowledge to tackle a global threat to the cucurbit industry. *Molecular Plant Pathology*, 13(8): 805–815.
- 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.
- Fan, H., Zhang, Z., Li, Y., Zhang, X., Duan, Y., Wang, Q. (2017) Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1973.
- Frankle, W. G., Hopkins, D. L. and Stall, R. E. (1993) Ingress of the watermelon fruit blotch bacterium into fruit. *Plant Disease*, 77: 1090-1092.
- Hopkins, D. L., Thompson, C. M., Hilgren, J., and Lovic, B. (2003) Wet seed treatment with peroxyacetic acid for the control of bacterial fruit blotch and other seedborne diseases of watermelon. *Plant Disease*, 87(12): 1495-1499.
- Horuz S., and Aysan Y. (2018a) Biological control of watermelon seedling blight caused by *Acidovorax citrulli* using antagonistic bacteria from the genera *Curtobacterium*, *Microbacterium* and *Pseudomonas*. *Plant Protection Science*, 54(3): 138–146.
- Horuz, S., and Aysan, Y. (2018b) Biocontrol of watermelon fruit blotch [*Acidovorax citrulli* (Schaad et al.) Schaad et

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

- al.] under greenhouse and field conditions. Bitki Koruma Bülteni, 58(3): 171-182.
- Horuz, S. (2021) *Pseudomonas oryzae*: a potential bacterial antagonist for the management of bacterial fruit blotch (*Acidovorax citrulli*) of cucurbits. Journal of Plant Pathology, 103(3): 751-758
- Jiang, C. H., Wu, F., Yu, Z. Y., Xie, P., Ke, H. J., Li, H. W., ve 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.
- Johnson, L. F., ve E. A. Curl. (1972) Method for research on ecology of soil borne pathogens. Burgess Publishing Co., Minnesota, 247 s.
- Kara, M., and Soylu, S. (2022) Isolation of endophytic bacterial isolates from healthy banana trees and determination of their *in vitro* antagonistic activities against crown rot disease agent *Fusarium verticillioides*. Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 27(1): 36-46.
- Khalid, A., Arshad, M., Shaharoon, B., Mahmood T. (2009) Plant growth promoting rhizobacteria and sustainable agriculture. Springer Berlin, Heidelberg, 358 s.
- Klement Z., Rudolph K. ve Sands D. C. (1990). Methods in Phytobacteriology, Akademia Kiado, Budapest, 568 s.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Teintze, M., and Schroth, M. N. (1980) *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease-suppressive soils. Current microbiology, 4: 317-320.
- Li, B., Shi, Y., Shan, C., Zhou, Q., Ibrahim, M., Wang, Y., Wu, G., Li, H., Xie, G., ve Sun, G. (2013) Effect of chitosan solution on the inhibition of *Acidovorax citrulli* causing bacterial fruit blotch of watermelon. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(5): 1010-1015.
- Lim, H. S., Jung, M. L., ve Sang, D. K. (2002) A plant growth-promoting *Pseudomonas fluorescens* GL20: mechanism for disease suppression, outer membrane receptors for ferric siderophore, and genetic improvement for increased biocontrol efficacy. Journal of Microbiology and Biotechnology, 12(2): 249-257.
- Lwin, K. M., Myint, M. M., Tar, T., and Aung, W. Z. M. (2012) Isolation of plant hormone (indole-3-acetic acid-IAA) producing rhizobacteria and study on their effects on maize seedling. Engineering Journal, 16(5): 137-144.
- Mirik, M., Aysan, Y., Cinar, O. (2008) Biological control of bacterial spot disease of pepper with *Bacillus* strains. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 32(5): 381-390.
- Mohammed, A. F., Oloyede, A. R., and Odeseye, A. O. (2020) Biological control of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* using *Pseudomonas* species isolated from the rhizosphere of tomato plants. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 53(1-2): 1-16.
- Oliveira A., Santos M. H. M., Silveira E. B., Gomes A. M. A., Mariano R. L. R. (2006) Biological control of bacterial blotch of melon by seed treatment with epiphytic and endophytic bacteria. Horticultura Brasileira, 24: 373-377.
- Pampulha, M. E., and Oliveira, A. (2006) Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms. Current Microbiology, 53: 238-243
- Patten, C. L. and Glick, B. R. (2002) Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology, 68: 3795-3801.
- Paul, D., and Sinha S. N. (2017) Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with antibacterial potential from river Ganga, India. Annals of Agrarian Science, 15(1): 130-136
- Pikovskaya, R. I. (1948) Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbes species. Microbiology. 17: 362-370.
- Reetha, S., Bhuvaneshwari, G., Thamizhiniyan, P., and Mycin, T. R. (2014) Isolation of indole acetic acid (IAA) producing rhizobacteria of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* and

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

- enhance growth of onion (*Allium cepa* L.). International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(2): 568-574.
- Saha, M., Sarkar, S., Sarkar, B., Sharma, B. K., Bhattacharjee, S., and Tribedi, P. (2016) Microbial siderophores and their potential applications: a review. Environmental Science and Pollution Research, 23: 984-3999.
- Saikia, N., and Bezbruah, B. (1995) Iron dependent plant pathogen inhibition through *Azotobacter* RRL J203 isolated from iron rich acid soil. Indian Journal of Experimental Biology, 33(8), 571-575.
- Santos, E.R., Gouveia, E.R., Mariano, R.L.R. and Souto-Maior, A.M. (2006) Bicontrol of bacterial fruit blotch of melon by bioactive compounds produced by *Bacillus* spp. Summa Phytopathologica, 32(4): 376-378.
- Sari, N., Solmaz, I., and Yetisir, H. (2007) Watermelon genetic resources in Turkey and characteristics. Acta Horticulturae, 731(731): 433-438.
- Schwyn B., and Neilands JB. (1987) Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochemistry, 160(1): 47-56.
- Seçer, M. (1989) Doğal büyüme düzenleyicilerin (bitkisel hormonların) bitkilerdeki fizyolojik etkileri ve bu alanda yapılan araştırmalar, Derim, 6(3): 109-124.
- Selçuk, H., 2014. *Acidovorax citrulli*'nin Karpuzun Tohum, Fide, Meyvesinden İzolasyonu ve Farklı Tohum Uygulamalarının Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığının Çıkışı Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 126 sayfa.
- Singal, R., Gupta, R., ve Saxena, R.K. (1994) Rock phosphate solubilization under alkaline conditions by *Aspergillus japonicus* and *A. foetidus*. Folia Microbiologica, 39: 33-36.
- Soylu, S., Kara, M., Uysal, A., Kurt, Ş. and Soyly, E. M. (2021) Determination of antagonistic potential of endophytic bacteria isolated from lettuce against lettuce white mould disease caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. Zemdirbyste-Agriculture, 108: 303-312.
- Soylu, S., Kara, M., Soyly, E. M., Uysal, A., ve Kurt, Ş. (2022). *Geotrichum citri-aurantii*'nin sebep olduğu turuncgil ekşi çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde endofit bakterilerin biyokontrol potansiyellerinin belirlenmesi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 19: 177-191.
- Sülü, S. M., Bozkurt, İ. A., ve Soyly, S. (2016) Bitki Büyüme Düzenleyici ve Biyolojik Mücadele Etmeni Olarak Bakteriyel Endofitler. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 21: 103-111.
- Sülü, S. M (2020) Karpuz bakteriyel fide yanıklığı hastalığının (*Acidovorax citrulli*) biyolojik mücadelesinde endofit ve epifit bakterilerin etkinliklerinin araştırılması. Doktora Tezi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Ana Bilim Dalı, 121 sayfa.
- Thiele-Bruhn, S., Bloem, J., de Vries, F. T., Kalbitz, K., and Wagg, C. (2012) Linking soil biodiversity and agricultural soil management. Current Opinion in Environmental Sustainability, 4(5):523-528.
- Uysal, A., Kurt, Ş., Soyly, S., Soyly, E. M., ve Kara, M. (2019) Yapağı yenen sebzelerdeki mikroorganizma türlerinin MALDI-TOF MS (Matris Destekli Lazer Desorpsiyon/İyonizasyon Uçuş Süresi Kütle Spektrometresi) tekniği kullanılarak tanınması. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 29: 595-603.
- Vassileva, M., Vassilev, N., Azcon, R. (1998) Rock phosphate solubilization by *Aspergillus niger* on olive cake-based medium and its further application in soil-plant system. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 14: 281-284.
- Velusamy, P., Immanuel, J.E., Gnanamanickam, S.S. (2013) Rhizosphere bacteria for biocontrol of bacterial blight and growth promotion of rice. Rice Science, 20(5): 356-362
- Walcott, R.R., Gitaitis, R.D. and Castro, A.C. (2003) Role of blossoms in watermelon seed infestation by *Acidovorax avenae*

Kavunda Bakteriyel Fide Yanıklığı Hastalığı'nın Biyolojik Mücadelesinde Rizosfer Bakterilerinin *in vitro* ve *in vivo* Koşullarda Kullanım Olanaklarının Belirlenmesi

- subsp. *citrulli*. Phytopathology, 93: 528-534.
- Walcott, R. R. (2008) Integrated pest management of bacterial fruit blotch of cucurbits. In: Integrated Management of diseases caused by fungi, phytoplasma and bacteria. Springer Dordrecht, Netherlands, 419 s.
- Wensing, A., Braun, S. D., Büttner, P., Expert, D., Völksch, B., Ullrich, M. S., ve Weingart, H. (2010) Impact of siderophore production by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 22d/93 on epiphytic fitness and biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* 1a/96. Applied and environmental microbiology, 76(9): 2704-2711.
- Wieser, A., Schneider, L., Jung, J., and Schubert, S. (2012) MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics identification of microorganisms and beyond (mini review). Applied microbiology and biotechnology, 93: 965-974